

Dortmunder Beiträge zur Wasserforschung
Nr. 67-3

**Konzepterstellung für die Analyse des
ökologisch-mikrobiologischen Zustands
von Grundwasser und seiner Verän-
derung durch anthropogene Einflüsse**

**Band 3:
Kenntnisstand, Handlungsempfehlungen
und Untersuchungskonzepte**

Gudrun Preuß

Veröffentlichungen
des Instituts für Wasserforschung GmbH Dortmund

in Kooperation mit der

Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)
Dortmunder Energie- und Wasserversorgung GmbH
Westfälischen Wasser- und Umweltanalytik GmbH
und der
Wasserwerke Westfalen GmbH

Dortmund 2007



LAWA – Vorhaben G 1.02

**Konzepterstellung für die Analyse des ökologisch-
mikrobiologischen Zustands von Grundwasser und seiner Ver-
änderung durch anthropogene Einflüsse**

**Band 3:
Kenntnisstand, Handlungsempfehlungen und
Untersuchungskonzepte**

Berichterstellung:
Dr. Gudrun. Preuß
Schwerte



Danksagung

Die Untersuchung unterschiedlich belasteter Grundwasserstandorte wurde durch die Vermittlung und die Hilfe von Fachkollegen ermöglicht, die Probenahmestellen und Informationen über die jeweiligen Standorte zur Verfügung stellten. Hierfür danken wir insbesondere Herrn Dr. Eckert (Düsseldorf), Herrn Dr. Gierig (Wielenbach), Herrn Dr. Giebler (Neuherberg), Herrn Dr. Hahn (Landau) sowie Herrn Dr. Kerndorff (Berlin).

Dem Projektkreis „Grundwasserbiologie“ von DVGW und DWA sei für die fachliche Begleitung und hilfreichen Diskussionen gedankt, ebenso Herrn Dr. Gierig für die fachliche und organisatorische Betreuung des gesamten LAWA-Vorhabens.



Inhaltsverzeichnis

1.	Veranlassung und Arbeitsschwerpunkte des Vorhabens	5
2.	Derzeitige Klassifizierung und Bewertung von Grundwasser	8
2.1	Einflüsse auf die chemische Grundwasserbeschaffenheit.....	8
2.2	Ökologische Ansätze für die Bewertung von Grundwasser	9
3.	Aktueller Kenntnisstand zur Grundwasserbiologie	10
3.1	Merkmale natürlicher mikrobieller Grundwasserbiozönosen.....	11
3.1.1	Geringe Besiedlungsdichte.....	12
3.1.2	Geringer Anteil aktiver und kultivierbarer Bakterien.....	12
3.1.3	Dominanz angehefteter Mikroorganismen.....	13
3.1.4	Hohe mikrobielle Diversität.....	14
3.1.5	Zusammensetzung der mikrobiellen Biozönose im Grundwasser.....	15
3.1.6	Niedrige Bioaktivitäten aber hohe physiologische Typenvielfalt.....	16
3.1.7	Eintrag und Transportverhalten von Mikroorganismen	16
3.2	Mikrobiell beeinflusste Wechselwirkungen und Stoffflüsse.....	17
3.2.1	Redoxrelevante biologische Prozesse.....	17
3.2.2	Wechselwirkungen mit abiotischen Grundwasserkomponenten.....	20
3.2.3	Effekte von Grundwasserkontaminationen auf mikrobielle Biozönosen.....	22
3.2.4	Indikatorfunktionen.....	26
4.	Schutzgut Grundwasser und seine Bewertung	28
4.1	Ansatzpunkte für einen nachhaltigen ökologischen Grundwasserschutz	28
4.2	Notwendige Voraussetzungen für Bewertungskonzepte	30
4.2.1	Schutzziele	30
4.2.2	Referenzzustände und hydrogeochemische Bezugseinheiten.....	31
4.2.3	Mikrobiologische Kriterien für den „natürlichen“ Grundwasserzustand	32
5.	Abgeleitete Untersuchungskonzepte und Fazit.....	33
6.	Literatur	38



Abkürzungsverzeichnis

DGGE	Denaturierende Gradientengelelektrophorese
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Desoxiribonucleinsäure
DOC	Gelöster organischer Kohlenstoff
FDA	Fluorescein Diacetat
i. d. R.	in der Regel
KBE	Koloniebildende Einheit
LAWA	Länderarbeitsgemeinschaft Wasser
MPN	Most Probable Number
PAK	Polyzyklischer Aromatischer Kohlenwasserstoff
PCR	Polymerase Chain Reaction
rDNA	Ribosomale Desoxiribonucleinsäure
rRNA	Ribosomale Ribonucleinsäure
TG	Trockengewicht
TrinkwV	Trinkwasserverordnung
u. a.	unter anderem
vgl.	vergleiche



1. Veranlassung und Arbeitsschwerpunkte des Vorhabens

Am 22. Dezember 2000 trat die EU - Wasserrahmenrichtlinie zum Schutz der Oberflächengewässer und des Grundwassers in Kraft. Mit dieser Richtlinie wurden neue Regelungen für das Grundwassermonitoring geschaffen, die von den einzelnen EU-Staaten umzusetzen waren. Die wichtigsten Ziele dieser Richtlinie sind ein umfassender Gewässerschutz sowie die Erreichung von festzulegenden Qualitätszielen und Emissionsstandards innerhalb von 16 Jahren. In Bezug auf Oberflächengewässer fordert die Richtlinie einen „guten ökologischen und chemischen Zustand“, während beim Grundwasserschutz hauptsächlich der „gute chemische und mengenmäßige“ Zustand angestrebt wird. Ökologische und biologische Kriterien wurden in der ersten Fassung der für das Grundwasser maßgeblichen Tochterrichtlinie nicht berücksichtigt. In der revidierten Fassung vom Dezember 2006 werden jedoch Programme gefordert, die steigende Trends so rechtzeitig erkennen lassen, dass „Maßnahmen zur Verhütung oder zumindest, soweit möglich, zur Abschwächung ökologisch signifikanter Verschlechterungen der Grundwasserqualität ergriffen werden können“ (EU Groundwater Direktive, 2006).

Neben den üblichen hydrogeologischen und chemischen Messgrößen kommt den biologischen Parametern bei der Beurteilung des ökologischen Zustandes von Grundwassersystemen nach heutigem Kenntnisstand eine wichtige Bedeutung zu. Biologische und biochemische Prozesse bestimmen im hohen Maße die Stoffflüsse und Reaktionsfähigkeit von Grundwassersystemen auf anthropogene Veränderungen. Die spezifisch angepassten Grundwasserorganismen werden zunehmend als Teil eines eigenen, im besonderen Maße störanfälligen und schützenswerten Ökosystems gesehen (VDG, 2005). Neben der mikrobiellen Biomasse haben insbesondere die mikrobielle Vielfalt, die Zusammensetzung der Mikroflora und der physiologische Status der Mikroorganismen Indikatorfunktionen im Hinblick auf Störeffekte oder auf die durch anthropogene Faktoren induzierten Veränderungen dieses Systems. Für die Feststellung der Grundwassergüte sind deshalb gezielte Untersuchungen zur mikrobiellen Besiedlung und deren Veränderungen von großer Bedeutung. Hierzu stehen eine Reihe klassischer und moderner molekularbiologischer Methoden zur Verfügung.

Insbesondere die Aussagekraft und Anwendbarkeit der molekularbiologischen Verfahren für praxisorientierte Analysen des Grundwasserzustandes sind bisher noch nicht abschließend beurteilt. Es fehlten außerdem Erfahrungswerte und Handlungsempfehlungen, die eine aussagekräftige Charakterisierung des biologisch-ökologischen Zustands von Grundwässern ermöglichen. Der gemeinsame Projektkreis „Grundwasserbiologie“ von DVGW und DWA initiierte vor diesem Hintergrund ein von der LAWA gefördertes Vorhaben, das sich mit den Möglichkeiten der mikrobiologischen Analyse von Grundwasser befasste und Wege aufzeigen sollte, in welcher Weise mikrobiologische Kriterien und Untersuchungsansätze helfen, den Zustand von Grundwasserökosystemen zu charakterisieren.

Die Arbeitsthemen der vorliegenden Studie waren:



- Möglichkeiten der biologisch-ökologischen Zustandsbeschreibung von Grundwasserstandorten unterschiedlicher Beschaffenheit und anthropogen bedingter Belastungszustände
- Beurteilung anthropogener Einflüsse auf die mikrobiellen Biozönosen und deren Veränderungen im Untergrund
- Bewertung der Anwendbarkeit und Aussagekraft mikrobiologischer und molekularökologischer Methoden bei der Beurteilung von Grundwassersystemen
- Ableitung von Merkmalen und Kriterien für die Beurteilung von Grundwasserstandorten
- Erstellung einer praxisorientierten Vorschlagsliste zur Vorgehensweise bei der Bestimmung des ökologisch-mikrobiologischen Zustandes von unbelasteten und anthropogen belasteten Grundwassersystemen

Die Arbeiten gliederten sich in drei Schwerpunkte (Abb. 1):

In einem theoretischen Teil des Vorhabens wurden die verfügbaren biologischen Verfahren und deren Anwendbarkeit und Aussagekraft für Grundwasseruntersuchungen zusammengestellt und bewertet (**Band 1: Literaturstudie**). In einem ergänzenden experimentellen Teil wurden ausgewählte mikrobiologische Verfahren an konkreten Belastungssituationen in Modellanlagen und unter Feldbedingungen verifiziert, um deren Aussagemöglichkeiten in Hinblick auf die Charakterisierung von unterschiedlich belastetem Grundwasser vergleichend bewerten zu können (**Band 2: Mikrobiologische Grundwasseruntersuchungen**). Resultierend aus diesen beiden Arbeitsabschnitten erfolgte die Ableitung der wichtigsten mikrobiologischen Grundwassermerkmale sowie die Zusammenstellung von Handlungsempfehlungen (**Band 3: Kenntnisstand, Handlungsempfehlungen und Untersuchungskonzepte**).

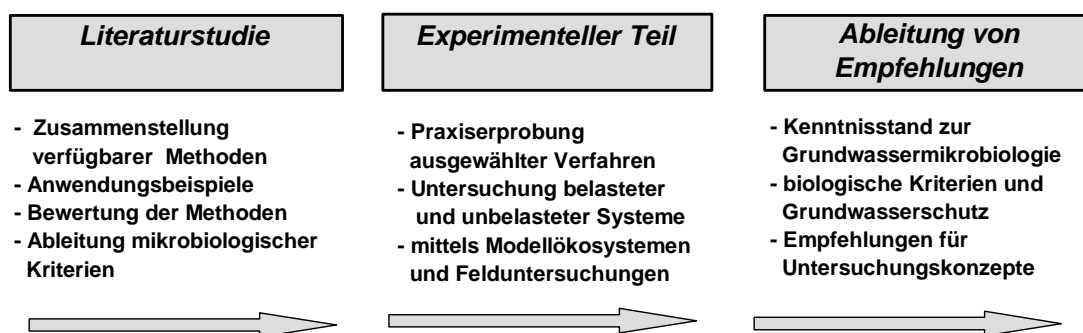


Abb. 1: Arbeitsschwerpunkte des Vorhabens

Die Literaturrecherchen sowie die experimentellen Arbeiten berücksichtigten in erster Linie die Verhältnisse und Daten, wie sie für oberflächennahe Porengrundwasserleiter typisch sind. Andere Grundwasserstandorte (Karstgrundwässer, Tiefengrundwässer u. a.) konnten nur ansatzweise mit berücksichtigt werden. Gründe



hierfür waren die Notwendigkeit zur thematischen und zeitlichen Begrenzung sowie die Tatsache, dass über die Prozesse und die Besiedlung von oberflächennahen Porengrundwasserleitern die meisten Kenntnisse vorliegen.

Außerdem bezieht sich die Studie in erster Linie auf Grundwasserbakterien und auf klassische mikrobiologische sowie molekularbiologische Verfahren für deren Nachweis und Differenzierung. Andere Organismengruppen im Grundwasser – wirbellose Tiere, Pilze und Protozoen - wurden nicht berücksichtigt. Bei den Bakterien beziehen sich die meisten Angaben und methodischen Ansätze auf heterotrophe Bakterien, die im oberflächennahen Grundwasser als dominant anzusehen sind, und für deren Nachweis praktikable und schnelle Methoden verfügbar sind. Die Rolle chemolithotropher Bakterien ist jedoch bei speziellen Fragestellungen und insbesondere bei der Untersuchung von anaeroben oder Tiefengrundwässern ebenfalls zu berücksichtigen.



2. Derzeitige Klassifizierung und Bewertung von Grundwasser

Der Grundwasserraum, nach DIN 4049 ein Gesteinskörper, der mit Grundwasser gefüllt ist, bildet ein Mehrphasensystem aus Gestein, Wasser und Gaseinschlüssen, die miteinander in Beziehung stehen. In den Lockergesteinen bewegt sich das Grundwasser durch ein zusammenhängendes Porensystem. Art und Aufbau des Korngerüstes beeinflussen die Strömungswege des Wassers. Durch die großen Kontaktflächen der strömenden Phase mit dem Haftwasser in Kapillaren oder direkt mit der Gesteinsoberfläche, entsteht über Diffusion und Sorption ein Stoffaustausch mit der festen Phase, der die Grundwasserqualität stark beeinflusst.

Eine mögliche Typisierung von Grundwasserräumen bezieht sich deshalb auf die Art des vorhandenen Gesteins. Dabei wird der Einfluss der durchsickerten Grundwasserüberdeckung vernachlässigt und davon ausgegangen, dass die chemischen Eigenschaften des Wassers von der Löslichkeit der Minerale bestimmt werden. Besonders in Festgestein, das im Gegensatz zu Lockergestein keine häufig wechselnde Mischung der chemischen Zusammensetzungen aufweist, ist der Lösungsinhalt von Wasser durch die Gesteinsart (z.B. Dolomit, Sandstein, Quarzit) bestimmt (Höltling, 1996). Die LAWA (2003) schlägt darauf aufbauend für die Beschreibung eines Grundwasserkörpers eine zweistufige Unterteilung nach der Gesteinsart und der chemischen Beschaffenheit in silikatisch, carbonatisch, silikatisch/ carbonatisch und sulfatisch vor.

Kunkel et al. (2004) nehmen für Deutschland eine detaillierte Klassifizierung der Grundwassersysteme aufgrund ihrer geografischen Lage sowie der vorherrschenden chemischen Merkmale vor und sprechen hierbei von einer natürlichen, ubiquitär anthropogen überprägten Grundwasserbeschaffenheit. Sie unterscheiden für die Einteilung der Grundwasserkörper Deutschlands in insgesamt 17 hydrogeologische Bezugseinheiten natürliche und beeinflusste Komponenten. Diese Unterscheidung erfolgte nach statistischer Auswertung der Daten von nahe beieinander liegenden Messstellen. Die chemischen Parameter werden unterschiedlich gewichtet als:

- Milieu-, und Summenparameter wie pH-Wert, elektrische Leitfähigkeit, Sauerstoff- und DOC-Gehalt
- als Hauptinhaltsstoffe wie Nitrat, Sulfat, Natrium, Calcium u. a.
- als Nebeninhaltsstoffe wie Eisen, Ammonium u. a. sowie
- als Spurenstoffe (Schwermetalle, Nitrit u. a.)

2.1 Einflüsse auf die chemische Grundwasserbeschaffenheit

Zu den Faktoren, die die Grundwasserqualität bestimmen, gehören neben den hydrogeochemischen Bedingungen des Grundwasserleiters auch die Gesteinskörper oberhalb der Grundwasser Oberfläche, da das durch sie infiltrierte Wasser schon bei der Versickerung eine qualitative und quantitative Veränderung erfährt. Durch chemisch-physikalische Wechselwirkungen mit der Bodenmatrix, biologi-



sche Ab- und Umbaureaktionen und mengenmäßige Veränderungen aufgrund von Evapotranspiration und oberflächennahem Abfluss nimmt die Deckschicht Einfluss auf die Grundwasserqualität. Wie stark und welcher Art dieser Einfluss ist, hängt von der Beschaffenheit, Homogenität und der Mächtigkeit ihrer Ausbildung ab (Jordan & Weder, 1995).

Obwohl die Grundwasservorkommen durch ihre Überdeckung und die filternde Wirkung des Bodens zunächst wenig gefährdet scheinen, sind sie dennoch sensibel für Kontaminationen, zumal durch die milieubedingt langsamen biologischen Reaktionszeiten Umbau- und Abbauprozesse sehr viel langsamer erfolgen, als an der Oberfläche (VDG, 2005). Ein Beispiel hierfür gibt der Nitratgehalt, der im unbeeinflussten Grundwasser 5 mg/L bis 20mg/L beträgt, durch landwirtschaftliche Einflüsse jedoch auf 40 mg/L und mehr ansteigen kann.

In der Praxis ist häufig nur schwer oder gar nicht zu unterscheiden, ob die aktuellen chemischen Grundwasserwerte durch anthropogene Einflüsse geprägt oder ob einzelne Stoffkonzentrationen natürlicherweise höher als erwartet liegen. Für die Beurteilung von Stoffkonzentrationen muss idealer Weise eine Vielzahl von Daten statistisch ausgewertet werden, die an benachbarten Messstellen und über längere Zeiträume erfasst wurden (Kunkel et al, 2004).

Matthess (1990) gibt eine Definition für verunreinigtes Grundwasser, die sich an Vorgaben der Trinkwasserverordnung (TrinkwV) orientiert:

„Anthropogen verunreinigtes Grundwasser ist Grundwasser, dessen Gehalt an gelösten und ungelösten Bestandteilen durch direkte oder indirekte Einwirkung des Menschen höher ist als die maximal zulässigen natürlichen Konzentrationen oder Grenzwerte, die in nationalen oder internationalen Richtlinien für Trinkwasser festgelegt sind. Da natürliche, vom Menschen unbeeinflusste Grundwasser Bestandteile enthalten können, deren Konzentrationen die Grenzwerte übersteigen, kann die Verunreinigung durch solche Werte definiert werden, die die natürlichen Variationen des betreffenden Bestandteils eines bestimmten Wassers übersteigen.“

Eine Gefährdungsabschätzung sollte nach Mageira (2000) mehrere Komponenten berücksichtigen. Diese sind die natürlichen Rahmenbedingungen, die Kontaminationsquellen und die resultierenden Veränderungen der Wasserqualität. Eine Orientierung an den Vorgaben der Trinkwasserverordnung alleine wird sicherlich nicht den natürlichen Schwankungsbreiten und ökologischen Erfordernissen gerecht, zumal die Grundwasserorganismen und ihre Aktivitäten maßgeblich die chemische Beschaffenheit mit beeinflussen.

2.2 Ökologische Ansätze für die Bewertung von Grundwasser

Die derzeitig praktizierten Klassifizierungsansätze und Beurteilungsgrundlagen beziehen sich sehr stark auf die hydrogeologische und chemische Beschaffenheit des Grundwassers, während ökologische Aspekte weitgehend fehlen (Preuß, 2004). Im Gegensatz zu dieser derzeitigen in Deutschland und anderen EU-Staaten praktizierten Reduzierung auf den „mengenmäßigen und chemischen gu-



ten Zustand“ des Grundwassers finden sich beispielsweise in der Schweiz bereits weitergehende Anforderungen. So definiert die Schweizerische Gewässerschutzverordnung von 1998 (GSchV) für das Grundwasser neben chemischen und mikrobiologischen auch **ökologische Ziele** an die Wasserqualität. Die Biozönose der unterirdischen Gewässer soll „naturnah und standortgerecht“ sein, sowie „typisch für nicht oder nur schwach belastete Gewässer“ (GSchV, 1998).

Als Voraussetzungen für die Umsetzung derartiger Qualitäts- bzw. Bewertungskriterien sind jedoch erforderlich:

- entsprechende Kenntnisse über die Grundwasserökologie insbesondere naturnaher, anthropogen unbeeinflusster Grundwassersysteme als Referenzzustände
- Kriterien für die Beurteilung der Grundwasserökologie
- methodische Möglichkeiten zur Feststellung des Ist-Zustandes und
- Indikatorsysteme für die Erkennung anthropogener Einflüsse und schädigender Belastungen

Indikatoren für den **hygienischen Zustand**, wie sie aus der Trinkwasseruntersuchung übertragbar sind und wie sie bisher auch für Grundwasseruntersuchungen genutzt wurden, können zwar Hinweise auf fäkale Einträge geben, reichen jedoch für die Bewertung des ökologischen Zustandes nicht aus (VDG, 2005).

Für eine Gefährdungsabschätzung werden daher z. T. auch **ökotoxikologische Aspekte** herangezogen, die indirekt die Grundwasserbiologie einbeziehen. Hierfür müssen nach Mullisch et al. (2003) obligatorische und fakultative Parameter unterschieden werden. Die Autoren bewerten in erster Linie die toxikologische Relevanz eingetragener Stoffe aufgrund ihrer Kenngrößen für den biochemischen Abbau und die stoffliche Mobilität. Es wird vorgeschlagen, mit Hilfe humantoxikologischer Daten die jeweils zulässigen Stoffkonzentrationen abzuleiten. Ein solches Vorgehen kann nur als Notbehelf dienen - die Besonderheiten der Grundwasserbesiedlung und ihrer Aktivitäten sowie die spezifische Empfindlichkeit der Grundwasserbiozönose (Vulnerabilität) bleiben jedoch letztendlich unberücksichtigt.

3. Aktueller Kenntnisstand zur Grundwasserbiologie

Neben den geologischen und chemischen Faktoren bestimmen auch die biologischen Komponenten im Grundwasser entscheidend die Stoffflüsse und Beschaffenheit des Grundwassers. Aufgrund der vielseitigen und miteinander in Beziehung stehenden Grundwassertypischen (autochthonen) Organismen und Organismengruppen stellt Grundwasser ein weitflächiges Ökosystem dar (VDG, 2005). Es ist nach heutigem Kenntnisstand ein Lebensraum für eine Vielzahl von Organismen (Tiere, Protozoen Pilze, Bakterien). Die wesentlichen Merkmale des Lebensraum Grundwasser, die die Dichte, Zusammensetzung und Aktivität der Grundwasserbiozönosen bestimmen, sind die Dunkelheit, die geringen Nährstoffkonzentrationen, die in der Regel niedrigen Temperaturen, die räumliche Enge und die Konstanz der Lebensbedingungen. Dieses Grundwasserökosystem ist für die Erhaltung der Wasserqualität von entscheidender Bedeutung, da die Orga-



nismen des Grundwassers für zahlreiche biologische und biochemische Stoffumsetzungen verantwortlich sind (u. a. Griebler & Mösslacher, 2003, Preuß & Schminke, 2004).

Aufgrund des fehlenden Lichtes gibt es in der Grundwasserzone keine Organismen, die Photosynthese betreiben können, also keine Primärproduzenten, die aus CO_2 mit Hilfe der Sonnenenergie organische Substanz aufbauen. Zwar wurden von Gliesche (1999) auch grüne Algen im oberflächennahen Grundwasser beschrieben, diese wurden aber entweder als Kontamination eingetragen, oder waren auch zu heterotropher Lebensweise fähig. Durch die gegebene räumliche Enge findet man nur wenige größere Tiere (Faden- und Ringelwürmer, Ruderfußkrebse usw.) Die Grundwasserfauna, die insgesamt sehr vielfältig ist, wurde u. a. von Schminke & Gatzel (1988), Rumm & Schminke (2000) sowie von Fuchs & Hahn (2004) umfassend beschrieben.

Als Mikroorganismen kommen in Grundwassersystemen Bakterien, Pilze und Protozoen vor, die im Wesentlichen die eingetragenen organischen Stoffe sowie die natürlich vorkommenden Nährstoffen für ihre Biomasseentwicklung nutzen. Die Grundlage der Nahrungsketten bilden hauptsächlich die aus den oberen Zonen eingetragenen Nährstoffe, insbesondere gelöste organische Kohlenstoffverbindungen. Die Nährstoffdichte ist in der Regel sehr gering, der Gehalt an gelöstem organischen Kohlenstoff liegt in anthropogen nicht beeinflussten Grundwässern bei etwa 1 mg/L (Ghiorse & Wilson, 1988). Unbeeinflusste Grundwassersysteme gelten daher als oligotroph, das heißt, sie weisen neben geringen Nährstoffkonzentrationen eine geringe Besiedlungsdichte auf. Diese geringe Besiedlungsdichte sowie die geringen und gleichmäßigen Temperaturen, die im Grundwasserleiter herrschen, sind wesentliche Gründe für die im Grundwasser vorherrschenden langsamen Stoffumsätze und Vermehrungsraten sowie für die hieraus resultierende Störanfälligkeit dieses Ökosystems (Preuß & Schminke, 2004). Für die Nährstofffracht spielt die Fließgeschwindigkeit des Wassers eine große Rolle. Je größer die Durchlässigkeit des Gesteins, und somit die mögliche Wasserbewegung, desto mehr Nährstoffe können mit dem Porenwasser eingespült werden. Verhältnismäßig dicht besiedelte Lebensräume sind deshalb die Kornoberflächen von hohlraumreichen Lockergesteinen oder Karst- und Klüftgesteinen (Madsen & Ghiorse, 1993; VDG, 2005; Gliesche, 1999).

3.1 Merkmale natürlicher mikrobieller Grundwasserbiozöosen

Mikroorganismen steuern über ihre Populationsdichte und ihre Stoffwechselaktivitäten den biogeochemischen Stoffkreislauf einer Vielzahl von Elementen und Verbindungen. Mikroorganismen prägen nicht nur die chemische Beschaffenheit des Grundwassers, sondern sie beeinflussen ebenso Transport, Adsorption und Mobilisationsprozesse anthropogen eingetragener Wasserinhaltsstoffe. Eine mikrobielle Charakterisierung des Untergrundes ist somit für das Verständnis der ablaufenden Prozesse von entscheidender Bedeutung.



Die mikrobielle Biozönose des Grundwassers ist durch die an den Feststoff angehefteten, sessilen Mikroorganismen und durch die Organismen des freien Grundwassers charakterisiert. Nach derzeitiger Auffassung sind beide Lebensgemeinschaften deutlich voneinander differenziert und stehen über bewegliche Stadien in Abhängigkeit von den hydrogeologischen und chemischen Veränderungen miteinander in Verbindung (Alfreider et al., 1997; Gounot, 1994; Hirsch & Rades-Rohkohl, 1988; Hirsch et al., 1992; Marxsen, 1988).

3.1.1 Geringe Besiedlungsdichte

Im Vergleich zu Oberflächengewässern oder Boden ist die mikrobielle Besiedlungsdichte im Grundwasser um ein Vielfaches geringer. In unterschiedlichen Untersuchungen wurden mikroskopisch Gesamtbakterienzahlen je nach Feststoffmatrix, Korngrößen und Tiefe zwischen 10^5 und 10^8 Zellen/g Trockengewicht nachgewiesen. Im Grundwasser werden häufig Zellzahlen zwischen 10^3 und 10^5 Zellen/ml nachgewiesen. Die Lebendbakterienzahlen als Koloniebildende Einheiten liegen üblicherweise methodisch bedingt jeweils um 2 bis 3 Zehnerpotenzen niedriger (Preuß & Nehr Korn, 1996; Gliesche, 1999; Gliesche, 2004).

Der Gehalt an Mikroorganismen korreliert im Grundwasser nicht zwangsläufig mit dem Gehalt an organischen Kohlenstoffverbindungen, vielmehr ist die biologische Verwertbarkeit der organischen Verbindungen entscheidend. In oberflächennahen Grundwässern hängt die Konzentration eingetragener Bakterien, Algen, Pilze und Viren stark von der Belastung des infiltrierenden Wassers sowie den jeweiligen die Transport- und Eliminierungsprozesse bestimmenden Randbedingungen ab (Preuß & Nehr Korn, 1995).

An oligotrophen, konstant nährstoffarmen Standorten gehören die meisten standorttypischen Organismen zu den so genannten K-Strategen, d.h. zu denen, die sich nur langsam vermehren, dafür jedoch die geringen Nährstoffvorkommen optimal verwerten können. Auch unter den Grundwasserorganismen dominieren K-selektive Mikroorganismen und Tiere (Griebler & Mösslacher, 2003). Dies ist ein Grund dafür, dass nach starken Störungen und Veränderungen der Lebensbedingungen in Porengrundwässern häufig nur eine sehr langsame Neu- oder Wiederbesiedlung des veränderten Lebensraumes stattfindet.

3.1.2 Geringer Anteil aktiver und kultivierbarer Bakterien

Der Anteil der lebensfähigen oder aktiven Bakterien an der Gesamtbakterienzahl lässt sich im Grundwasser anhand unterschiedlicher Kultivierungs- und mikroskopischer Verfahren bestimmen. Derartige Untersuchungen beschreiben sehr gut den physiologischen Status von Grundwasserbesiedlungen. Anhand von Kultivierungstechniken wird der Anteil lebensfähiger und kultivierbarer Bakterien im Grundwasser mit z. T. deutlich unter 1% angegeben (u.a. Balkwill et al., 1997; Belloin et al., 1988; Marxsen, 1988; Sinclair et al., 1990).

Mit mikroskopischen Verfahren wurde der Anteil aktiver Zellen ebenfalls in dieser Größenordnung bestimmt. So wiesen Ultee et al. (2004) $8,1 \cdot 10^2$ bis $3,3 \cdot 10^3$ aktive Zellen/ml im Vergleich zu Gesamtzellzahlen von $3,5 \cdot 10^3$ bis $2,2 \cdot 10^4$ Zellen/ml



nach. Der Anteil aktiver Bakterien sowie der Anteil der kultivierbaren Bakterien können somit Hinweise auf den physiologischen Status und die Nährstoffsituation von Grundwasserbiozönosen geben.

Die Komplexität des Lebensraums Grundwasser sowie die abiotischen und biotischen Wechselwirkungen erschweren die Isolation und das „In-Kultur-nehmen“ einzelner Spezies und somit die Analyse der Mikrobiologie des Grundwassers. Klassische mikrobiologische Methoden wie die Bestimmung von Lebendbakterienzahlen basieren aber gerade auf der Kultivierung der Mikroorganismen. Es können mit Hilfe dieser Kultivierungstechniken in den verschiedensten aquatischen Umweltsystemen generell nur ca. 0,1 bis max. 10% aller Bakterienarten identifiziert werden (Amann et al., 1995).

Einen neuen Ansatz für mikrobiologische Analysen eröffnet dagegen die Anwendung von molekularbiologischen Methoden zur Untersuchung der Bakterienpopulation. Hierbei werden die einzelnen Bakterienarten anhand ihrer Erbinformation (Nukleinsäuren) nachgewiesen und analysiert. Eine Kultivierung der Organismen ist nicht notwendig, und es können so - theoretisch - alle vorkommenden Bakterienarten nachgewiesen werden. In der Praxis bleibt die Erfassung jedoch auch mit diesen Methoden auf zahlenmäßig ausreichend vorkommende Spezies beschränkt (Amann, 1995; Amann et al., 1995, 1997, Moyer et al., 1994; Murray et al., 1996; Lee et al., 1996; Muyzer et al., 1993). In der Regel werden diese Verfahren für qualitative Besiedlungsanalysen eingesetzt. In neuester Zeit stehen jedoch auch quantitative molekularbiologische Untersuchungsansätze (Real-Time PCR, FISH) zur Verfügung (siehe Band 1: Literaturstudie).

3.1.3 Dominanz angehefteter Mikroorganismen

Die Dominanz sessiler Mikroorganismen ist ein charakteristisches Merkmal oligotropher Ökosysteme. Da sich organisches Material und Spurenelemente an feste Partikel bevorzugt anreichern, stellte die partikelassoziierte Lebensweise in nährstoffarmen Habitaten eine mögliche Überlebensstrategie unter Nahrungsstress dar.

Nach Wolters & Schwartz (1956) befinden sich mindestens 80% der Bakterien eines Grundwasserleiters auf den Oberflächen von Partikeln. Marxsen (1988) fand bei mikroskopischen Zählungen über 99% der Bakterien eines Grundwasserbiotops auf Kornoberflächen. Hirsch & Rades-Rohkohl (1988 und 1992) ermittelten weniger als 10% Kolonien im Interstitialwasser gegenüber den Werten in sandigem Sediment.

Gliesche (2004) fand in unterschiedlichen, oberflächennahen und tieferen Grundwasserleitern Norddeutschlands in Sedimentproben eine dichtere und andersartig zusammengesetzte Bakterienbesiedlung als im korrespondierenden Grundwasser, wobei Überlappungen im unterschiedlichen Ausmaß vorkommen konnten. Diese Untersuchungen bestätigten auch Untersuchungen anderer Autoren, die eine höhere Diversität der angehefteten Bakterienbesiedlung beschreiben. Auch Arbeiten von Harvey et al. (1984), Köbel-Boelke et al. (1988) und Preuß & Nehrkorn (1995) zeigten, dass angeheftete Bakterien im Grundwasserraum hinsichtlich ihrer Masse und Aktivität dominieren.



So wurden beispielhaft in einem Grundwassergewinnungsgebiet quantitative Unterschiede zwischen den aquatischen und den an Partikel assoziierten Sulfatreduzierern festgestellt (Preuß & Nehrkorn, 1996). Im Untergrund einer anaeroben Uferfiltrationspassage konnten Sulfatreduzierer überwiegend an der festen Phase nachgewiesen werden. Auch Dockins et al. (1980) weisen darauf hin, dass sulfatreduzierende Bakterien hauptsächlich im angehefteten Stadium metabolisch aktiv sind.

Preuß & Nehrkorn (1995) konnten im Vergleich der Grundwasserbesiedlung und der Sedimentbesiedlung nur 4% bis 7% gemeinsame Bakterienstämme nachweisen. Verschiedene andere Arbeiten zeigten ebenfalls deutliche Unterschiede in den Populationen von angehefteten Mikroorganismen und den Organismen des Grundwassers (Gounot, 1994; Hirsch & Rades-Rohkohl, 1992; Kölbel-Boelke et al., 1988; Kölbel-Boelke & Hirsch, 1988; Madsen & Ghiorse, 1993).

3.1.4 Hohe mikrobielle Diversität

Die Diversität mikrobieller Besiedlungen hängt im starken Maße von der Heterogenität des Lebensraumes und der Umweltbedingungen ab. Grundwassersysteme, insbesondere die feste Phase, weisen eine hohe, z. T. kleinräumige strukturelle Heterogenität sowie eine damit verbundene stark unterschiedliche Verteilung der Nährstoffe auf. Diese liegen meist nur in geringen Konzentrationen vor und müssen daher möglichst alle genutzt werden. Auch die Milieubedingungen wie pH-Wert, Leitfähigkeit oder Redoxpotenzial können auf engstem Raum differieren. Die aus diesen Heterogenitäten resultierende hohe taxonomische und physiologische Vielfalt der mikrobiellen Grundwasserbiozönose wird durch eine Reihe von Einzeluntersuchungen belegt.

Nach heutigem Kenntnisstand prägen die spezifische Geologie und Hydrochemie wesentlich auch die Zusammensetzung und Struktur der mikrobiellen Grundwasserbesiedlung (u.a. Gliesche, 2004; Hunkeler et al., 2006). Vertikale und horizontale Profile der Bakterienzahl und Besiedlungszusammensetzung zeigen, dass die Heterogenität des Grundwassersediments und der Nährstoffsituation mit die wichtigsten Faktoren für die Besiedlungsstruktur darstellen.

Hirsch et al. (1992a) und Hirsch & Rades-Rohkohl (1983 und 1988) konnten die hohe Diversität durch mikroskopische Analysen zeigen. Weiterhin wurde die hohe Diversität in Grundwasserhabitaten durch die Isolierung und physiologische Charakterisierung mehrerer hundert Bakterienstämme nachgewiesen (Hirsch et al., 1992; Kölbel et al., 1988; Kölbel-Boelke & Nehrkorn 1992).

Amann et al. (1997), Ekendahl et al. (1994), Reeves et al. (1995), Stim (1994) und Gliesche (2004) analysierten zahlreiche bisher nicht kultivierte Mikroorganismen verschiedener Grundwasserleiter mittels molekularbiologischer Methoden. Kilb et al. (1998) wiesen anhand molekularbiologischer Verfahren eine hohe mikrobielle Diversität in anaeroben Grundwassersystemen nach. Die Auftrennung bakterieller 16S rDNA-Fragmente aus extrahierter DNA mittels denaturierender Gradientengelelektrophorese (DGGE) führte in diesen Untersuchungen zu komplexen genetischen Fingerprints, die auf eine hohe genotypische Diversität in diesen oligotrophen Ökosystemen hinwiesen.



Als grundsätzliche Ursachen einer hohen Biodiversität werden in der Ökologie unterschiedliche Faktoren diskutiert. Diese sind im Wesentlichen die genannten vielfältigen, heterogen zusammengesetzten Nährstoffquellen sowie räumliche Isolation (Zhou et al., 2002). Aufgrund dieser Faktoren sowie der geringen Mobilität von gelösten organischen Stoffen wurde von Zhou et al. (2002) die hohe mikrobielle Diversität insbesondere in der ungesättigten Zone erklärt. Hohe mikrobielle Diversitäten werden jedoch auch in der gesättigten Zone beobachtet, in der die Mobilität der Organismen und Nährstoffe höher ist. Auch in der gesättigten Zone werden i. d. R. artenreiche und tiefenspezifische mikrobielle Besiedlungen nachgewiesen, die nur eine sehr geringe Übereinstimmung in der Artenzusammensetzung mit der Besiedlung der ungesättigten Zone aufweisen (Zhou et al., 2004).

3.1.5 Zusammensetzung der mikrobiellen Biozönose im Grundwasser

Im Folgenden werden die wichtigsten Merkmale der natürlichen mikrobiellen Grundwasserbesiedlung zusammengefasst.

➤ Dominanz Gramnegativer Bakterien

Morphologische Untersuchungen an Grundwasserisolaten weisen auf das Vorkommen überwiegend gramnegativer Bakterien in Grundwasserhabitaten hin. Das Vorkommen grampositiver Mikroorganismen wird dagegen als gering eingeschätzt. Dott (1984), Stetzenbach (1986) und Sinclair & Ghiorse (1989) gaben den Anteil grampositiver Bakterienisolate im Grundwasser mit 5% bis 10% an. Preuß (1991) ermittelte im Uferfiltrat und künstlich angereichertem Grundwasser 11% bis 15% grampositive Bakterienisolate.

➤ Dominanz fakultativ anaerober Bakterien

In anaeroben Grundwasserhabitaten dominieren innerhalb der Gruppe der Kultivierbaren die fakultativ anaeroben Mikroorganismen. Bei der Untersuchung verschiedener anaerober Grundwassersysteme wiesen genetische Fingerprints aerober und anaerober Anreicherungskulturen hohe Ähnlichkeiten (80%) auf, die auf das Vorkommen überwiegend fakultativ anaerober Mikroorganismen in den untersuchten anaeroben Grundwasserhabitaten hindeuteten. In den gleichen Standorten wurden identische Größenordnungen der Koloniezahlen bei aerober und anaerober Inkubation gefunden (Kilb, 1999). Hoos & Schweisfurth (1982) stellten ebenfalls vergleichbare Koloniezahlen für aerobe und anaerobe Bakterien in allen Tiefen des Grundwasserraumes (bis 90 m) fest. 90% der isolierten aeroben Bakterien konnten auch fakultativ anaerob wachsen.

➤ Stabile Besiedlungszusammensetzung

Die quantitative und qualitative Besiedlungsstruktur von Grundwasserbiozönosen zeichnet sich durch eine hohe Konstanz aus. Der Einfluss jahreszeitlicher Effekte auf die mikrobielle Grundwasserbesiedlung ist gering, da im Allgemeinen konstante hydrochemische Bedingungen im Grundwasserraum herrschen. In natürlichen Grundwasserstandorten, in denen jahreszeitlich unbeeinflusste Milieubedingungen herrschen, sind dementsprechend stabile Besiedlungen zu erwarten. Diese Konstanz wird in verschiedenen Einzeluntersuchungen bestätigt. In den Untersu-



chungen von Kuhlmann et al. (2000) zeigten genetische Analysen der eubakteriellen und proteobakteriellen Besiedlung mittels DGGE qualitativ geringe Veränderungen der Besiedlungszusammensetzung im saisonalen Verlauf.

Ergänzend lieferten die Bestimmungen der Gesamtzellzahlen, Koloniezahlen oligocarboxiphiler Bakterien sowie der Bakterienzahlen von Denitrifizierern und Sulfatreduzierern (als MPN) Hinweise auf nur geringe quantitative Veränderungen der Bakterienbesiedlung (Kilb, 1999).

3.1.6 Niedrige Bioaktivitäten aber hohe physiologische Typenvielfalt

Die physiologische Kompetenz der Mikroorganismen aus Grundwasserhabitaten entspricht den bekannten physiologischen Typen, die auch in marinen und in Süßwasserstandorten zu finden sind (Hirsch et al., 1992b; Gounot, 1994; Madsen & Ghiorse, 1993). Diese metabolische Kompetenz ist jedoch nicht zwangsläufig mit der tatsächlichen Aktivität der Organismen in situ identisch. Korrespondierend zu den geringen Nährstoffgehalten und geringen Fließgeschwindigkeiten sind jeweils geringe Wachstums- und Stoffwechselaktivitäten am Standort zu erwarten. Madsen (1995) und Madsen & Ghiorse (1993) weisen jedoch auf die charakteristische Fähigkeit der Grundwassermikroorganismen hin, ihren Stoffwechsel sehr schnell von nährstofflimitierten Bedingungen zu nährstoffreichen Bedingungen umzustellen.

In oberflächennahen, anthropogen unbeeinflussten Grundwasserleitern wurden in einer Reihe von Untersuchungen neben der hohen morphologischen auch eine sehr hohe physiologische Diversität isolierter Bakterien nachgewiesen (Hirsch et al., 1992a; Hirsch & Rades Rohkohl, 1992; Kölbl-Boelke et al., 1988; Kölbl-Boelke & Hirsch, 1988; Kölbl-Boelke & Nehr Korn, 1992; Preuß, 1991). Trotz der in situ niedrigen Bioaktivitäten und der verlangsamten Wachstums- und Umsetzungsraten findet sich gleichzeitig eine sehr vielfältige Stoffwechselkompetenz, die als Anpassung der Mikroorganismen an die Grundwasserbedingungen anzusehen ist (Schminke & Preuß, 2004; VDG, 2005).

Eine Reihe von Studien zeigt, dass die mikrobiellen (heterotrophen) Aktivitäten im Grundwasser dort besonders hoch sind, wo eine ausreichende Versorgung mit gelösten organischen Kohlenstoffverbindungen, Sauerstoff und Nährstoffen gegeben ist und es zu einer Ausbildung von Gradienten kommt. Dies ist i. d. R. in den so genannten Ökotonen der Fall, d. h. im Bereich des Grundwassersaumes sowie in gut durchlässigen Schichten, die in Kontakt mit Oberflächengewässern stehen (Sinclair et al., 1990; Konopka & Turco, 1991; Barbaro et al., 1994; Zhang et al., 1998).

3.1.7 Eintrag und Transportverhalten von Mikroorganismen

Der Eintrag von grundwasserfremden Mikroorganismen erfolgt in erster Linie durch Infiltrationsprozesse (Matthess et al., 1987, 1991a und b; Preuß & Nehr Korn, 1995). Die Mobilität von Mikroorganismen in Grundwasserleitern ist durch eine Vielzahl von Untersuchungen der letzten Jahrzehnte belegt (Champ & Schröter, 1988; Coracioglu & Haridas, 1985; Matthess et al., 1991 a und b; Tan et al. 1994; Wan et al. 1995). Es wurden Transportreichweiten für eingetragene Bakte-



rien bis zu 920 m und für Viren bis zu 680 m nachgewiesen (Keswick et al., 1982a und b). Neben der aktiven Bewegung z.B. durch Geißeln werden Mikroorganismen passiv transportiert, wobei diese Mobilität durch Veränderungen ihrer Oberflächenladung z. B. bei Nahrungsstress beeinflusst wird (u.a. Baygents et al., 1998).

Eine Reihe weiterer Faktoren können die Mobilität und den Transport von Mikroorganismen im Grundwasser beeinflussen. Eine Mobilisierung angehefteter Grundwasserbakterien kann durch erhöhte Scherkräfte oder Veränderungen der Nährstoffverhältnisse erfolgen (McCarthy & Zachara, 1989). Ebenso kann durch die Verringerung der Ionenstärke eine erhöhte Mobilisierung hervorgerufen werden (Jewett et al., 1995).

Indikatorbakterien, wie sie im Rahmen von Trinkwasseruntersuchungen untersucht werden, gehören nicht zur natürlichen Grundwasserbesiedlung und sterben langfristig im Grundwasser ab. Das Vorkommen und der Transport dieser Bakterien (z. B. E. coli, coliforme Bakterien, Enterokokken) weisen auf den Eintrag von Oberflächenwasser oder auf eingeschränkte Filtrationsleistungen etwa durch geschädigte Deckschichten hin.

3.2 Mikrobiell beeinflusste Wechselwirkungen und Stoffflüsse

3.2.1 Redoxrelevante biologische Prozesse

Stoffwechselaktivitäten der Mikroorganismen führen bei der Infiltration von Regenwasser oder Oberflächenwasser in den Untergrund zu einer Abfolge katalysierter Redoxprozesse. Aufgrund des oxidativen Substratabbaus in den oberflächennahen Bodenzonen folgt durch sauerstoffzehrende Prozesse zunächst eine so genannte Übergangszone mit zeitweiligen Sauerstoffgehalten, die schließlich in eine anoxische Reduktionszone übergeht (Matthess, 1973). Die unter anoxischen Verhältnissen stattfindende anaerobe Mineralisation ist auf die Aktivität einer komplexen mikrobiellen Lebensgemeinschaft zurückzuführen (Zehnder, 1988).

Die Abfolge von Redoxzonen steht somit in direktem Zusammenhang mit den mikrobiellen Stoffumsetzungen. Hinsichtlich ihrer Energiegewinnung lassen sich die Mikroorganismen unter anoxischen Verhältnissen in drei Gruppen unterteilen. Man unterscheidet zum einen Mikroorganismen, die ihre Stoffwechselenergie durch Gärung gewinnen und zum anderen Organismen, die ihre Stoffwechselenergie durch anaerobe Atmung erlangen.

Anaerob atmende Mikroorganismen führen in anaeroben Habitaten zu einer vollständigen Oxidation organischen Materials unter Freisetzung von zumeist Kohlendioxid. Oxidierte anorganische Substrate dienen bei den verschiedenen Stoffwechselprozessen als Elektronenakzeptoren:

- Nitrat, Nitrit → Denitrifikation
- Mangan(IV)oxid → Mangan-Reduktion
- Eisen(III)oxid → Eisen-Reduktion
- Sulfat → Sulfat-Reduktion/Desulfurikation



In Abhängigkeit der beteiligten Organismen findet eine mehr oder weniger vollständige Reduktion der oxidierten Elektronenakzeptoren statt. Unter substratlimitierenden Bedingungen dominiert die Organismengruppe, die den vorhandenen Elektronenakzeptor mit dem höchsten Redoxpotenzial verwerten kann. Daher lässt sich in anaeroben Habitaten die sequentielle, mikrobielle Reduktion der Elektronenakzeptoren in der Reihenfolge beobachten:

Nitrat \Rightarrow Mangan(IV)oxid \Rightarrow Eisen(III)oxid \Rightarrow Sulfat.

Methanogene Bakterien, die Kohlendioxid zu Methan reduzieren, stehen am Ende des Mineralisierungsprozesses.

Bei vollständigem Verbrauch der Elektronenakzeptoren überwiegen die Gärungsprozesse.

➤ Denitrifikation

Der geringe Nitratgehalt anthropogen unbeeinflusster Grundwässer ist vor allem auf die heterotrophe Denitrifikation zurückzuführen (Rohmann & Sontheimer, 1985). Die Fähigkeit zur Denitrifikation tritt bei einer Reihe von fakultativ anaeroben Bakterien auf. Die Denitrifikation wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst, wie z.B. durch den Sauerstoff- und Nitratgehalt im Grundwasser sowie dem Gehalt an abbaubaren organischen Verbindungen und dem pH-Wert. Hemmstoffe der Nitratreduktase, wie z.B. H_2S , das sich durch den Prozess der Desulfurikation unter anaeroben Bedingungen anreichert, führen zu einer räumlichen Trennung denitrifizierender und sulfatreduzierender Prozesse und zu einer Anreicherung von NO und N_2O zwischen beiden Aktivitätszonen (Sørensen, 1978).

Die dissimilatorische Nitratammonifikation führt unter anaeroben bzw. semi-anaeroben Bedingungen zur Bildung von Ammonium. Zur Nitratammonifikation sind weniger Bakterien befähigt als zur Denitrifikation.

➤ Eisen- und Manganreduktion

Die Befähigung, Fe^{3+} als Wasserstoffakzeptor zu nutzen, ist bei zahlreichen fakultativ und obligat anaeroben Bakterien verbreitet. Die resultierende Bildung von Fe^{2+} -Ionen führt zu einem weiteren Absinken des Redoxpotenzials.

MPN-Werte von Preuß & Nehr Korn (1996) weisen auf das Vorhandensein eisenreduzierender Bakterien im Grundwasser eines Wassergewinnungsgeländes hin. Die hohen Konzentrationen an gelöstem Eisen und Mangan im diesem Grundwasser sind weitere Hinweise auf die Aktivität Fe^{3+} -reduzierender Mikroorganismen. Nach heutigem Kenntnisstand spielen u. a. Spezies der Geobacteraceae wegen ihrer Fähigkeit, Fe^{3+} zu reduzieren, eine bedeutende Rolle in Grundwasserhabitaten.

Auch manganreduzierende Bakterien werden in stark reduzierten Grundwässern nachgewiesen (Hoos & Schweisfurth, 1982; Gottfreund & Schweisfurth, 1992).

➤ Desulfurikation und Säurebildung

Einige obligat anaerobe Bakterien nutzen bei der Energiegewinnung Sulfat als Elektronenakzeptor. Bei dem als Desulfurikation bezeichneten Prozess werden organische Verbindungen und molekularer Wasserstoff in Gegenwart von Sulfat



zu CO_2 und H_2O oxidiert. Zu den Desulfurikanten gehören mehrere Gattungen von Bakterien: Desulfovibrio, Desulfotomaculum, Desulfobulbus, Desulfococcus, Desulfobacter, Desulfonema, Desulfosarcina. In Grundwässern sind in der Regel Arten der Gattung Desulfovibrio zu finden.

Durch die Desulfurikation lassen sich organische Stoffe unter vollständig anaeroben Bedingungen aus Grundwässern vollständig eliminieren. Das Spektrum nutzbarer organischer Verbindungen ist jedoch sehr eingeschränkt. Häufig werden Endprodukte des fermentativen Energiestoffwechsels anderer Bakterien, wie z.B. niedere organische Säuren und Alkohole, verwertet. Es kann deshalb meist eine Syntrophie von Desulfurikanten und nicht desulfurizierenden, fermentativen, anaeroben Bakterien beobachtet werden.

In vielen Grundwässern ist der Gehalt an H_2S primär auf die Desulfurikation zurückzuführen und führt zu einer weiteren Senkung des Redoxpotentials. Viele Schwermetalle werden in Gegenwart von H_2S als Sulfide ausgefällt und dadurch eliminiert.

Mit der Desulfurikation ist häufig auch die Erhöhung des pH-Wertes verbunden, da H_2S wesentlich weniger dissoziiert vorliegt als H_2SO_4 . Dies und die Bildung von CO_2 durch den Abbau organischer Verbindungen führen zu einer Ausfällung von Erdalkalicarbonaten. Eine Verengung oder gar Verstopfung des Porenraumes und damit eine Verminderung der Strömungsgeschwindigkeit des Grundwassers ist die Folge (DVWK, 1988).

Befunde von Fry et al. (1997), die das Vorkommen von Sulfatreduzieren in Tiefengrundwässern mit unterschiedlichen Sulfatgehalten untersuchten, deuten auf das Vorkommen aktiver Desulfobacteriaceae im Grundwasser mit höheren Sulfatgehalten hin. In anaeroben Tiefengrundwässern, die durch vollständige Sulfatreduktion charakterisiert sind, dominieren stoffwechselaktive Bakterienspezies der Desulfovibrionaceae und Geobacteraceae. In diesem Zusammenhang werden sowohl die Fähigkeit der Desulfovibrionaceae bzw. Geobacteraceae, Fe^{3+} als Elektronenakzeptor zu nutzen, als auch eine Vergesellschaftung mit methanogenen Species diskutiert.

➤ Methanbildung

Die methanbildenden Mikroorganismen, die zu den so genannten Archaeobakterien gehören, bilden das letzte Glied der anaeroben Atmungskette. Die Methanbildner sind obligat anaerobe Bakterien, die für ihre Energiegewinnung überwiegend H_2 als Elektronendonator nutzen. Sie gehören zu den so genannten Archaeobakterien. Einige können auch Formiat, Methanol, Acetat oder Methylamine verwerten. In den meisten anaeroben Ökosystemen ist Acetat als Hauptsubstrat der Methanbildung beschrieben worden.

In Einzeluntersuchungen im Altlastenbereich oder im anaeroben, von Uferfiltration beeinflussten Grundwasser wurde eine hohe genotypische Diversität von Archaeobakterien beschrieben. So analysierte Kilb (1999) mittels DGGE-Profilen die Bakterienbesiedlung entlang einer Uferfiltrationsstrecke und wies archaeale 16S rDNA-Fragmente als ein Hinweis auf das Vorkommen methanogener Spezies nach.



3.2.2 Wechselwirkungen mit abiotischen Grundwasserkomponenten

Eine Reihe von Einzeluntersuchungen befassten sich mit dem mikrobiologischen Vergleich unterschiedlicher Grundwassersysteme und den Effekten veränderter Milieubedingungen auf die Mikroflora. Sehr frühe Studien zu Tiefenprofilen zeigten bereits, dass sich die Zusammensetzung der mikrobiellen Grundwasserbesiedlung in unterschiedlichen Tiefen von Aquiferen korrespondierend zu den geologischen und hydrochemischen Bedingungen erheblich unterscheidet (Bone & Balkwill, 1988; Hirsch & Rades-Rohkohl, 1983a u. 1993b; Hirsch & Rades-Rohkohl, 1988; Köbel-Boelkel et al. 1988; Gliesche, 1999).

Insgesamt weist die mikrobielle Besiedlung in vertikalen und auch horizontalen Profilen bezüglich Quantität und Qualität eine sehr hohe Heterogenität auf, die maßgeblich von den Standortbedingungen auch in kleinräumigen Dimensionen beeinflusst wird (Gliesche, 2004). Mit zunehmender Tiefe findet man eine zunehmende Anpassung der Grundwasserbakterien an nährstoffarme Milieubedingungen. In oberflächennahen Grundwässern wurde jedoch eine hohe physiologische Flexibilität beobachtet, d.h. viele der untersuchten Grundwasserbakterien können auf nährstoffarme und –reiche Bedingungen reagieren (Bengtsson, 1994; Bone & Balkwill, 1988).

➤ Sauerstoffkonzentration

Eine starke Abhängigkeit der Besiedlungszusammensetzung wurde zur Sauerstoffkonzentration beobachtet. Heterotrophe Bakterien, die im Oberflächennahen Bereichen dominieren, benötigen Sauerstoff oder andere Elektronenakzeptoren für den Abbau von Kohlenstoffverbindungen. Barbaro et al. (1994) wiesen eine signifikante Abnahme der heterotrophen Bakterien ab Konzentrationen < 3,0 mg/L Sauerstoff und geringer Verfügbarkeit von Stickstoffverbindungen nach. Die Mehrzahl der Bakterien im Grundwasser – bis zu 90% - sind jedoch fakultativ anaerob, d.h. sie können flexibel auch auf variierende Sauerstoffkonzentrationen reagieren (Hoos & Schweisfurth, 1982). Dies ist ein Grund, weshalb Kolonienzahlen aerober und anaerober Bakterien häufig auch in unterschiedlichen Grundwassertiefen relativ konstant bleiben.

➤ Weitere Elektronenakzeptoren

Die Verfügbarkeit weiterer Elektronenakzeptoren bestimmt das Vorkommen unterschiedlicher ökophysiologischer Stoffwechselgruppen, wie sie auch in älteren Studien mittels Kultivierungsverfahren nachgewiesen wurden. So wiesen Bengtsson & Bergwall (1995) in Grundwasserleitern mit geringen Nitratkonzentrationen einen geringen Anteil denitrifizierender Bakterien von etwa 20% nach. In oberflächennahen Bereichen wurden von Gottfreund et al. (1985a und b) 10^2 bis 10^5 Denitrifizierer /g Boden TG bei gleichzeitig geringen Konzentrationen Nitratammonifizierender Bakterien beobachtet. Auch fanden die Autoren mit zunehmender Tiefe vermehrt Eisenoxidierer und Eisenreduzierer sowie Manganoxidierer und -reduzierer.

Sulfatreduzierer werden in oberflächennahen Grundwässern häufig in Konzentrationen von 10^1 bis 10^4 / ml nachgewiesen (Dockins et al., 1980; Hoos & Schweisfurth 1982; Preuß & Nehr Korn, 1988 u. 1996; Kilb, 1999). Dagegen liegt die Anzahl schwefeloxidierender Bakterien i. d. R. bis zu zwei Zehnerpotenzen niedriger (Hoos & Schweisfurth 1982; Preuß 1991).



➤ Weitere Komponenten

Einige weitere Beispiele für die vielseitigen Wechselwirkungen zwischen Grundwasserbakterien und wichtigen Grundwasserkomponenten sind in der Tabelle 1 zusammengefasst.

Tab. 1: Wechselwirkung abiotischer und mikrobieller Komponenten im Grundwasser (modifiziert nach Hunkeler et al., 2006)

Komponente	Mikrobiologische Wechselwirkungen
Quarz	Besiedlungsoberfläche für Mikroorganismen
Silikate	Bei der Silikatverwitterung wird Säure verbraucht und Kalium freigesetzt. Bakterien produzieren Säure und benötigen Kalium für ihren Stoffwechsel.
Kalk / Kohlensäure	Bakterien beeinflussen mit ihren Aktivitäten das Kalk-Kohlensäuregleichgewicht.
Tonminerale	Sie beeinflussen den Transport von Mikroorganismen und die Bioverfügbarkeit von Nährstoffen.
Eisen und Mangan	Diese werden von Bakterien als Elektronendonatoren oder -akzeptoren genutzt, mikrobielle Aktivitäten führen zu Ausfällungs- oder Lösungsprozessen.
Organische Kohlenstoffverbindungen	Sie werden von heterotrophen Bakterien als Kohlenstoffquelle genutzt und teilweise oder vollständig abgebaut (Sauerstoffzehrung und z. T. Säurbildung).
Sauerstoff	Dieser wird bei heterotrophen Abbauprozessen verbraucht.
Nährstoffe (Anionen)	Stickstoff, Phosphor und Schwefel werden bei unterschiedlichen Stoffwechselaktivitäten reduziert bzw. oxidiert.
Kationen	Sie werden als Spurenstoffe benötigt, Calcit oder Dolomit werden auch mikrobiell aufgelöst.

➤ Abbildung unterschiedlicher Grundwassersituationen mittels Besiedlungsanalysen

Hydrochemisch und geographisch unterschiedliche anaerobe Grundwasserhabitats wiesen in Untersuchungen von Kilb (1999) signifikant unterschiedliche mikrobielle Populationen auf, die mittels molekularbiologischer Besiedlungsmuster (DGGE-Analysen) dargestellt werden konnten. Das hydrochemisch und geographisch differente Grundwasser zweier Uferfiltratgebiete (an der Ruhr und am Rhein) unterschied sich aufgrund von DGGE-Analysen deutlich und wies eine geringe Ähnlichkeit in der Besiedlungszusammensetzung von 10% bis 20% auf. Hydrochemisch ähnliche Grundwässer deuteten dagegen auf eine ähnlich zusammengesetzte Besiedlung hin, die sich in zu 50% ähnlichen DGGE-Profilen widerspiegelte.

Preuß (1991) wies anhand von Clusteranalysen isolierter Bakterienstämme eine 25,6%ige Übereinstimmung der Besiedlung von benachbarten Grundwasser-



messstellen nach, die aufgrund der Uferfiltration starke Gradienten bezüglich der verfügbaren Elektronenakzeptoren aufwiesen.

Auch andere Untersuchungen mittels molekularbiologischer Besiedlungsanalysen zeigten, dass bei unterschiedlichen geochemischen Verhältnissen im Grundwasser unterschiedliche Bakterien dominieren, während bei offensichtlich gleichen geochemischen Bedingungen oder einer hydrologischen Verbindung die bakteriellen Lebensgemeinschaften sehr ähnlich sind (Pedersen et al., 1996; Kuhlmann et al., 1997). Sehr deutliche Unterschiede wurden in der Zusammensetzung der mikrobiellen Population aerober und anaerober Grundwässern ermittelt (Kilb et al., 1998; Eschweiler et al., 1997).

➤ Vergleich mit chemischen Daten

Die statistische Auswertung biologischer und chemischer Daten mittels Clusteranalysen oder Hauptkomponentenanalysen kann ein sehr hilfreiches Instrument sein, um Zusammenhänge zwischen der mikrobiellen Besiedlung und den vorherrschenden Milieuverhältnissen aufzuzeigen (Malard, 2001; Hunkeler et al., 2006).

Untersuchungen von Franklin et al. (2000) zeigten mittels dieser Auswertungen deutliche Unterschiede in der Besiedlung aerober und anaerober Grundwasserstandorte. Hierbei zeigte sich, dass sich die kleinräumige Heterogenität der Milieubedingungen in anaeroben Grundwasserstandorten in einer hohen Variabilität der mikrobiellen Besiedlung widerspiegelt.

Mittels Hauptkomponentenanalyse verglich auch Burn (2002) die mikrobiellen Besiedlungsmerkmale (Gesamtzellzahl und mittels PCR/DGGE erfasste Diversität) mit den Milieubedingungen im Grundwasser. Hierbei zeigten insbesondere die Parameter Redoxpotential, Leitfähigkeit, TOC-Gehalt, Kaliumgehalt und Fließgeschwindigkeit deutliche Korrelationen zu den Merkmalen der mikrobiellen Besiedlung.

3.2.3 Effekte von Grundwasserkontaminationen auf mikrobielle Biozöosen

Störungen eines Ökosystems sind häufig anthropogenen Ursprungs und können eine plötzliche und starke Veränderung der „normalen“, standortspezifischen natürlichen Umweltbedingungen bedeuten, etwa durch den Eintrag von Schadstoffen. Die Intensität von Störungen beeinflusst in den meisten Fällen die Quantität sowie die Struktur und Diversität von Biozöosen. Inwieweit dies auch auf die Bakteriengemeinschaften im Grundwasser zutrifft, ist bisher nur in wenigen Studien untersucht worden. Für die Auswirkungen von Schadstoffen auf die mikrobielle Grundwasserbesiedlung spielt eine wesentliche Rolle, ob diese „Schad“stoffe verwertet werden können und in welchen Konzentrationen sie vorliegen.

Grundwasserkontaminationen durch Stoffeinträge (Nährstoffe, Schwermetalle, Xenobiotika) können simultan ganz unterschiedliche Effekte auf die mikrobiellen Populationen ausüben. Sie können auf einen Teil der Mikroorganismen hemmend oder toxisch wirken, anderen Mikroorganismen können zumindest die organischen Verbindungen als Kohlenstoffquelle dienen. Bei geringen Stoffkonzentrationen



sind Summenparameter daher häufig nur bedingt geeignet, Schadstoffwirkungen zu erfassen.

Plötzlich auftretende Veränderungen der Umweltbedingungen können reversible Effekte oder aber - insbesondere im Grundwasser aufgrund der besonderen Merkmale der Lebensgemeinschaften (u. a. verlangsamte Umsatz- und Vermehrungsraten) - irreversible oder nur langsam zu behebende biologische Effekte auslösen.

➤ Wirkungsmechanismen

In der Ökologie geht man davon aus, dass bei starken und häufigen Störungen (z.B. Veränderungen des Milieus, Schadstoffeinträge) eine geringe Diversität und Artenvielfalt vorliegt, da nur resistente Organismen sich dauerhaft durchsetzen können. Ebenso ist die Diversität in statischen Systemen häufig gering, da sich nur die am besten angepassten Organismen durchsetzen (Connell, 1978). Bei Bakteriengemeinschaften wurde von einigen Autoren eine Zunahme der Populationsdichte durch chronische chemische Kontaminationen sowie eine gleichzeitige Abnahme der Diversität beobachtet (Atlas et al., 1991). Es können jedoch auch methodische Schwierigkeiten zu derartigen Ergebnissen führen, da Arten, die nicht mehr nachweisbar sind, nicht zwangsläufig verschwunden sein müssen. Sie können jedoch in so geringer Anzahl vorhanden oder so inaktiv sein, dass sie nicht mehr nachweisbar sind. Die Überdauerung „versteckter“ Arten könnte die in einigen Untersuchungen beobachtete rasche Reaktion mikrobieller Gemeinschaften auf Kontaminationen erklären (Smets et al., 2002).

Anthropogene Veränderungen des Grundwassers werden in der Forschung überwiegend unter dem Aspekt der Schadstoffentfernung und Standortsanierung betrachtet. Nur wenige Arbeiten untersuchten bisher die Einflüsse anthropogener Kontaminationen auf die Zusammensetzung der mikrobiellen Lebensgemeinschaften (z.B. Federle et al., 1990; Long et al., 1995). Auch über die Effekte hydraulischer Veränderungen, etwa durch Verrieselungen, ist wenig bekannt. Offensichtlich kommt es hierbei zu Verschiebungen der ursprünglichen mikrobiellen Zonierungen (Gliesche, 1999).

Verschiedene Grundwasserkontaminanten unterliegen in den verschiedenen Zonen des Grundwasserraumes unterschiedlichen Umsetzungen. Beispiele für Kontaminationen, die sich auf die Grundwasserbesiedlung auswirken sind:

- starke organische Belastungen unterhalb von Abfalldeponien
- Einträge durch Verrieselung von Abwasser
- Nitrat- und Pestizideinträge durch die Landwirtschaft
- mit Schwermetallen, Mineralöl oder PAKs kontaminierte Grundwasserleiter in urbanen Räumen

Während in aeroben Zonen sehr viele der über diese Quellen eingetragenen leicht abbaubaren Substanzen aerob metabolisiert werden, dominiert im anaeroben Bereich die Umsetzung anderer Verbindungen, wie z.B. Mineralöle oder chlorierte Kohlenwasserstoffe (Bradley et al., 1998; Wild et al., 1995; Moran & Hickey, 1997).



Anthropogene Veränderungen des Grundwassers durch den Eintrag von Xenobiotika zeigen somit aufgrund unterschiedlicher mikrobieller Stoffwechsellaktivitäten in den verschiedenen Zonen auch unterschiedliche Wirkungen (DVWK, 1997).

➤ Auswirkungen von Stoffeinträgen

Ein generelles Problem der Untersuchungen an Altlastenstandorten ist, dass der ursprüngliche Zustand der mikrobiellen Besiedlung vor der Kontamination nicht bekannt ist, so dass ein direkter Vorher-Nachher-Vergleich i. d. R. nicht möglich ist. Einige Tendenzen lassen sich jedoch aus vorliegenden Einzeluntersuchungen ableiten:

- So ist eine vielfach beobachtete Reaktion mikrobieller Besiedlungen auf plötzliche Umweltveränderungen und Stress, etwa durch hohe Schadstoffeinträge, eine Reduzierung der Artenvielfalt (Martin & Bianchi, 1980; Atlas, 1984).
Ebenso werden Verschiebungen innerhalb des Artenspektrums beobachtet. Für Grundwasser wurden in zahlreichen Untersuchungen im Altlasten- und Sanierungsbereich in den Schadstofffahnen die jeweils abbauenden Spezies oder Stoffwechselgruppen detektiert. Obwohl hierbei keine Vergleichswerte zum ursprünglichen Zustand der Besiedlung vorliegen, lassen sich derartige Untersuchungen als Hinweise einer entsprechenden Anpassung an die Grundwasserkontamination interpretieren (Kämpfer et al., 1993; Long et al., 1995).
Zu berücksichtigen ist jedoch, dass zahlreiche aus diesen Standorten isolierte Arten eine hohe metabolische Flexibilität und Diversität aufweisen, so dass Artenspektren allein nur unzureichend Effekte durch Kontaminationen widerspiegeln (Foght et al., 1996; Ridgway et al., 1990; Lode, 1986). Häufig sind weitergehende Untersuchungen zum Nachweis metabolischer Gene, zur Genexpression oder Aktivität für eine realistische Abschätzung der mikrobiellen Prozesse erforderlich.
- Bei niedrigen, nicht toxischen Schadstoffkonzentrationen wird auch eine Erhöhung der Bakterienzahlen, wahrscheinlich aufgrund der Vermehrung resistenter oder abbauender Bakterien beobachtet. Die Diversität bleibt häufig unbeeinflusst oder kann sogar zunehmen (Gliesche, 2004). In einigen Fällen erhöhte sich auch die Anzahl von Protozoen an der Gesamtbesiedlung, wodurch sich auch der Fraßdruck auf die Bakterien erhöhte (Kinner et al., 1997 und 1998; Novarino et al., 1994). Je nach Art der Kontaminationsquelle erhöht sich außerdem der Anteil hygienisch relevanter und der sporenbildenden Bakterien, etwa bei Abwasser oder Altlastendeponien. Hemmende Effekte werden in der Regel nur bei hohen Schadstoffkonzentrationen beobachtet. In PAK-belasteten Böden wiesen z. B. Abdreoni et al. (2004) mit zunehmender PAK-Konzentration geringere Enzymaktivitäten (Arylsulphatase, Phosphatase, Urease, Dehydrogenase, Esterasen) und geringere mikrobielle Diversitäten mittels DGGE-Profilen nach.
- Höhere Nährstoffeinträge führen zu einer Erhöhung der bakteriellen Biomasse (Federle et al., 1990), sowie zu Veränderungen der Besiedlungszu-



sammensetzung etwa durch den Eintrag und die besseren Überlebensbedingungen von grundwasserfremden Mikroorganismen, Krankheitserregern und Viren (Mrosz & Pillai, 1994; Paul et al., 1995; Tindall et al., 1994).

Es kommt entsprechend des Verbrauchs von Elektronenakzeptoren bei erhöhten Abbauaktivitäten bereits im oberflächennahen Bereichen zu einer Zonierung der korrespondierenden Stoffwechselformen, wie sie sonst nur für Tiefengrundwässer und über größere Distanzen typisch ist (Golwer et al., 1972; Beemann & Sufliya, 1987; Smith, 1997). Derartige Zonierungen, die über Sulfat-, Eisen- und Manganreduktion bis hin zur Methanogenese gehen, sowie erhöhte Bakterienzahlen lassen sich häufig im Abstrom von Deponien mit hohen Einträgen organischer Verbindungen beobachten.

Außerdem wiesen verschiedene Autoren bei erhöhten Konzentrationen abbaubarer Kohlenstoffverbindungen auch eine Erhöhung des Anteils nicht angehefteter Bakterien im Grundwasser im Vergleich zur angehefteten Besiedlung nach (Harvey et al., 1984; Harvey & George, 1987).

Mit der Zufuhr von Nährstoffen steigen die mikrobiellen Aktivitäten in kontaminierten Grundwässern an (Brockmann et al., 1992). Es werden als Anzeichen hierfür z.B. im Abstrom von Deponien erhöhte RNA-, DNA- und ATP-Konzentrationen in den Bakterienzellen beobachtet (Beemann & Sufliya, 1987). Bei sehr hohen Schadstoffkonzentrationen, die im Bereich von einigen mg/L liegen können, werden jedoch hemmende oder toxische Effekte auf einen Großteil der Grundwasserbesiedlung und ein Rückgang der Bioaktivitäten beobachtet. Gleichzeitig kommt es zu einer Dominanz Antibiotika-, Schwermetall- oder Pestizidresistenter Bakterien (Preuß & Nehr Korn, 1995; Sittig & Hirsch, 1996).

- Ein erhöhter Nitrateintrag führt i. d. R. zu einem Anstieg denitrifizierender Bakterien im Grundwasser (Tiedje, 1994; Starr & Gillham, 1993). Nitrat kann über mikrobielle Denitrifikation jedoch nur bei ausreichender Verfügbarkeit von verwertbaren Kohlenstoffquellen und geringen Sauerstoffkonzentrationen reduziert werden. Nach Bengtsson & Bergwall (1995) weisen in Nitratbelasteten Grundwässern bis zu 50% der Bakterien die Fähigkeit zur Denitrifikation auf, während in unbelasteten Grundwässern dieser Anteil bei 20% liegt.

Es finden sich jedoch auch in Tiefengrundwässern in mehr als 200 m Tiefe noch denitrifizierende Bakterien (Francis et al., 1989). Die Erhöhung der Nitratkonzentration kann in oberflächennahen Grundwässern zu allgemein erhöhten Abbauaktivitäten und speziell zu einer Verbesserung des Abbaus einzelner Schadstoffe wie Mineralöl oder BTX führen (Gottfreund et al., 1985b; Hutchins et al., 1991; Riss & Schweisfurth, 1987).

Als Beispiel für die unterschiedlichen Auswirkungen von moderaten Stoffeinträgen können Untersuchungen von de Liphthray et al. (2003) dienen. An Grundwasserstandorten, die mit geringen Pestizidkonzentrationen (max. 40 µg/L) kontaminiert waren, zeigten diese Untersuchungen an allen Messstellen im Abstrom der Kontamination gleich bleibende Zellzahlen sowie eine gleich hohe Diversität der Besiedlung, unabhängig von den Pestizidkonzentrationen. Die Zusammensetzung



der mikrobiellen Besiedlung unterschied sich jedoch bedeutend, trotz der vergleichbaren Diversität. Hierbei wiesen hydrogeologisch getrennte Standorte vergleichbarer Belastungen hohe Ähnlichkeiten in der Besiedlungszusammensetzung auf. Auch konnte in Laborexperimenten nachgewiesen werden, dass bei moderater Pestizidbelastung der Anteil kultivierbarer und aktiver Bakterien stieg.

Diese Studie zeigte folgende Effekte von moderaten Pestizidbelastungen, wie sie auch in anderen moderaten Schadensfällen beobachtet wurden (vgl. Band 2: Grundwasseruntersuchungen):

- keine Beeinflussung der Gesamtzellzahlen,
- keine Beeinflussung der Diversität,
- Veränderungen in der Besiedlungszusammensetzung,
- Zunahme kultivierbarer, aktiver Bakterien
- Zunahme Pestizide abbauender Bakterien.

Diese Aussagen decken sich mit von Gliesche (1999) zusammenfassend beschriebenen Veränderungen der mikrobiellen Besiedlung durch anthropogene Belastungen. Danach hat der Eintrag von BTX im mg/L-Bereich eine toxische, d.h. hemmende Wirkung auf Bakterienpopulationen bezüglich Biomasse, Bioaktivität und Diversität. Belastungen im µg/L-Bereich führen dagegen zu einer Vermehrung spezifischer Mikroorganismen und zu einem Anstieg von Biomasse und Bioaktivität. Die jeweiligen mikrobiellen Populationen entwickeln eine genetische Anpassung an die Belastungssituation, die anders als vielfach postuliert auch in einer höheren genetischen Heterogenität resultieren kann.

Außerdem wird häufig ein um das doppelte erhöhter DNA-Gehalt von Bakterien in biologisch aktiven Belastungszonen mit geringen Schadstoffkonzentrationen beobachtet sowie ein horizontaler Gentransfer zwischen den Mikroorganismen vermutet.

3.2.4 Indikatorfunktionen

Indikatororganismen wie sie für die Bewertung von Oberflächengewässern im so genannten Saprobienindex zusammengefasst sind, können für Grundwassersysteme nicht benannt werden. Der Saprobienindex gibt aufgrund der Artenzusammensetzung und –abundanz Aufschluss über Nährstoff- und Sauerstoffverhältnisse in einem Gewässer. Ein solches Vorgehen kann für Grundwasser nur in Ansätzen erfolgen.

Nach eigenen Grundwasseruntersuchungen sowie dem Vergleich mit den Ergebnissen einer Reihe anderer Autoren weist Gliesche (2004) insbesondere auf die Verbreitung von *Pseudomonas veronii* als typisches Grundwasserbakterium hin, das sowohl in oberflächennahem als auch Tiefengrundwässern beschrieben wird. Eine Auswahl möglicher Indikatorbakterien muss jedoch jeweils nach regionalen, geologischen und hydrochemischen Aspekten erfolgen und für jeden Grundwasserleiter gesondert geprüft werden. Bisher zeigen die Heterogenität der Bakterienbesiedlungen unterschiedlicher Grundwasserstandorte und die erheblichen Lücken im bisherigen Datenmaterial deutliche Limitierungen bei der Definition von ökologischen Indikatorbakterien auf, die den „natürlichen“ Grundwasserzustand anzeigen könnten.



Mikroorganismen sind - im Gegensatz zu Tieren - überall im Grundwasser nachweisbar und können mittels einfacher und etablierten Probenahme- und Analyseverfahren untersucht werden. Nachhaltige Milieuveränderungen spiegeln sich langfristig in Veränderungen mikrobieller Besiedlungsmerkmalen wieder. Mikroorganismen können daher trotz der oben genannten Einschränkungen als Indikatoren dienen. So schlagen Mösslacher et al. (2001) beispielsweise die Verwendung von Mini-Bioreaktoren für die online-Messung chemischer und biologischer Daten für das Biomonitoring von Grundwasser vor.

Mikroorganismen können insbesondere dann als Indikatoren dienen, wenn **Indikatormerkmale der mikrobiellen Besiedlung** als differenzierte Bewertungsgrundlage herangezogen werden (Preuß, 2005; Hahn & Preuß, 2005). Die in den vorangegangenen Kapiteln erläuterten Merkmale natürlicher Grundwasserbesiedlungen bieten hierfür Ansatzpunkte und sollten in Untersuchungskonzepte einbezogen werden.

- Mikrobielle Biozönosen können in der Summe unterschiedlich auf Stoffeinträge reagieren, je nach dem, ob die Stoffe abbaubar sind oder extreme hemmende Effekte aufweisen. Für Fragestellungen zum Effekt von Schadstoffen ist der Einzelnachweis von Stoffwechselkompetenzen und des Schadstoffabbau angebracht. Artenspektren geben in der Regel nur unzureichend Aufschluss über die herrschenden Milieubedingungen.
- Eine Eutrophierung des Grundwassers (Nährstoffeinträge) und der Eintrag moderater Konzentrationen organischer Spurenstoffe führen nicht zwangsläufig zu einer Verarmung des Artenspektrums. Hier können Fingerprints zur Erfassung von Besiedlungsveränderungen und Summenparameter zur Biomasse und Bioaktivität sinnvoller sein. Toxische Effekte von Schwermetallen und von extremen Schadstoffkonzentrationen lassen sich über eine Verringerung der mikrobiellen Aktivitäten und der Biomasse erfassen, wenn die unbelastete Ausgangssituation bekannt ist. Ist dies nicht der Fall oder fehlen statistisch belegte Daten über unbelastete Referenzzustände, ist eine Lösungsmöglichkeit, das zuströmende Grundwasser als Referenz heranzuziehen.
- Am aussagekräftigsten sind mikrobiologische Besiedlungsmerkmale, wenn der Vergleich mit einer Ausgangssituation gegeben ist, d. h. dass für unterschiedliche Grundwassersituationen Referenzzustände und Spannweiten für biologische Daten ermittelt werden müssen.
- Bereits jetzt können mit mikrobiologischen Parametern jedoch unterschiedliche Zustände mikrobiologisch charakterisiert und nachhaltige Grundwasseränderungen verfolgt werden (siehe Band 2: Experimentelle Arbeiten). Auch stehen geeignete mikrobiologische Methoden zur Verfügung, um systematische sowie detaillierte Grundwasseruntersuchungen durchzuführen (siehe Band 1: Literaturstudie).
Beispiele für mikrobiologische Kennwerte geben die im Rahmen dieser Studie ermittelten Ergebnisse aus exemplarischen Felduntersuchungen (Tab.



(Tab. 2). Diese reichen statistisch jedoch nicht aus, um die natürliche Spannbreite mikrobiologischer Daten in unbelasteten oder kontaminierten Grundwassersystemen zu ermitteln.

Tab. 2: Beispiele für den mikrobiologischen Vergleich chemisch unbelasteter und belasteter Grundwasserstandorte (Mittelwerte aus Felduntersuchungen, siehe Band 2)

	Zellzahl [1/ml]	FDA-Umsatz [ng/ml/h]	Kultivierbare (R2A-Agar)	Diversitäts- index (H)	Gleichheits- maß (J)
Chemisch unbelastet (7 Standorte)	3,53*10⁵	0,797	0,10%	4,42	0,92
<i>Standardabw.</i>	<i>1,93*10⁵</i>	<i>0,01</i>	<i>0,0018</i>	<i>0,70</i>	<i>0,05</i>
Chemisch* belastet (9 Standorte)	3,47*10⁶	1,993	0,24%	4,484	0,98
<i>Standardabw.</i>	<i>5,34*10⁶</i>	<i>1,53</i>	<i>0,0047</i>	<i>0,59</i>	<i>0,04</i>

* mit BTX und PAK

Derzeitige Defizite

Die Frage, inwieweit Biozönosen tatsächlich Rückschlüsse auf anthropogene Einflüsse erlauben, konnte nur für den Teilbereich der Grundwasserbakterien und in der Praxiserprobung nur für wenige exemplarische Standorte oder Modellsituationen bearbeitet werden (siehe Band 2). Erste Hinweise auf Indikatorfunktionen mikrobiologischer Merkmale konnten zwar im Rahmen der Literaturrecherchen und experimentellen Arbeiten abgeleitet werden, sind jedoch erst als Ansatzpunkte zu werten. Erforderlich sind die systematische und statistisch aussagekräftige Datenerhebung für alle Komponenten der Lebensgemeinschaften und die Definition natürlicher, unbeeinflusster Biozönosen als Referenzzustände.

Die Probenahmetechniken sind hinsichtlich der optimalen Pumprate von Grundwasser, der getrennten Erfassung von Porenwasser und Feststoffe für mikrobiologische Untersuchungen noch nicht optimal geregelt. Insbesondere die Gewinnung repräsentativer Feststoffproben ist für die Untersuchung der im Grundwasserraum überwiegen sessil lebenden Mikroorganismen eine wichtige Voraussetzung.

4. Schutzgut Grundwasser und seine Bewertung

4.1.1 Ansatzpunkte für einen nachhaltigen ökologischen Grundwasserschutz

Ziel dieser Studie war in erster Linie die Prüfung und Bewertung mikrobiologischer Kriterien und Methoden, die für die ökologische Bewertung von Einflüssen auf das Grundwasser eingesetzt werden können. Die Ableitung von Schutzziele war nicht



Gegenstand des Vorhabens. Dennoch sollen als Ausblick im Folgenden einige Überlegungen und Anregungen aufgeführt werden.

So ließe sich prüfen, inwieweit bestehende Schutzvorgaben aus anderen Bereichen auf einen ökologischen Grundwasserschutz übertragen werden können.

Für die Bewertung und den Schutz von Oberflächengewässern benennt die LAWA beispielsweise eine Reihe von Schutzgütern und Zielvorgaben (LAWA, 1997). Eine Übertragung auf Grundwässer wäre insbesondere in Bezug auf folgende Aspekte zu prüfen:

Schutzgut aquatische Lebensgemeinschaften:

Hier wird als Ziel für Binnengewässer die Erhaltung und Wiederherstellung einer „möglichst naturnahen, standortgetreuen, sich selbst reproduzierenden und selbst regulierenden Lebensgemeinschaft von Pflanzen und Tieren“ genannt. Eine solche Vorgabe wäre für einen nachhaltigen Grundwasserschutz in ähnlicher Form denkbar. Als Primärproduzenten können im eingeschränkten Maße chemolithoautotrophe Bakterien angesehen werden. Die Hauptenergiezufuhr erfolgt nach heutigem Kenntnisstand in oberflächennahen Grundwässern jedoch durch Einträge organischen Materials aus der Bodenzone. Als Primärkonsumenten lassen sich Bakterien, Pilze und Protozoen benennen, als Sekundärproduzenten Grundwassertiere und einige Protozoen. Grundwasser ist somit ebenfalls als Lebensraum einer funktionierenden Gemeinschaft, in diesem Falle aus Tieren und Mikroorganismen, anzusehen. Wie in Oberflächengewässern bedeutet demnach der Schutz des Ökosystems Grundwasser und seines biologischen Gleichgewichts den Schutz seiner einzelnen Komponenten bzw. Organismengruppen und ihrer Funktionen.

Schutzgut Oberflächengewässer:

Oberflächengewässer werden häufig aus Grundwasser gespeist. Schädigende Einflüsse auf das Grundwasser, etwa Schadstoffeinträge können somit auch andere Gewässer in ihrer Funktion und ihrem unbeeinflussten Zustand beeinträchtigen.

Schutzgut Schwebstoffe und Sedimente:

Das Sorptions- und Mobilisationsverhalten von anorganischen und organischen Wasserinhaltsstoffen sowie auch von Schadstoffen ist durch die vorherrschenden Milieubedingungen bestimmt. Diese sind auch durch mikrobielle Aktivitäten beeinflusst. Veränderungen der Biozönose und ihrer Aktivitäten können somit auch zu veränderter Festlegung oder Mobilisierung von Stoffen im Grundwasserraum führen.

Schutzgut Trinkwasserversorgung:

Für die Nutzung von Grundwasser als Trinkwasserressource ist es wichtig, Grundwasser nachhaltig vor Kontaminationen mit Schadstoffen und Schadorganismen zu schützen. Unter diesem Aspekt sind in erster Linie Einträge hygienisch relevanter Bakterien und Mikroorganismen zu verhindern, die in naturnahen Grundwässern nicht zur natürlichen Besiedlung gehören. Aber auch einschneidende Veränderungen der Milieuverhältnisse (z.B. Temperatur, Nährstoffgehalte und Stoffkonzentrationen) können das Überleben standortfremder Organismen



begünstigen und zu einem Rückgang der natürlichen Besiedlung führen. Einflüsse, die die Grundwasserökologie oder die menschliche Gesundheit gefährden müssen daher verhindert werden, um Grundwasser als Trinkwasserressource nutzen zu können. Bei den zulässigen Stoff- und Organismenkonzentrationen können in den meisten Fällen sicherlich bestehende Zielvorgaben und Grenzwerte ausreichend sein.

4.2 Notwendige Voraussetzungen für Bewertungskonzepte

Aus den in Band 1 und Band 2 zusammengefassten Ergebnissen der Literaturstudie sowie den Untersuchungsergebnissen der experimentellen Arbeiten lassen sich die im Folgenden erläuterten Voraussetzungen und Möglichkeiten für biologisch – ökologisch orientierte Grundwasseruntersuchungen ableiten. Die in Kapitel 5 vorgeschlagenen Untersuchungskonzepte können einen wichtigen Beitrag für die Ermittlung des ökologischen Zustands von Grundwasser und den nachhaltigen Schutz bzw. dem Monitoring der Grundwassergüte leisten.

Voraussetzungen für ein Bewertungskonzept sind nach heutigem Kenntnisstand:

1. Formulierung eines Schutzziels für Grundwasserbiozönosen und dessen juristische Verankerung
2. Statistisch fundierte Definition des natürlichen ökologischen Zustandes (biologische Referenzzustände)
3. Einbeziehung unterschiedlicher hydrogeologischer Rahmenbedingungen und damit Klassifizierung von hydrogeologischen unterschiedlichen Großeinheiten
4. Auswahl der für die Zustandsbeschreibung von Grundwasser geeigneten biologischen Kriterien
5. Festlegung realisierbarer Untersuchungsprogramme unter Berücksichtigung der für Grundwasseruntersuchungen derzeit geeigneten biologischen Verfahren
6. Monitoring biologischer Daten und Auswertungen unter Einbeziehung der hydrogeochemischen Kenngrößen mittels statistische Verfahren (Clusternanalysen, Hauptkomponentenanalysen)

4.2.1 Schutzziele

Grundwasser ist neben einer der wichtigsten Trinkwasserressourcen Teil des gesamten Ökosystems und Teil des globalen Wasserkreislaufes. Außerdem stellt Grundwasser ein eigenes, empfindliches Ökosystem mit speziell angepassten tierischen und mikrobiellen Organismen und Organismengemeinschaften dar. Ökologisches Ziel eines nachhaltigen Grundwasserschutzes sollte eine naturnahe standortspezifischen Grundwasserbesiedlung sein, die repräsentativ für unbelastete bzw. nur wenig belastete und anthropogen gering überprägte Grundwasserkörper ist. Auch in Hinblick auf die Beeinflussung angrenzender Ökosysteme (Bo-



den, Oberflächengewässer) ist eine vorsorgende Vermeidung einer Verschlechterung des ökologischen Zustands des Grundwassers zu verhindern.

Die biologischen Grenzwerte der TrinkwV sind für die ökologische Zustandsbeschreibung nur insofern relevant, dass humanpathogene und fäkale Mikroorganismen nicht zur natürlichen Grundwasserbesiedlung gehören, sondern Hinweise auf Störungen geben können. Für die ökologische Zustandsbeschreibung müssen dagegen die Merkmale der natürlichen Grundwassermikroflora sowie deren Veränderungen aufgrund von Störeinflüssen in eine Analyse einbezogen werden.

4.2.2 Referenzzustände und hydrogeochemische Bezugseinheiten

Für die Bewertung mikrobiologischer Grundwasserdaten müssen die natürlichen unterschiedlichen geologischen und hydrochemischen Rahmenbedingungen in ihrer Varianz und Wechselwirkung mit der mikrobiellen (und faunistischen) Besiedlung als natürliche Bandbreite berücksichtigt werden. Ein Grundproblem ist hierbei das Fehlen statistisch abgesicherte Kenntnisse über den natürlichen Zustand von Grundwasserbesiedlungen - es fehlt also eine klare Definition natürlicher Referenzzustände. Diese ist eine wesentliche Voraussetzung für die Beurteilung von ökologischen Störungen und Zustandsveränderungen.

Damit zusammenhängend ergeben sich das Problem einer Klassifizierung hydrogeologisch unterschiedlich beschaffener Grundwässer und die Frage, inwieweit unbeeinflusste Grundwasserleiter in Deutschland existieren und erkannt werden können.

Lösungsansätze:

- Erste Ansatzpunkte für die Definition von Referenzzuständen werden derzeit in einem vom Umweltbundesamt geförderten Vorhaben zur biologischen Bewertung von Grundwasserökosystemen erarbeitet (F&E-Vorhaben 206 23 200). In diesem Pilotprojekt können aber voraussichtlich nur ausgewählte Grundwassersituationen berücksichtigt werden, so dass darauf aufbauend ein bundesweites Monitoringprogramm zur Erfassung von biologischen Grundwasserdaten erforderlich ist. Hierbei ist im Vorfeld zu prüfen, inwieweit einzelnen Behörden bereits verwertbare Daten vorliegen und diese zusammengefügt und ausgewertet werden können. Darüber hinaus sind gezielt aktuelle Daten auf der Basis eines optimierten Untersuchungskonzeptes und vergleichbarer Methoden zu ermitteln.
- Erst aus den systematisch gesammelten, vergleichbaren Daten zu Bakterienzahlen, Aktivitäten und Besiedlungsmerkmalen lassen sich „Normalwerte“ ableiten. Zu beachten ist, dass mikrobiologische Daten nur vergleichbar sind, wenn sie mit den gleichen Verfahren bestimmt wurden. Die mikrobiologischen Daten geben in der Regel über den Zustand von Grundwasser Auskunft, wenn die jeweilige Ausgangssituation bekannt ist und Veränderungen in der Biomasse, Aktivität oder Besiedlungsstruktur festgestellt werden. Hierbei kann auch die vergleichende Untersuchung des Zu- und Abstroms an einer Messstelle hilfreich sein.



- Bei der Sammlung und Auswertung vorhandener und aktuell ermittelter Daten sind unterschiedliche hydrogeologische Großeinheiten und hydrochemische Bezugseinheiten zu berücksichtigen und getrennt auszuwerten. Hierfür ist es sinnvoll, auf die Klassifizierung von Kunkel et al. (2004) zurückzugreifen und parallel zu den dort zusammengestellten geologischen und chemischen Daten biologische Kenngrößen zu erheben. Es muss geprüft werden, inwieweit statistische Verfahren (Clusteranalysen, Hauptkomponentenanalysen) eine ökologische, d. h. hydrochemisch und biologisch integrierte Klassifizierung unterschiedlicher Grundwasserräume ermöglichen.
- Es sollten außerdem Werte zu natürlichen Spannbreiten biologischer Daten in den unterschiedlichen Systemen ermittelt werden, aus denen sich in weiteren Schritten biologische Zielwerte für unterschiedliche Grundwässer ableiten lassen.
Auch ist es empfehlenswert, natürliche Referenzzustände als anthropogen gering überprägte Zustände zu definieren, wie Kunkel et al. (2004) dieses in ihrer Klassifizierung bereits umgesetzt haben.
- Im Vorfeld von Monitoringprogrammen muss außerdem überprüft werden, ob die vorgesehenen Messstellen für mikrobiologische Untersuchungen geeignet. Wenn diese dem Stand der Technik entsprechen (z.B. DVGW-Regelwerk), eignen sie sich in der Regel auch für mikrobiologische Probenahmen.

4.2.3 Mikrobiologische Kriterien für den „natürlichen“ Grundwasserzustand

Merkmale natürlicher, unbelasteter mikrobieller Grundwasserbiozöosen sind nach dem heutigen Kenntnisstand:

- Um Zehnerpotenzen niedrigere Bakterienzahlen als im Boden oder Oberflächengewässern
- Ein hoher Anteil nicht kultivierbarer Bakterien (VBNC¹)
- Die Dominanz angehefteter Mikroorganismen sowie eine heterogene und aktive sessile Besiedlung
- Die Dominanz oligocarbophiler (an nährstoffarme Bedingungen angepasster) Mikroorganismen gegenüber mesocarbophilen (an nährstoffreiche Bedingungen angepassten) Mikroorganismen
- Eine hohe phylogenetische und physiologische Diversität

¹ Viable but not culturable micro-organisms



- Die saisonale quantitative und strukturelle Konstanz der Besiedlungen
- Der Einfluss der geologischen und hydrochemischen Bedingungen auf quantitative und qualitative Besiedlungsmerkmale
- Höhere Biomasse und Bioaktivitäten in Übergangsbereichen (Ökotonen)

Feststoffproben repräsentieren eher die tatsächlichen mikrobiologischen Verhältnisse als Grundwasserproben. Bei der Untersuchung von Feststoffen verringern sich wegen der dichteren Besiedlung außerdem häufig die Probleme mit den jeweiligen Nachweisgrenzen. Diese Untersuchungen erhöhen jedoch auf der anderen Seite den technischen Aufwand und den Effekt von Störfaktoren z. B. bei molekularbiologischen oder mikroskopischen Verfahren. In der Regel können diese Effekte inzwischen bei der Analytik minimiert werden.

Aus Vergleichsgründen mit hydrochemischen Daten und als orientierende und summarische Erfassung mikrobiologischer Daten kann jedoch trotzdem die Untersuchung von Grundwasserproben sinnvoll sein, die eine sehr viel höhere Homogenität als Feststoffproben aufweisen.

Die zurzeit verfügbaren mikrobiologischen und molekularbiologischen Untersuchungsmethoden für die Ermittlung der genannten Besiedlungsmerkmale wurden in Band 1 des Berichtes zusammengefasst und in Hinblick auf ihre Anwendbarkeit bei Grundwasseruntersuchungen bewertet.

5. Abgeleitete Untersuchungskonzepte und Fazit

Für die mikrobiologisch - ökologische Untersuchung von Grundwasser ist ein abgestuftes Vorgehen vorteilhaft. Je nach Anwendungsziel müssen die Untersuchungskonzepte unterschiedliche, spezifische mikrobiologische Methoden sowie eine chemisch-physikalische Analytik für die Standortbeschreibung umfassen. Biologische Daten sind meist vor dem jeweiligen Hintergrund der hydrochemischen Rahmenbedingungen zu beurteilen.

Außerdem können Mikrokosmosversuche die detaillierte Aufklärung von mikrobiologischen Prozessen und Wechselwirkungen mit den hydrogeochemischen Milieubedingungen ermöglichen. Auch weitergehende spezielle molekularbiologische Untersuchungen zur Aufklärung der Besiedlungszusammensetzung oder zum Nachweis metabolischer Kompetenzen können erforderlich sein.

Für die Umsetzung von Monitoringprogrammen, die Erfassung der „natürlichen“ Grundwasserbesiedlungen und ihrer Varianzen, das Aufzeigen von Verschlechterungen des ökologischen Zustands (Trendentwicklungen) sowie für die Ableitung von Gefährdungspotenzialen können folgende Stufen vorgeschlagen werden:

Stufe 1: Bundesweites Grundwassermonitoring



In einem ersten Schritt sollten die bundesweite Sammlung und die Neuerfassung mikrobiologischer Daten im Abgleich mit den von Kunkel et al. (2004) klassifizierten hydrogeologischen Großeinheiten erfolgen. Parallel zu mikrobiologischen Parametern sollte die hydrogeologischen und chemischen Kenndaten erfasst werden. Wünschenswert ist die grundsätzliche Aufnahme mikrobiologischer Parameter in bestehende oder geplante Monitoringprogramme.

Als realisierbar erscheint für ein solches Monitoring die Einbeziehung:

- der bakteriellen Biomasse
- des Anteils kultivierbarer oder aktiver Bakterien
- ggf. die Ermittlung von mikrobiellen Aktivitäten (Summenparameter)

Diese Parameter können einen ersten Überblick über die Anzahl und den physiologischen Zustand der Bakterienbesiedlung in unterschiedlichen Grundwasserkörpern geben. Aus den praktischen Erfahrungen und Literaturlauswertungen im Rahmen dieser Studie lassen sich die Ermittlung der mikroskopischen **Gesamtzellzahl**, der Lebendbakterienzahl (**Koloniebildene Einheiten**) auf geeigneten Nährböden (**R2A-Agar**) und die **Berechnung des Anteils kultivierbarer Bakterien** als geeignete Verfahren ableiten. Als optionale Ergänzung kann auch die Bestimmung von **E. coli oder coliformen Bakterien** als Indikatoren für fäkale Verunreinigungen sinnvoll sein.

Die zusätzliche Ermittlung von **Bioaktivitäten** ist über einfache Summenparameter wie z. B. die Esterase-Aktivität realisierbar.

Die gemeinsam erhobenen mikrobiologischen und hydrogeochemischen Daten sollten vergleichend ausgewertet werden. Es sollte geprüft werden, inwieweit Hydrogeologie und Chemie sich mit biologischen Daten decken und eine integrierte Grundwasserklassifizierung ermöglichen.

Stufe 2: Dauerbeobachtung ausgewählter Messstellen (z.B. für die Trenderkennung)

Detaillierte Untersuchungen sollten in einem zweiten Schritt an ausgewählten Messstellen erfolgen, die unterschiedlichen Grundwassereinheiten repräsentieren. Diese Untersuchungen sollten die zeitliche Varianz und die langfristigen Veränderungen der mikrobiologischen und hydrogeologischen Merkmale erfassen.

Die Untersuchungshäufigkeit sollte zweimal jährlich sein.

Für diese detaillierten Untersuchungen sollte das mikrobiologische Parameterspektrum zusätzlich zu den oben genannten Parametern wie folgt erweitert werden:



- Die quantitative Ermittlung ökophysiologischer Bakteriengruppen wie z. B. Denitrifizierer oder Sufatreduzierer ist erforderlich, um den direkten Bezug zu den unterschiedlichen Milieubedingungen zu ermöglichen.
- Für die Beurteilung der Stabilität bzw. potenzieller Veränderung der Besiedlungsstruktur müssen außerdem vergleichende Analysen zur Besiedlungszusammensetzung und Diversität erfolgen.

Die hierfür geeigneten und abgesicherten Untersuchungsverfahren umfassen die Quantifizierung von Stoffwechselgruppen mittels **MPN** (Most Probable Number) oder **KBE** (Koloniebildende Einheiten) auf angepassten Selektivmedien und die Erstellung und Auswertung von Besiedlungsmustern mittels **genetischer Fingerprints** (z. B. PCR/DGGE oder PCR/RFLP²).

Zusätzliche Möglichkeiten bieten die phylogenetische Identifizierung von charakteristischen Gensequenzen sowie die gezielte Detektion metabolischer Gene. Diese letztgenannten weiterführenden Untersuchungen erfordern jedoch spezielle Laborausstattungen und entsprechende spezielle Erfahrungen sowie z. T. erheblichen Optimierungsbedarf.

Stufe 3: Detaillierte mikrobiologische Untersuchungen an Altlastenstandorten, bei bekannten Grundwasserkontaminationen und zur Untersuchung anthropogener Einflüsse

Hierfür sind in der Regel die parallele Erfassung von Tiefenprofilen bzw. der biologischen Verhältnisse entlang von Schadstoffgradienten und der Vergleich mit den Milieubedingungen (z. B. pH, Sauerstoff, Redoxzonen) erforderlich. Die mikrobiologischen Untersuchungen sollten zusätzlich umfassen:

- Gezielte quantitative Erfassung schadstoffabbauender Bakterien oder der genetischen Abbaukompetenzen z. B. über Kultivierung oder metabolische Gene
- Abgleich mit den Konzentrationen von organischen und anorganischen Nährstoffen sowie der Stoffwechselprodukte

Zusätzliche gezielte Untersuchungen zu den mikrobiellen Prozessen sollten ggf. in Mikrokosmen (Bohrkernen + Standortwasser) erfolgen, um eine fundierte Gefährdungsabschätzung sowie die Prognose für Sanierungsaussichten zu ermöglichen.

² Siehe Band 1



Das dem beeinflussten Gebiet zuströmende Grundwasser kann eingeschränkt als Referenzzustand dienen.

Abbauversuche mit standort eigenem Grundwasser und Sediment beziehen automatisch die standortspezifischen Bakterienbesiedlungen ein und können dazu dienen, die Abbauprozesse und Einflussfaktoren am Standort zu analysieren.

Erforderlich ist die Vergleichbarkeit von entsprechenden Studien. Hierfür müssen repräsentative und standardisierte Versuchsaufbauten und Module für Modellökosysteme entwickelt werden, die sich aufgrund detaillierter Angaben an unterschiedlichen Standorten aufbauen lassen und vergleichbare Rahmenbedingungen ermöglichen.

Stufe 4: Forschung und Entwicklung

Für die gezielte Erforschung mikrobiologischer Prozesse in Grundwasserkörpern und die Aufklärung von Wechselwirkungen mit hydrochemischen und biotischen Faktoren sind grundlegende Untersuchungen erforderlich. Diese sollte einbeziehen:

- Die sessilen Lebensgemeinschaften an der festen Matrix (Bohrkerne)
- Detaillierte Studien an Mikrokosmen / Modellökosystemen
- Weiterführende Untersuchungen zur phylogenetischen und physiologischen Besiedlungsstruktur

Die Weiterentwicklung und Verifizierung von Methoden für die Anwendung bei Grundwasseruntersuchungen bietet sich im Wesentlichen an für:

- Den Einsatz von Biochips
- den Nachweis metabolischer Gene in Umweltproben
- den Nachweis der Genexpression, als Hinweis auf die tatsächlich stattfindenden mikrobiellen Aktivitäten

Die Initiierung gezielter Forschungsprojekte sollten parallel sowohl die methodischen Weiterentwicklungen als auch die Erweiterung der Kenntnisse über die Grundwasserökologie, das Zusammenwirken der biologischen Gruppen und die Wechselwirkungen zwischen der Grundwasserbiozönose und hydrogeochemischen oder anthropogenen Einflussfaktoren verfolgen.

Auch klassische Kultivierungstechniken können für den standardisierten Einsatz bei Grundwasseruntersuchungen noch weiter optimiert werden, z. B. hinsichtlich der optimalen Inkubationstemperatur bei der Koloniezahlbestimmung oder generell bei der Standardisierung und Validierung von Methoden.

Fazit



Mikrobiologische Daten sind für die Bewertung des ökologischen Zustands von Grundwässern unverzichtbar. Je nach Fragestellung und Ziel mikrobiologischer Untersuchungen konnte ein angepasstes, mehrstufiges Vorgehen vorgeschlagen werden. Hierbei wurden die Ergebnisse der Literaturstudie bezüglich der mikrobiologischen Merkmale weitgehend unbeeinflusster Grundwässer und bezüglich der derzeit verfügbaren und für Grundwasseruntersuchungen praktikablen Verfahren einbezogen (vgl. Band 1). Ebenso wurden die Ergebnisse aus den im Rahmen dieses Projektes durchgeführten Grundwasseruntersuchungen berücksichtigt (vgl. Band 2).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass für die vorgeschlagenen Untersuchungskonzepte geeignete Verfahren verfügbar sind. Mikrobiologische und molekularbiologische Methoden können sich effektiv ergänzen, um differenzierte Analysen der mikrobiellen Besiedlung und ihres physiologischen Status in Grundwassersystemen durchzuführen.

Für die Bewertung mikrobiologischer Daten sollte in einem ersten Schritt die Erfassung der natürlichen Grundwasserdaten erfolgen (Biomonitoring). Ausgewählte Langzeituntersuchungen können der Trenderkennung dienen und ermöglichen die Erfassung nachhaltiger Veränderungen.

Für die Interpretation der Befunde und eine Bewertung des jeweiligen ökologischen Grundwasserzustandes müssen biologische und chemische sowie hydrogeologische Daten an gemeinsamen Standorten ermittelt und ausgewertet werden. Statistische Verfahren wie Hauptkomponentenanalysen ermöglichen hierbei eine umfassende integrative Charakterisierung unterschiedlicher Grundwasserkörper und ihrer Entwicklung.



6. Literatur

- Alfreider, A., Krössbacher, M., Psenner, R. (1997): Groundwater samples do not reflect bacterial densities and activity in subsurface systems. *Wat. Res.* 31, 832-840
- Amann, R.I. (1995): Fluorescently labelled rRNA-targeted oligonucleotide probes in the study of microbial ecology. *Molecular Ecology* 4, 543-554
- Amann, R.I., Glöckner, F.-O., Neef, A. (1997): Modern methods in subsurface microbiology: In situ identification of microorganisms with nucleic acid probes. *FEMS Microbiol. Rev.* 20, 191-200
- Amann, R.I., Glöckner, F.-O., Neef, A. (1997): Modern methods in subsurface microbiology: In situ identification of microorganisms with nucleic acid probes. *FEMS Microbiol. Rev.* 20, 191-200
- Amann, R.I., Ludwig, W., Schleifer, K.-H. (1995): Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59, 143-169
- Andreoni, V., Cavalca, L., Rao, M.A., Nocerino, G., Bernasconi, S., Amico, E.L., Colombo, M., Gianfreda, L. (2004): Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere* 57, 401-412
- Atlas, R.M., Horowitz, A., Krichevsky, M., Bej, A.K. (1991): Response of microbial-populations to environmental disturbance. *Microbial Ecology*, 22 (3), 249-256
- Balkwill, D.L., Reeves, R.H., Drake, G.R., Reeves, J.Y., Crocker, F.H., King, M.B., Boone, D.R. (1997): Phylogenetic characterization of bacteria in the subsurface microbial culture collection. *FEMS Microbiol. Rev.* 20, 201-216
- Barbaro, S.E., Albrechtsen, H.-J., Jensen, B.K., Mayfield, C.L., Barker, J.F. (1994): Relationship between aquifer properties and microbial populations in the Borden aquifer. *Geomicrobiol. J.* 12, 203-219
- Baygents, J.C., Glynn, J.R., Albinger, O., Biesenmeyer, B.K., Ogden, K.L., Arnold, R.G. (1998): Variation of surface charge density in monoclonal bacterial populations: Implications for transport through porous media. *Environ. Sci. Technol.* 32, 1596-1603
- Beeman, R.E., Suflita, J.M. (1987): Microbial ecology of a shallow unconfined groundwater aquifer polluted by municipal landfill leachate. *Microb. Ecol.* 14, 39-54
- Beloin, R.M., Sinclair, S.L., Ghiorse, W.C. (1988): Distribution and activity of microorganisms in subsurface sediments of a pristine study site in Oklahoma. *Microbial Ecology*, 16 (1), 85-97
- Bengtsson, G. (1994): Growth and metabolic flexibility in groundwater bacteria. *Microb. Ecol.* 18, 235-248
- Bengtsson, G., Bergwall, C. (1995): Heterotrophic denitrification potential as an adaptive response in groundwater bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 16, 307-318
- Bone, T.L., Balkwill, D.L. (1988): Morphological and cultural comparison of microorganisms in surface soil and in subsurface sediments at a pristine study site in Oklahoma. *Microb. Ecol.* 16, 49-64
- Bradley, P.M., Chapelle, F.H., Lovley, D.R. (1998): Humic acids as electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of vinyl chlorid and dichloroethene. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3102-3105
- Brockman, F.J., Kieft, T.L., Fredrickson, J.K., Bjornstad, B.N., Li, S.W., Spangenburg, W., Long, P.E. (1992): Microbiology of vadose zone paleosols in south-central Washington State. *Microb. Ecol.* 23, 279-301
- Burn, C. (2002): Analyse de la structure des communautés microbiennes de l'aquifère poreuse du Seeland. Diplomarbeit, Université de Neuchâtel, Neuchâtel. Zitiert in : Hunkeler et al. (2006)
- Champ, D.R., Schröter, J. (1988): Bacterial transport in fractured rock – a field scale tracer test at the Chalk River Nuclear Laboratories. *Proc. Inter. Conf. On Water and Wastewater Microbiol.*, Newport Beach California, Feb. 8.-11.



- Connell, J.H. (1978): Diversity in tropical rain forest and coral reefs – high diversity of trees and corals is maintained only in a non-equilibrium state. *Science*, 199 (4335), 1302-1310
- Corapcioglu, M.Y., Haridas, A. (1985): Microbial transport in soils and groundwater: A numerical model. *Wat. Res.* 8, 188-200
- DIN 4049 Hydrologie, Teil 3: Begriffe zur quantitativen Hydrologie 1990, Deutsches Institut für Normung, Beuth-Verlag
- DIN 4049, Teil 2 Hydrologie Begriffe der Gewässerbeschaffenheit, 1990, Deutsches Institut für Normung, Beuth-Verlag
- Dockins, W.S., Olson, G.J., McFeters, G.A., Turbak, S.C. (1980): Dissimilatory bacterial sulphate reduction in Montana groundwaters. *Geomicrobiol. J.* 2, 83-97
- Dott, W. (1984): Differenzierung von Bakterien aus dem Trinkwasserbereich. *KfW-Mitteilungen* 2, 2-3
- DVWK (Deutscher Verband für Wasserwirtschaft und Kulturbau e.V., Hrsg.) (1997): Parameter und Methoden der biologischen Charakterisierung des Untergrundes – Feststoffe und Wasser. DVWK-Schriftenreihe Bd. 120, Wirtschafts- und Verlagsgesellschaft Gas und Wasser mbH, Bonn
- DVWK (Deutscher Verband für Wasserwirtschaft und Kulturbau e.V., Hrsg.) (1988): Bedeutung biologischer Vorgänge für die Beschaffenheit des Grundwassers. Schriftenreihe des Deutschen Verbandes für Wasserwirtschaft und Kulturbau Bd. 80, Parey Verlag Berlin
- Ekendahl, S., Arlinger, J., Stahl, F., Pederson, K. (1994): Characterization of attached bacterial populations in deep granitic groundwater from the Stripa research mine by 16S rRNA gene sequencing and scanning electron microscopy. *Microbiology* 140, 1575-1583
- Eschweiler, B., Kilb, B., Kuhlmann, B., Preuß, G., Ziemann E. (1997): Microbial diversity in recharged groundwater analysed by molecularbiological techniques. In: DVGW (Hrsg.): Künstliche Grundwasseranreicherung. DVGW-Schriftenreihe Wasser Nr. 90, 89 - 100. Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V., Bonn
- EU Groundwater Directive (2006): Richtlinie 2006/118/EG Des Europäischen Parlaments und des Rates von 12. Dezember 2006 zum Schutz des Grundwassers vor Verschmutzung und Verschlechterung, Amtsblatt der Europäischen Union L372/19
- Federle, T. W., Ventullo, M., White, D.C. (1990): Spatial distribution of microbial biomass, activity, community structure and the biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and linear alcohol ethoxylate (LEA) in the subsurface. *Microb. Ecol.* 20, 297-313
- Foght, J.M.D., Westlake, W.S., Johnson, W.M., Ridgeway, H.F. (1996): Environmental dasoline-utilizing isolates and clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* are taxonomically indistinguishable by chemotaxonomic and molecular techniques. *Microbiology* 142, 2333-2340
- Francis, A.J., Slater, J.M., Dodge, C.J. (1989): Denitrification in deep subsurface sediments. *Geomicrobiol. J.* 7, 103-116
- Franklin, R.B., Taylor, R.B., Mills, A.L. (2000): The distribution of microbial communities in anaerobic and aerobic zones of shallow coastal plain aquifer. *Microbial Ecology*, 38 (4), 377-386
- Fry, N.K., Fredrickson, J.K., Fishbain, S., Wagner, M., Stahl, D.A. (1997): Population structure of microbial communities associated with deep, anaerobic, alkaline aquifers. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 1498-1504
- Ghiorse, W.C., Wilson, J.T. (1988): Microbial ecology of the terrestrial subsurface. *Adv. Appl. Microbiol.* 33, 107-172
- Gliesche, Ch.G. (1999): Die Mikrobiologie des Grundwasserraumes und der Einfluß anthropogener Veränderungen auf die mikrobiellen Lebensgemeinschaften. UBA-



Texte 15/99, Forschungsbericht 108 02 898 UBA-FB 98-118, Umweltbundesamt Berlin

- Gliesche, Ch.G. (2004): Mikrobiologische Methoden zur Beschreibung und Bewertung des Grundwasserzustands. UBA-Texte 29/04, Forschungsbericht 299 23 276 UBA-FB 000568, Umweltbundesamt Berlin
- Golwer, A., Knoll, K.H., Matthess, G., Schneider, W., Walhäuser, K.H. (1972): Mikroorganismen im Unterstrom eines Abfallplatzes. *Gesundheits-Ingenieur* 93, 142-152
- Gottfreund, E., Gerber, L., Schweisfurth, R. (1985a): Verteilung verschiedener physiologischer Gruppen von Bakterien in einem oxidierten und einem reduzierten Grundwasserleiter. *Landwirtsch. Forsch.* 38, 72-79
- Gottfreund, E., Gottfreund, J., Gerber, I., Schmitt, G., Schweisfurth, R. (1985b): Occurrence and activities of bacteria in the unsaturated and saturated underground in relation to the removal of iron and manganese. *Water Supply* 3, 109-115
- Gottfreund, E., Schweisfurth, R. (1992): Formation and transformation of manganese oxidation states by bacteria. In: Matthess, G., Frimmel, F., Hirsch, P., Schulz, H.C., Usedowski, H.-E. (eds.): *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer, New York, 347-357
- Gounot, A.M. (1994): Microbial ecology of groundwaters. In: Gibert, J., Danielopol, D.L., Stanford, J.A. (eds.): *Groundwater Ecology*. Academic press, San Diego, Cal., 189-215
- Griebler, C., Mösslacher, F. (2003): *Grundwasser-Ökologie*. UTB, Facultas, Wien
- GschV (1998): Gewässerschutzverordnung von 28.Oktober 1998 (SR 814.201); *Water Protection Ordinance, WPO SR 814.201, Swiss Federal Law, Bern*
- Hahn, H.J. (2003): Eignen sich Fallen zur repräsentativen Erfassung aquatischer Meiofauna im hyporheischen Interstetial und im Grundwasser? *Limnologica* 33, 138-146
- Harvey, R.W., George, L. (1987): Growth determinations for unattached bacteria in a contaminated aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2992-2996
- Harvey, R.W., Smith, R.L., Goerge, L. (1984): Effect of organic contamination upon microbial distributions and heterotrophic uptake in a Vape Cod, Mass., aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 1197-1202
- Harvey, R.W., Smith, R.L., Goerge, L. (1984): Effect of organic contamination upon microbial distributions and heterotrophic uptake in a Vape Cod, Mass., aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 1197-1202
- Hirsch P., Rades-Rohkohl, E. (1988a): Die Vielfalt mikrobieller Morphotypen im Grundwasserbereich des Segeberger Forstes. *Z. Dt. Geol. Ges.* 139, 343-353
- Hirsch, P., Rades-Rohkohl, E. (1983): Microbial diversity in a groundwater aquifer in Northern Germany. *Dev. Ind. Microbiol.* 24, 183 - 199
- Hirsch, P., Rades-Rohkohl, E. (1988): Some special problems in the determination of viable counts of groundwater microorganisms. *Microb. Ecol.* 16, 99-113
- Hirsch, P., Rades-Rohkohl, E. (1992): The natural microflora of the Segeberger Forst aquifer system. In: Matthess, G., Frimmel, F., Hirsch, P., Schulz, H.C. and Usedowski, H.-E. (eds.): *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer, New York, 390-412
- Hirsch, P., Rades-Rohkohl, E., Kölbl-Boelke, J., Nehr Korn, A. (1992a): Morphological and taxonomic diversity of ground water microorganisms. In: Matthess, G., Frimmel, F., Hirsch, P., Schulz, H.C., Usedowski, H.-E. (eds.): *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer, New York, 311-325
- Hirsch, P., Rades-Rohkohl, E., Kölbl-Boelke, J., Nehr Korn, A., Schweisfurth, R., Selenka, F., Hack, A. (1992b): Methods of studying ground water microbiology: critical evaluation and method suggestions. In: Matthess, G., Frimmel, F., Hirsch, P., Schulz, H.C., Usedowski, H.-E. (eds.): *Progress in Hydrogeochemistry*. Springer, New York, 325-333



- Hölting, B. (1996): Hydrogeologie: Einführung in die Allgemeine und Angewandte Hydrogeologie. 5. Auflage, Enkel
- Hoos, E., Schweisfurth, R. (1982): Untersuchungen über die Verteilung von Bakterien von 10 bis 90 Meter unter Bodenoberkante. *Vom Wasser* 58, 103-112
- Hunkeler, D., Goldscheider, N., Rossi, P., Burn, C.. (2006): Biozönosen im Grundwasser. Grundlagen und Methoden der Charakterisierung von mikrobiellen Gemeinschaften. Umwelt-Wissen Nr. 0603, Bundesamt für Umwelt(Hrsg), Bern
- Hutchins, S.R., Downs, W.C., Smith, G.B., Wilson, J.T., Hendrix, D.J., Fine, D.D., Kovacs, D.A., Douglass, R.H., Blaha, F.A. (1991): Nitrate for bioremediation of an aquifer contaminated with jet fuel. United States Environmental Protection Agency (EPA, Order No. PB 91 – 164 285 / AS)
- Jewett, D.G., Hilbert, T.A., Logan, B.E., Arnold, R.G., Bales, R.C. (1995): Bacterial transport in laboratory columns and filters: Influence of ionic strength and pH on collision efficiency. *Wat. Res.* 29, 1673-1680
- Jordan, H. Weder, H.J (Hrsg.) (1995): Hydrogeologie - Grundlagen und Methoden, 2.Aufl.; Enke, Stuttgart
- Kämpfer, P., Steif, M., Becker, P.M., Dott, W. (1993): Characterization of chemoheterotrophic bacteria associated with the in situ bioremediation of a waste-oil contaminated site. *Microb. Ecol.*, 26, 161-188
- Keswick, B.H., Gerba, C.P., Seccor, S.L., Lech, H.J. (1982a): Survival of enteric viruses and indicator bacteria in groundwater. *J. Environ. Sci. Health Part A Environ. Sci. Eng.* 17, 903-912
- Keswick, B.H., Wang, D.D., Gerba, C.P. (1982b): The use of microorganisms as groundwater tracers: A review. *Groundwater* 20, 142-149
- Kilb, B. (1999): Analyse mikrobieller Lebensgemeinschaften in anaeroben Grundwassersystemen mittels molekulargenetischer Methoden, Veröffentlichungen des Instituts für Wasserforschung GmbH und der Dortmunder Energie- und Wasserversorgung GmbH Nr. 59, Dortmund
- Kilb, B., Kuhlmann, B., Eschweiler, B., Preuß, G., Ziemann, E., Schöttler, U. (1998): Darstellung der mikrobiellen Besiedlungsstruktur verschiedener Grundwasserhabitats durch Anwendung molekularbiologischer Methoden. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 26, 349–354
- Kölbl-Boelke, J., Anders, E.M., Nehr Korn, A. (1988): Microbial communities in the saturated groundwater environment: II. Diversity of bacterial communities and in-vitro activities in a pleistocene sandy filter. *Microb. Ecol.* 16, 31-48
- Kölbl-Boelke, J., Hirsch, P. (1988): Comparative physiology of biofilm and suspended organisms in the groundwater environment. In: Charaklis, W.G., Wilderer, P.A. (eds): Structure and function of biofilms. Dahlem Konferenzen. John Wiley, Chichester, pp 221-238
- Kölbl-Boelke, J., Nehr Korn, A. (1992): 5.3.2 Heterotrophic bacterial communities in the Bocholt aquifer system. In: Matthess, G., Frimmel, F., Hirsch, P., Schulz, H.C., Usadowski, H.-E. (eds.): Progress in Hydrogeochemistry. Springer, New York, 378-390
- Konopka, A., Turco, R. (1991): Biodegradation of organic-compounds in vadose zone and aquifer sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 57 (8), 2260-2268
- Kuhlmann, B., Eschweiler, B., Kilb, B., Preuß, G., Ziemann, E., Schöttler U. (1997): Bestimmung der mikrobiellen Diversität in Grundwässern mittels PCR. *Vom Wasser* 89, 205-214
- Kuhlmann, B., Kilb, B., Preuß, G. (2000): Abschätzung der Eignung einer molekularbiologischen Methode zur Charakterisierung der Grundwasserbiozönose. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 28, 250-255



- Kunkel, R., Voigt, H.-J., Wendland, F., Hannappel, S. (2004): Die natürliche, ubiquitär überprägte Grundwasserbeschaffenheit in Deutschland. Schriften des Forschungszentrum Jülich (Hrsg.), Reihe Umwelt / Environment Bd. / Vol. 47, Jülich
- LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (1997): Zielvorgaben zum Schutz oberirdischer Binnengewässer Band I. Kulturbuchverlag Berlin GmbH, Berlin
- LAWA (Länderarbeitsgemeinschaft Wasser) (2003): Arbeitshilfe zur Umsetzung der EG-Wasserrahmenrichtlinie, Stand 30.4.2003. download unter www.wasserblick.net/
- Lee, D.-H., Zo, Y.-G., Kim, S.-J. (1996): Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single-strand-conformation polymorphism. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 3112-3120
- Lipthray, J.R., Tuxen, N., Johnsen, K., Hansen, L.H., Albrechtsen, H.J., Bjerg, P.L., Aamand, J. (2003): In situ exposure to low herbicide concentrations affects microbial population composition and catabolic gene frequency in an aerobic shallow aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 461-467
- Lode, A. (1986): Changes of bacterial community after application of oily sludge to soil. *Appl. Environ. Technol.* 25, 295-299
- Long, S.C., Aelion, C.M., Dobbins, D.C., Pfaender, F.K. (1995): A comparison microbial community characteristics among petroleum-contaminated and uncontaminated subsurface soil samples. *Microbiol. Ecol.* 30, 297-307
- Madsen, E.L. (1995): Impacts of agricultural practices on subsurface microbial ecology. *Advances in Agronomy* 54, 1-67
- Madsen, E.L., Ghiorse, W.C. (1993): Groundwater microbiology: Subsurface ecosystem processes. In: Ford, T. (ed.): *Aquatic microbiology*. Blackwell Scientific Publ., Boston, MA
- Mageira, P. (2000): Methoden zur Abschätzung der Verschmutzungsempfindlichkeit des Grundwassers. *Grundwasser- Zeitschrift der Fachsektion Hydrogeologie* 3/2000, S 103-114
- Malard, F. (2001): Groundwater contamination and ecological monitoring in a Mediterranean karst ecosystem in Southern France. In Griebler, C., Danielopol, D.L., Gibert, J., Nachtneben, H.P., Notenboom, J. (Hrsg.): *Groundwater Ecology*. European Commission, Directorate – General for Research, Brüssel, 183-196
- Martin, Y. P., Bianchi, M.A. (1980): Structure, diversity, and catabolic potentialities of aerobic heterotrophic bacterial populations associated with continuous cultures of marine phytoplankton. *Microb. Ecol.* 5, 265 – 279
- Marxsen, J. (1988): Investigations into the number of respiring bacteria in groundwater from sandy and gravelly deposits. *Microb. Ecol.* 16, 65-72
- Matthess, G. (1973): *Lehrbuch der Hydrologie. 2. Beschaffenheit des Grundwassers*. Verl. Gebr. Borntraeger, Berlin/Stuttgart
- Matthess, G. (1990): *Lehrbuch der Hydrogeologie Bd. 2: Die Beschaffenheit des Grundwassers, 2. Aufl.* Berlin: Gebrüder Borntraeger
- Matthess, G., Bedbur, E., Gundermann, K.-O., Loof, M., Peters, D. (1991a): Vergleichende Untersuchungen zum Filtrationsverhalten von Bakterien und organischen Partikeln in Porengrundwasserleitern. Teil I: Grundlagen und Methoden. *Zbl. Hyg.* 191, 53-97
- Matthess, G., Bedbur, E., Gundermann, K.-O., Loof, M., Peters, D. (1991b): Vergleichende Untersuchungen zum Filtrationsverhalten von Bakterien und organischen Partikeln in Porengrundwasserleitern. Teil II: Hydraulische, hydrochemische und sedimentologische Systemeigenschaften, die den Filterfaktor steuern. *Zbl. Hyg.* 191, 347-395
- Matthess, G., Isenbeck, M. (1987): Pesticide behaviour in quaternary sediments. *Boreas* 16, 411-418



- McCarthy, J.F., Zachara, J.M. (1989): Subsurface transport of contaminants. *Environ. Sci. Technol.* 23, 496-502
- Moran, B.N., Hickey, W.J. (1997): Trichlorethylen biodegradation by mesophilic and psychophilic ammonia oxidizers and methanotrophs in groundwater microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 3866-3871
- Mösslacher, F., Giebler, C., Notenboom, J. (2001): Biomonitoring of groundwater systems: Methods, applications and possible indicators among the groundwater biota. In Griebler, V.C., Danielopol, D.L., Gibert, J., Nachtneben, H.P., Notenboom, J. (Hrsg.): *Groundwater Ecology*. European Commission, Directorate – General for Research, Brüssel, 173-182
- Moyer, C.L., Dobbs, F.C., Karl, D.M. (1994): Estimation of diversity and community structure through restriction fragment length polymorphism distribution analysis of bacterial 16S rRNA genes from a microbial mat of an active hydrothermal vent system, Loihi Seamount, Hawaii. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 871-879
- Mroz, R.C., Pillai, S.D. (1994): Bacterial populations in groundwater on the US-Mexico border in El Paso County, Texas. *Southern Med. J.* 87, 1214-1217
- Mulisch, H.-M., Winter, W., Dieter, H.H. (2003): Modulares System zur Gesamtbewertung von Umweltkontaminationen in Boden, Gewässern und Trinkwasser. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 8, 668-675
- Murray, A.E., Hollibaugh, J.T., Orrego, C. (1996): Phylogenetic composition of bacterioplankton from two California estuaries compared by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2676-2680
- Muyzer, G., de Waal, E.C., Uitterlinden, A.G. (1993): Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 695-700
- Paul, J.H., Rose, J.B., Jiang, S., Kellog, C., Shinn, E.A. (1995): Occurrence of fecal indicator bacteria in surface waters and the subsurface aquifer in Key Lago, Florida. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 2235-2241
- Pedersen, K., Arlinger, J., Ekendahl, S., Hallbeck, L. (1996): 16S rRNA gene diversity of attached and unattached bacteria on boreholes along the access tunnel to the Äspö hard rock laboratory, Sweden. *FEMS Microbiol. Ecol.* 19, 249-262
- Preuß, G. (1991): Mikrobielle Sukzessionen bei der Infiltration von Oberflächenwasser in den Untergrund. Dissertation des Fachbereichs 2 der Universität Bremen
- Preuß, G. (2004) Unvollständige Bewertungsrahmen für Grundwassersysteme. *KA Abwasser, Abfall* 51:826-827
- Preuß, G., Nehr Korn, A. (1995): Mikrobielle Sukzessionen bei der Infiltration von Oberflächenwasser. In: Schöttler, U., Schulte-Ebbert, U. (Hrsg.): *Schadstoffe im Grundwasser*, Bd. 3: Verhalten von Schadstoffen bei der Infiltration von Oberflächenwasser am Beispiel des Untersuchungsgebiets Insel Hengsen im Ruhrtal bei Schwerte, 87 - 122, DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), Bonn
- Preuß, G., Schminke H. K. (2004): Grundwasser lebt! *Chemie in unserer Zeit* 38, 340-347
- Reeves, R.H., Reeves, J.Y., Balkwill, D.L. (1995): Strategies for phylogenetic characterization of subsurface bacteria. *J. Microbiol. Methods* 21, 235-251
- Ridgeway, H.F., Safarik, J., Phillips, D., Carl, P., Clark, D. (1990): Identification and catabolic activity of well-derived gasoline-degrading bacteria from contaminated aquifer. *Appl. Environ. Microb.* 56, 3565-3575
- Riss, A., Schweisfurth, R. (1987): Heizölabbau über Denitrifikation – Der Einfluß der Nitratkonzentration. *Vom Wasser* 68, 111-123
- Rohmann, U., Sontheimer, H. (1985): Nitrat im Grundwasser – Ursachen, Bedeutung, Lösungswege. DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut der Universität Karlsruhe



- Sinclair, J.L., Ghiorse, W.C. (1989): Distribution of aerobic bacteria, protozoa, algae and funghi in deep subsurface sediments. *Geomicrobiol.* 7, 15-32
- Sinclair, J.L., Randtke, S.J., Denne, J.E., Hathaway, L.R., Ghiorse, W.C. (1990): Survey of microbial-populations in buried-valley aquifer sediments from Northeastern Kansas. *Ground Water*, 28 (3), 369-377
- Sittig, M., Hirsch, P. (1996): Schlußbericht über Untersuchungen zur Charakterisierung der Grundwassermikroflora ausgewählter Brunnen oder Quellen des Basismessnetzes in Baden-Württemberg. Institut für Allgemeine Mikrobiologie, Christian-Albrechts-Universität, Kiel.
- Smets, B.F., Siciliane, S.D., Vesterstraete, W. (2002): Natural attenuation: Extant microbial activity forever and ever? *Environ. Microbiol.* 4(6), 315-317
- Smith, R. L. (1997): Determining the terminal electron-accepting reaction in the saturated subsurface. In: Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stezenbach, L.D., Walter, M.V. (eds): *Manual of environmental microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp 577-585
- Sørensen, H. (1978): Capacity for denitrification and reduction of nitrate to ammonia in a coastal marine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 35, 301-305
- Stetzenbach, L.D., Kelley, L.M., Sainclair, N.A. (1986): Isolation, identification and growth of well water bacteria. *Ground Water* 24, 6-10
- Stim, K.P. (1994): A phylogenetic analysis of microorganisms isolated from subsurface environments. *Molecular ecology* 3, 1-10
- Tan, Y., Gannon, J.T., Baveye, P., Alexander, M. (1994): Transport of bacteria in an aquifer sand: Experiments and model simulations. *Wat. Resour. Res.* 26, 2153-2159
- Tindall, J.A., Lull, K.J., Gaggiani, N.G. (1994): Effects of land disposal of municipal sewage sludge on fate of nitrates in soil, streambed sediments, and water quality. *J. Hydro.* 163, 147-185
- Ultee, A., Souvatzi, N., Maniadi, K., König, H. (2004): Identification of the culturable and nonculturable bacterial population in ground water of a municipal water supply in Germany. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 560-569
- VDG (Vereinigung Deutscher Gewässerschutz e.V., Hrsg.) (2005): *Lebensraum Grundwasser*. Schriftenreihe der Vereinigung Deutscher Gewässerschutz Bd. 68, ISBN 3-937579-26-5, 2005
- Wan, J., Tokunaga, T.K., Tsang, C.F., Bodvarsson, G.S. (1995): Improved glass micro-model methods for studies of flow and transport in fractured porous media.
- Wild, A.P., Winkelbauer, W., Leisinger, T. (1995): Anaerobic dechlorination of trichloroethene, tetrachloroethene and 1,2-dichloroethane by an acetogenic mixed culture in a fixed-bed reactor. *Biodegradation* 6, 309-318
- Wolters, N., Schwarz, W. (1956): Untersuchungen über das Vorkommen und Verhalten von Mikroorganismen in reinen Grundwässern. *Arch. Hydrobiol.* 51, 500-541
- Zehnder, A.J.B. (1988): *Biology of anaerobic microorganisms*. Wiley, New York
- Zhang, C.L., Palumbo, A.V., Phelps, T.J., Beauchamp, J.J., Brockman, F.J., Murray, C.J., Parsons, B.S., Swift, D.J.P. (1998): Grain size and depth constraints on microbial variability in coastal plain subsurface sediments. *Geomicrobiology Journal*, 15 (3): 171-185
- Zhou, J., Xia, B., Huang, H., Palumbo, A.V., Tiedje, J.M. (2004): Microbial diversity and heterogeneity in sandy subsurface soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (3), 1723-1734
- Zhou, J., Xia, B., Treves, B.C., Wu, L.Y., Marsh, T.L., O'Neill, R.V., Palumbo, A.V., Tiedje, J.M. (2002): Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (1), 326-334



Institut für Wasserforschung GmbH
Zum Kellerbach 46
D-58239 Schwerte

Telefon: (+49/0) 2304-9575-300

Fax: (+49/0) 2304-9575-220

E-Mail: ifw@ifw-dortmund.de

Internet: www.ifw-dortmund.de