

2802

23. Sep. 1991

Berichte
aus dem Institut für Meereskunde an der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Nr. 208

**DENITRIFIKATION IN DER WASSERSÄULE DER ZENTRALEN OSTSEE:
REGULATIONSFAKTOREN UND MIKROBIOLOGISCHE ASPEKTE**

**DENITRIFICATION IN THE WATER COLUMN OF THE CENTRAL
BALTIC: REGULATORY FACTORS AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS**

DOI 10.3289/IFM-BER-208

von
INGRID BRETTAR



Kopien dieser Arbeit können bezogen werden von:

Abt. Marine Mikrobiologie
Institut für Meereskunde
Düsternbrooker Weg 20
D - 2300 Kiel 1, GERMANY

ISSN 0341 - 8561

Dissertation
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität Kiel, 1991

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	3
2.1. Untersuchungsgebiet und Probenahme	3
2.1.1. Beschreibung des untersuchten Ökosystems zentrale Ostsee	3
2.1.2. Untersuchungsstationen im Sommer 1986 und 1987	5
2.1.3. Probenahme	7
2.2. Messung der Denitrifikationsraten mit der Azetylenblockmethode	7
2.2.1. Wirkungsweise und Möglichkeiten der Methode	7
2.2.2. Anpassung der Methode	8
2.2.3. Durchführung der Methode	8
2.2.4. Präzision der Methode	9
2.2.5. Gaschromatographie	9
a) N ₂ O-Messung in Wasserproben	10
b) Messung von O ₂ , CO ₂ und N ₂ O in Bakterienkulturen	10
2.3. Bestimmung der Stickstoffkomponenten und deren Umsetzungen	11
2.3.1. Nitrit (NO ₂ ⁻)	11
2.3.2. Nitrat (NO ₃ ⁻)	11
2.3.3. Ammonium (NH ₄ ⁺)	11
2.3.4. Distickstoffoxid (N ₂ O)	11
2.3.5. Partikulärer organischer Stickstoff (PON)	11
2.3.6. Bestimmung der in situ Konzentrationen der N-Komponenten	12
2.3.7. Bestimmung der Stickstoffumsetzungen während der Inkubation	12
2.3.8. Nettonitrifikationsrate	12
2.3.9. N ₂ O-Produktionsraten	12
2.4. Bestimmung der Kohlenstoffkomponenten	12
2.4.1. Partikulärer organischer Kohlenstoff (POC)	12
2.5. Bestimmung der bakteriellen Parameter	13
2.5.1. Gesamtbakterienzahl	13
2.5.2. Bakterielle Biomasse	13
2.5.3. Saprophytenzahl (Agarmedium: Zobell-Brackwasseragar (ZB))	13
2.5.4. Bestimmung der Anzahl der Denitrifikanten (Flüssigmedium: NB+NO ₃ ⁻)	13
2.5.5. Bestimmung der Anzahl der Nitratreduzierer (Agarmedium: NA+NO ₃ ⁻)	14
2.5.6. Bestimmung der Anzahl der denitrifizierenden Thiosulfatoxidierer (Flüssigmedium: BB)	15
2.5.7. Bestimmung der Anzahl der aeroben Thiosulfatoxidierer	15

2.6. Bestimmung von allgemeinen Hintergrundparametern in den Wasserproben und den Versuchsansätzen	16
2.6.1. Temperatur und Salzgehalt	16
2.6.2. Sauerstoff (O ₂)	17
2.6.3. Schwefelwasserstoff (H ₂ S)	17
2.6.4. Thiosulfat (S ₂ O ₃ ²⁻)	17
2.7. Versuche zu regulierenden Faktoren der Denitrifikation	18
2.7.1. Untersuchungen zur Limitierung auf der Elektronenakzeptorseite	19
2.7.2. Untersuchungen zur Limitierung auf der Elektronendonatorseite in der sauerstoffarmen Wasserschicht von Station T	19
2.7.3. Untersuchungen zur Verwertbarkeit verschiedener Elektronendonatoren an der oxisch-anoxischen Grenzschicht des Gotlandtiefs	19
2.7.4. Bestimmung der Verwertbarkeit des POC	20
2.8. Materialien für Denitrifikationsmessungen	21
2.8.1. Vermeiden von Gasaustausch mit der Umgebung	21
2.8.2. Vermeiden von Kontamination der Wasserprobe mit organischem und anorganischen Material	21
2.8.3. Verwendete Gase	23
2.9. Untersuchungen zur Azetylenblockmethode	22
2.9.1. Auswirkung der Azetylenzugabe bei der Azetylenblockmethode auf mikrobielle N-Umsetzungen und Bakterienwachstum	22
2.9.1.1. Azetyleneinfluß bei der Bestimmung von in situ-Denitrifikationsraten und Denitrifikationspotentialen unter Zusatz von Nitrat	22
2.9.1.2. Verlauf der Nettonitrifikation	24
2.9.1.3. Azetyleneinfluß bei anoxischen Wasserproben aus dem Gotlandtief unter Zusatz von Nitrat und verschiedenen Elektronendonatoren	28
2.9.2. Beurteilung der Azetylenblockmethode	30
3. ERGEBNISSE	
3.1. Denitrifikation und Stickstoffumsetzungen in der Wassersäule des Gotlandtiefs im Sommer 1986 und 1987	36
3.1.1. Beschreibung der abiotischen Faktoren	36
3.1.2. Lokalisation und Rate der Denitrifikation	41
3.1.3. Mineralisation in der Wassersäule	41
3.1.3.1. Mineralisation des organischen Stickstoffs	41
3.1.3.2. Mineralisation von organischem Material	42
3.1.3.3. Nitrifikation	45
3.1.3.4. N ₂ O-Produktion	46
3.1.4. Regulierende Faktoren der Denitrifikation im Gotlandtief	47
3.1.4.1. Untersuchung der Limitierung durch den Elektronenakzeptor	47
3.1.4.2. Untersuchungen zur Verwertbarkeit verschiedener Elektronendonatoren	49

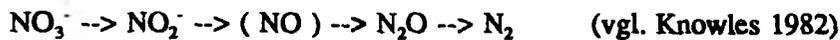
3.1.4.2.1. Reaktion von grenzschnichtnahen Proben auf den Zusatz verschiedener Elektronendonatoren und Nitrat	50
3.1.4.2.2. Reaktion von Tiefenwasserproben auf den Zusatz verschiedener Elektronendonatoren und Nitrat	53
3.1.4.2.3. Vergleich der Reaktion der Probe aus der grenzschnichtnahen Wasserschicht mit der der Probe aus dem H ₂ S-reichen Tiefenwasser	56
3.1.4.3. Verwertung von POC im Bereich der Denitrifikationsschicht	57
3.2. N ₂ O-Produktion durch die Denitrifikation nach Zusatz verschiedener Elektronendonatoren	63
3.3. Bakteriologische Parameter im Gotlandtief 1986 und 1987	66
3.3.1. Gesamtbakterienzahl	66
3.3.2. Saprophytenzahlen auf Zobell-Brackwasser-Agar (ZB)	68
3.3.3. Nitratreduzierende und denitrifizierende Bakterien	69
3.3.4. Nachweis heterotropher Bakterien durch CO ₂ -Produktion und O ₂ -Verbrauch in Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmedium	75
3.3.5. Thiosulfat-oxidierende Bakterien	77
3.3.6. Vergleich der Abundanz der mit den verschiedenen Methoden erfaßten Bakterienzahlen	79
3.3.7. Taxonomie denitrifizierender Isolate	81
3.4. Denitrifikation, Stickstoffumsetzungen und bakteriologische Parameter in der Wassersäule von Station T im Sommer 1986	81
3.4.1. Beschreibung der abiotischen Faktoren	81
3.4.2. Lokalisation und Rate der Denitrifikation	83
3.4.3. Sonstige Stickstoffumsetzungen in der Wassersäule	83
3.4.3.1. Stickstoffmineralisation in der Wassersäule	83
3.4.3.2. Nitrifikation	85
3.4.3.3. N ₂ O-Produktion und Zehrung	87
3.4.4. Regulierende Faktoren der Denitrifikation an Station T	87
3.4.4.1. Untersuchung der Limitierung durch den Elektronenakzeptor	87
3.4.4.2. Untersuchung der Limitierung durch den Elektronendonator	88
3.4.4.3. Verwertbarer partikulärer organischer Kohlenstoff	91
3.4.5. Bakteriologische Parameter	92
3.4.5.1. Gesamtbakterienzahl	92
3.4.5.2. Saprophytenzahlen auf Zobell-Brackwasser-Agar (ZB)	92
3.4.5.3. Nitratreduzierende und denitrifizierende Bakterien	92
3.4.6. Vergleich der mit verschiedenen Methoden ermittelten Bakterienzahlen	94
3.5. Vergleich von Gotlandtief und Station T	95
3.5.1. Vergleich der abiotischen Faktoren	95
3.5.2. Lokalisation und Rate der Denitrifikation	95
3.5.3. Stickstoffmineralisation	95
3.5.4. Nitrifikation	95
3.5.5. N ₂ O-Produktion und Zehrung	97
3.5.6. Vergleich der regulierenden Faktoren der Denitrifikation	99
3.5.7. Vergleich der bakteriologischen Parameter	101

3.5.7.1. Gesamtbakterienzahl	101
3.5.7.2. Aerobe Saprophyten auf Zobell-Brackwassermedium (ZB)	101
3.5.7.3. Anaerobe Saprophyten auf Zobell-Brackwassermedium	104
3.5.7.4. Vergleich der N ₂ O-bildenden Bakterien	104
3.5.8. Vergleich von abiotischen und bakteriologischen Parametern in der Denitrifikationsschicht	105
3.5.8.1. Vergleich der abiotischen Parameter	105
3.5.8.2. Vergleich der bakteriologischen Parameter	105
4. DISKUSSION	
4.1. Denitrifikation und ihre regulierenden Faktoren in der Wassersäule der zentralen Ostsee	109
4.1.1. Organischer Kohlenstoff als Elektronendonator und Regulationsfaktor der Denitrifikation in der suboxischen Wassersäule von Station T	110
4.1.1.1. O ₂ -Respiration und N ₂ O-Reduktion statt Denitrifikation von Nitrit und Nitrat als energetisch günstigere Version der Nutzung begrenzter Mengen an organischem Material?	111
4.1.2. Regulationsfaktoren der Denitrifikation im Gotlandtief	114
4.1.2.1. Mangel an organischem Kohlenstoff als Ursache für die Beschränkung der Denitrifikation auf die oxisch-anoxische Grenzschicht	114
4.1.2.2. Oxidierbare Schwefelverbindungen als wesentliche Elektronendonatoren für die Grenzschichtdenitrifikation: Implikationen für die Bakterienbiozönose	114
4.1.2.3. Mögliche Rolle von obligat autotrophen Mikroorganismen bei der Denitrifikation und Oxidation der reduzierten Schwefelverbindungen in der oxisch-anoxischen Grenzschicht	116
4.1.2.4. Grenzschichtinterne autotrophe Produktion als Hauptkohlenstoffquelle für die heterotrophen Umsetzungen in der oxisch-anoxischen Grenzschicht	118
4.2. Nitrifikation und ihre möglichen Beiträge zur Denitrifikation in der zentralen Ostsee	118
4.2.1. Nitrifikation als Nitratlieferant der Denitrifikation	118
4.2.2. Nitrifikation als N ₂ O-Produzent in der Wassersäule	120
4.3. N ₂ O-produzierende und zehrende Prozesse in der Wassersäule der zentralen Ostsee	121
4.3.1. Quantität des verwertbaren organischen Kohlenstoffs als Einflußgröße für die N ₂ O-Produktion durch die Denitrifikation	122
4.3.2. Qualität des Elektronendonators als Einflußgröße für die N ₂ O-Produktion durch Denitrifikation	122
4.3.3. Rolle der Denitrifikation bei der N ₂ O-Produktion und Zehrung	124
4.4. Vorstellungen über die Interaktion von Partikelfluß, Mineralisation, Nitrifikation und Denitrifikation in der Wassersäule der zentralen Ostsee	124
4.5. Umsatzleistung der Denitrifikation in Wassersäule und Sediment der zentralen Ostsee: ein Vergleich der verschiedenen Denitrifikationsmechanismen, sowie der Messungen verschiedener Autoren	127

4.5.1. Unterschiedliche Kohlenstoffversorgung im Frühjahr und Sommer als mögliche Ursache der stark verschiedenen Denitrifikationsraten	131
4.6. Ökologische Relevanz des Mechanismus der "H ₂ S-Denitrifikation"	
4.6.1. Bedeutung für die zentrale Ostsee	133
4.6.2. Mögliche Relevanz in anderen Ökosystemen	134
5. ZUSAMMENFASSUNG	135
6. LITERATURVERZEICHNIS	137

I. EINLEITUNG

Unter Denitrifikation wird die bakterielle Reduktion von Stickstoffoxiden zu N_2 verstanden:



Bei diesem Prozeß können alle Zwischenprodukte freigesetzt werden, bzw. jede der Verbindungen zu den folgenden reduziert werden. Die Bedeutung der Denitrifikation beruht darauf, daß die dabei produzierten gasförmigen Stickstoffverbindungen NO , N_2O und N_2 nicht mehr als Nährstoffe für die Primärproduktion zur Verfügung stehen. Das Ökosystem erfährt somit einen Verlust an verfügbarem Stickstoff.

Stickstoff ist in marinen Biotopen im allgemeinen der limitierende Faktor der Primärproduktion. Dies gilt auch für das vorliegende Untersuchungsgebiet, die zentrale Ostsee (Wulff und Rahm 1988, Graneli et al. 1990). Insbesondere für die Frühjahrsblüte konnte eine direkte Abhängigkeit von der Menge an anorganischem Stickstoff zu Beginn der Blüte gezeigt werden (Elmgren 1989). Da die Frühjahrsblüte auch die höchste Sedimentationsrate in der gesamten produktiven Zeit aufweist, hat die Stickstofffracht nicht nur einen direkten Einfluß auf die Höhe der Primärproduktion, sondern bedingt auch die Höhe der Fracht an organischem Material, das die aphotische Wassersäule und das Sediment erreicht. Damit ist ein direkter Zusammenhang zwischen der Stickstoffbelastung des Oberflächenwassers und der Sauerstoffzehrung in der Wassersäule und am Sediment gegeben. Dieser Zusammenhang zwischen neuer Produktion und Sedimentationsrate wurde von Wassmann (1986) aufgezeigt.

Die Denitrifikation ist damit ein wichtiger Antagonist zum Eutrophierungsprozeß in der zentralen Ostsee. Seit Beginn dieses Jahrhunderts hat sich die Stickstofffracht in der Ostsee durch anthropogenen Einfluß vervierfacht. Die Auswirkungen sind erhöhte NO_3^- -Konzentrationen im Oberflächenwasser während des Winters, was eine Erhöhung der Primärproduktion bei der Frühjahrsblüte um das 2-3 fache zur Folge hatte (Elmgren 1989).

Der Ablauf der Denitrifikation erfordert gewisse Voraussetzungen. Der primäre Steuerungsfaktor der Denitrifikation ist der Sauerstoff. Erst beim Erreichen sehr niedriger Sauerstoffkonzentrationen kommt es in der Wassersäule zur Denitrifikation. Nach den Untersuchungen von Rönner (1983) setzt die Denitrifikation in der zentralen Ostsee ab $0,2 \text{ ml/l } O_2$ ein. Ähnliche und geringere Sauerstoffkonzentrationen werden von einer Reihe anderer Autoren angegeben: Chan und Campbell (1980) geben als Obergrenze $0,14 \text{ ml/l}$ an, Cohen und Gordon (1978) $0,22 \text{ ml/l}$ und Ozretich (1976) $0,035 \text{ ml/l } O_2$.

Sind die entsprechend niedrigen Sauerstoffkonzentrationen gegeben, so müssen weiterhin Elektronenakzeptoren und Elektronendonatoren den Denitrifikanten zur Verfügung stehen. Als Elektronenakzeptoren können alle Zwischenprodukte der Denitrifikation verwendet werden. Als Elektronendonator in der marinen Wassersäule wird generell der organische Kohlenstoff angenommen (Hattori 1983). Dieser wird im wesentlichen durch den Partikelfluß aus der euphotischen Schicht bereitgestellt (Liu und Kaplan 1984). Die Denitrifikation erfordert also einen stark erniedrigten Sauerstoffpartialdruck, organischen Kohlenstoff und Stickstoffoxide in demselben Reaktionsraum.

Zur N-Eliminierung aus der Wassersäule können nicht nur die Denitrifikation, sondern auch andere Prozesse beitragen, die in der Lage sind, gasförmige Stickstoffoxide zu bilden. Besondere Bedeutung kommt hierbei der Nitrifikation unter sauerstoffarmen Bedingungen zu. Die Nitrifikation wird sowohl für marine, als auch limnische Wassersäulen, als der Hauptproduzent an N_2O angesehen (Hahn und Junge 1977; Lemon und Lemon 1981).

Der bedeutendste Ausgangsparameter, die erniedrigte Sauerstoffkonzentration - wichtig sowohl für die Denitrifikation, als auch für die N_2O -Produktion durch Nitrifikation - liegt in der Wassersäule der zentralen Ostsee in und unterhalb der Halokline vor. Da die winterliche Vertikaldurchmischung nur die Wasserschichten bis in die Halokline erfaßt, die tieferen Wasserschichten dagegen nur sporadischem Horizontalaustausch unterliegen, kommt es im subhaloklinen Tiefenwasser zu Stagnationsperioden, die Sauerstoffzehrung und lokal auch H_2S -Akkumulation nach sich ziehen (Stigebrandt 1987).

Erste Hinweise auf Denitrifikation in der zentralen Ostsee wurden von Sen Gupta (1973) gegeben. Diese konnten durch die ersten und bislang einzigen Messungen von Rönner und Sörensson (1985) bestätigt werden. Denitrifikation wurde dabei im sauerstoffarmen Tiefenwasser im westlichen Teil der zentralen Ostsee nachgewiesen.

Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war es, die Regulationsmechanismen der Denitrifikation in der zentralen Ostsee zu untersuchen. Hierzu wurden zwei Stationen ausgewählt, die die beiden für die zentrale Ostsee typischen Tiefenwasserbedingungen aufweisen: Das Gotlandtief mit anoxischem, H_2S -haltigen Tiefenwasser im Osten der zentralen Ostsee und die Station T mit sauerstoffarmem, H_2S -freien Tiefenwasser im Norden der zentralen Ostsee gelegen. Die Untersuchung der Regulationsmechanismen setzte sich im wesentlichen aus Lokalisation und Quantifizierung der in situ-Denitrifikation und Substratadditionsversuchen zur experimentellen Analyse der limitierenden Faktoren zusammen. Die Nitrifikation, die als Nitratlieferant der Denitrifikation und als Quelle von N_2O von Bedeutung sein kann, wurde bei allen diesen Untersuchungen mitbeobachtet. Zur Abrundung der Untersuchungen in mikrobiologisch-organismischer Hinsicht wurden bakteriologische Standardparameter, wie Gesamtbakterienzahl und Plattenkeimzahl, sowie die Anzahl der Denitrifikanten bestimmt.

Lesehinweis:

Ein Überblick über die Ergebnisse beider Stationen wird in zusammengefaßter Form in Kap. 3.5. gegeben. Die einzelnen Diskussionspunkte sind als selbständige Einheiten verfaßt, damit sie auch einzeln gelesen werden können.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Untersuchungsgebiet und Probenahme

2.1.1. Beschreibung des untersuchten Ökosystems zentrale Ostsee

Die Ostsee wird von zahlreichen Autoren als großes Ästuar beschrieben (Elmgreen 1984, Stigebrandt 1987). Sie besitzt eine Gesamtfläche von 350 000 km². Die zentrale Ostsee, oft als Baltisches Becken (Baltic Proper) bezeichnet, repräsentiert mit einer Fläche von 267 000 km² und einem Volumen von 14 780 km³ den größten Teil der Ostsee. Sie wird weiterhin unterteilt in die Ostgotlandsee, die Westgotlandsee und die Bornholmsee.

Die Ostsee ist über die Beltsee und das Kattegat mit der Nordsee verbunden. Ein Charakteristikum der zentralen Ostsee ist eine ausgeprägte permanente Halokline (Salzsprungschicht) in 60 - 80 m Tiefe. Während die obere Wasserschicht einen Salzgehalt von etwa 7 ‰ aufweist, steigt der Salzgehalt im Bereich der Halokline auf 10 ‰ an. Das Tiefenwasser unterhalb der Halokline ist stark stratifiziert mit einem Salzgehalt von 10 - 13 ‰. Grund für diesen Anstieg der Salinität mit zunehmender Tiefe ist der Wasseraustausch mit der Nordsee. Dieser erfolgt im Bereich der Beltsee über sehr flache Schwellen (Darsser Schwelle: 15 m). Die Ostsee weist eine positive Süßwasserbilanz auf, das heißt, daß mehr Wasser (mittlerer Überschuß: 15 000 m³/s) die Ostsee verläßt, als aus der Nordsee einströmt. Der Einstrom von höher salinem Meerwasser - meist Oberflächenwasser aus Beltsee und Kattegat - ist ein häufiger, aber diskontinuierlicher Prozeß. Menge und Salzgehalt der hierbei einströmenden Wassermassen sind sehr unterschiedlich. Aufgrund der höheren Dichte fließt das einströmende "Meerwasser" als Bodenstrom bis ins Arkonabecken. Dabei vermischt sich das "Meerwasser" mit dem Ostseewasser und verliert an Dichte. Während der Einstrom ins Arkonabecken ein häufiges Ereignis darstellt, ist der Weiterfluß in die nachfolgenden Becken der zentralen Ostsee abhängig von der Menge und dem Salzgehalt des einströmenden Wassers und ein wesentlich selteneres Ereignis.

Stigebrandt (1987) hat den Einstrom des Tiefenwassers in die zentrale Ostsee modelliert. Das Tiefenwasser, das aus dem Arkonabecken in die zentrale Ostsee strömt, verdünnt sich zunehmend mit leichterem Ostseewasser. Dieses Wasser schichtet sich entsprechend seiner Dichte in Tiefen derselben Dichte ein. Nach Stigebrandts Modellberechnungen schichtet sich 80 % des einströmenden "Meerwassers" aufgrund seiner letztlich resultierenden Dichte im Bereich der Halokline oder bis zu 50 m unterhalb der Halokline ein. Der Einstrom von Tiefenwasser unterhalb von 130 m ist ein sehr seltenes Ereignis, so daß hier Stagnationsperioden von mehreren Jahren auftreten (vgl. Abb.1).

Im Bereich der zentralen Ostsee weisen die verschiedenen Schichten der Wassersäule somit eine sehr unterschiedliche Sauerstoffversorgung auf. In der oberen Wasserschicht bis zur Halokline wird die Sauerstoffversorgung durch eine Vertikaldurchmischung vorwiegend im Winter und vor Aufbau einer stabilen Thermokline im Frühjahr gewährleistet. Die Halokline stellt eine Barriere für eine tiefergehende Vertikaldurchmischung dar. Die Sauerstoffdiffusion durch die Halokline stellt nur einen geringen Beitrag zur Sauerstoffversorgung der tieferen Wasserschichten dar (nach Fonselius 1969: 70 g m⁻² a⁻¹). Einen größeren Beitrag leistet nach Stigebrandt und Wulff (1987) der horizontale Einstrom von sauerstoffreichem Wasser aus der Nordsee, der sich bis in eine Tiefe von 130 m auswirkt. Tieferliegende Wasserschichten sind

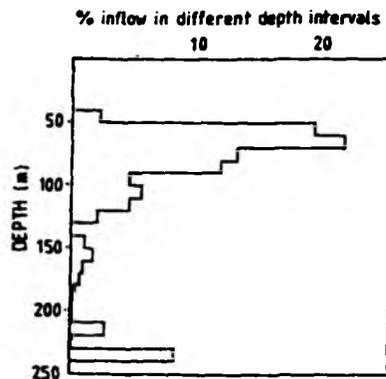


Abb. 1:
Einschichtungshäufigkeit von Wassermassen
in den verschiedenen Tiefen der zentralen
Ostsee (aus: Stigebrandt 1987)

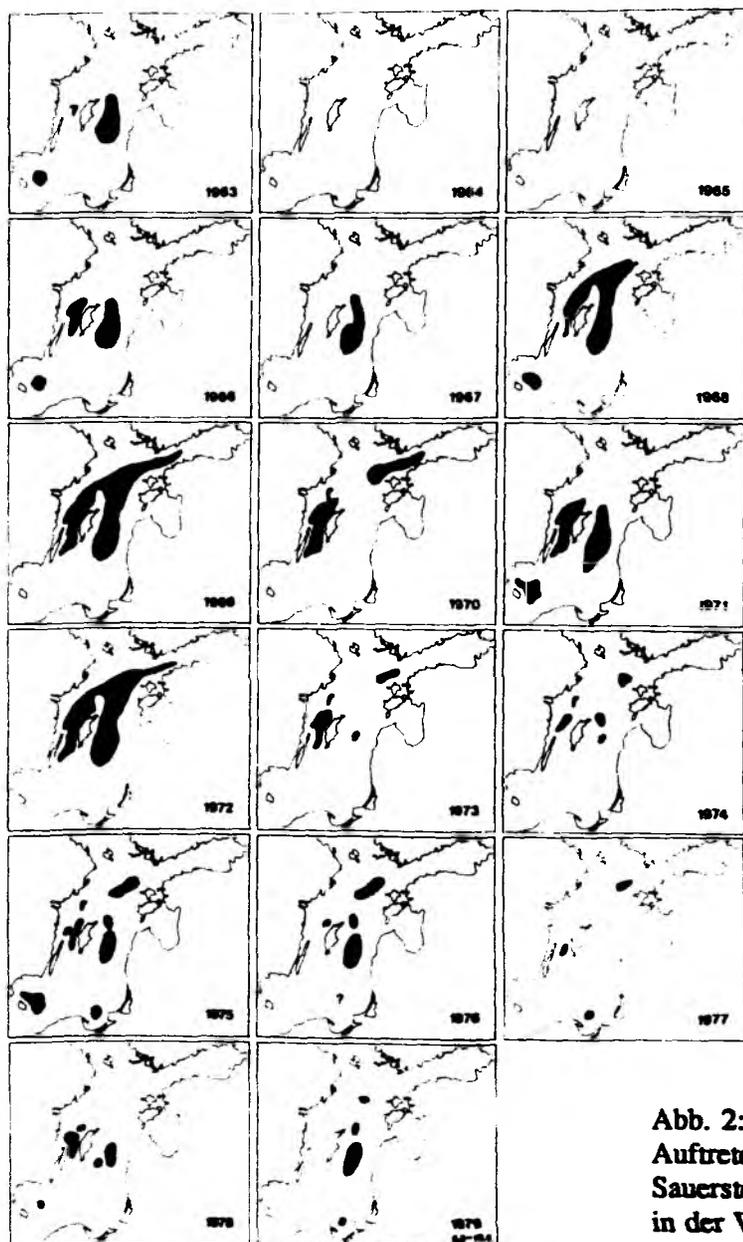


Abb. 2:
Auftreten von H_2S (schwarz markiert) und
Sauerstoffarmut unter 2 ml/l (grau markiert)
in der Wassersäule der zentralen Ostsee
(nach Andersin et al. 1979)

zeitweise mehrjährigen Stagnationsperioden ausgesetzt, so daß es hier zu Sauerstoffzehrung und Anreicherung von Schwefelwasserstoff kommen kann.

Während zu Beginn des Jahrhunderts der Sauerstoffeintrag in das Tiefenwasser noch die Zehrung durch Mineralisationsprozesse kompensieren konnte, sank in den folgenden Jahrzehnten der Sauerstoffgehalt des Tiefenwassers kontinuierlich ab. Seit Ende der fünfziger Jahre kam es zur regelmäßigen Ausbildung von H_2S im Tiefenwasser der Becken der zentralen Ostsee (s. Abb.2).

Stigebrandt und Wulff (1987) haben ein Modell für die Dynamik von Nährstoffen und Sauerstoff in der zentralen Ostsee entwickelt. Dieses Modell sagt für die folgenden 20 Jahre ein Andauern der anaeroben Verhältnisse in ähnlichem Ausmaß wie seit 1957 voraus (vgl. Abb.3).

Vor unserem Untersuchungszeitraum im Sommer 1986 und 1987 lag eine mehrjährige Stagnationsperiode des Tiefenwassers mit Anreicherung von H_2S . Die vorhergegangene Tiefenwassererneuerung war 1977 erfolgt. Seit 1979 lag unterhalb von 150 m permanent H_2S im Tiefenwasser vor (vgl. Stigebrandt und Wulff 1987).

2.1.2. Untersuchungsstationen im Sommer 1986 und 1987:

Im Sommer 1986 wurden das Arkonatief, das Bornholmtief, das Farötief und Station T angelaufen. Das Bornholmtief (BY 5) und das Gotlandtief (BY 15) sind Stationen, die als repräsentative Stationen für das Monitoring der zentralen Ostsee von der Helsinki-Kommission ausgesucht wurden (vgl. Helcom 1983/12). Station T liegt bei annähernd gleicher Tiefe sehr nahe an Station BY 28, die als repräsentative Station für die nördliche zentrale Ostsee bearbeitet wird. Sauerstoffkonzentrationen, die eine Denitrifikation in der Wassersäule zuließen, wurden nur im Gotlandtief, Farötief und an Station T angetroffen. 1987 konzentrierten sich die Untersuchungen auf das Gotlandtief. 1986 wurden die Proben in der Zeit vom 13.8. - 24.8. während einer Forschungsreise mit F.S. "Poseidon" entnommen. Die Probenahme 1987 erfolgte vom 29.7 - 31.7. an Bord von R.V. "Aranda" in Zusammenarbeit mit dem finnischen Institut für Meereskunde in Helsinki (Fahrtleiterin: Dr. E.L. Poutanen). Ebenfalls an Bord dieses Forschungsschiffes wurden im Juli 1985 die ersten Vorversuche durchgeführt (Fahrtleiter: Dr. L. Niemistö). Die genannten Stationen sind in Abb.4 dargestellt und Tabelle 1. aufgeführt.

Tab. 1.:

Station	Position		Tiefe (m)	Untersuchungs- zeitraum
	N	E		
Arkonabecken	55°00.0'	13°18.0'	45	12.+24.8.1986
Bornholmbecken (BY 5)	55°15.0'	15°59.0'	90	13.8. 1986
Gotlandtief (BY 15)	57°20.0'	20°03.0'	240 (225-240)	15.- 17.8.1986 29.- 31.8.1987
Farötief	58°00.0'	19°54.0'	195	18.8. 1986
Station T	59°25.5'	21°30.0'	163	19.8. 1986
(zum Vergleich: BY 28	59°02.0'	21°05.0'	166)	



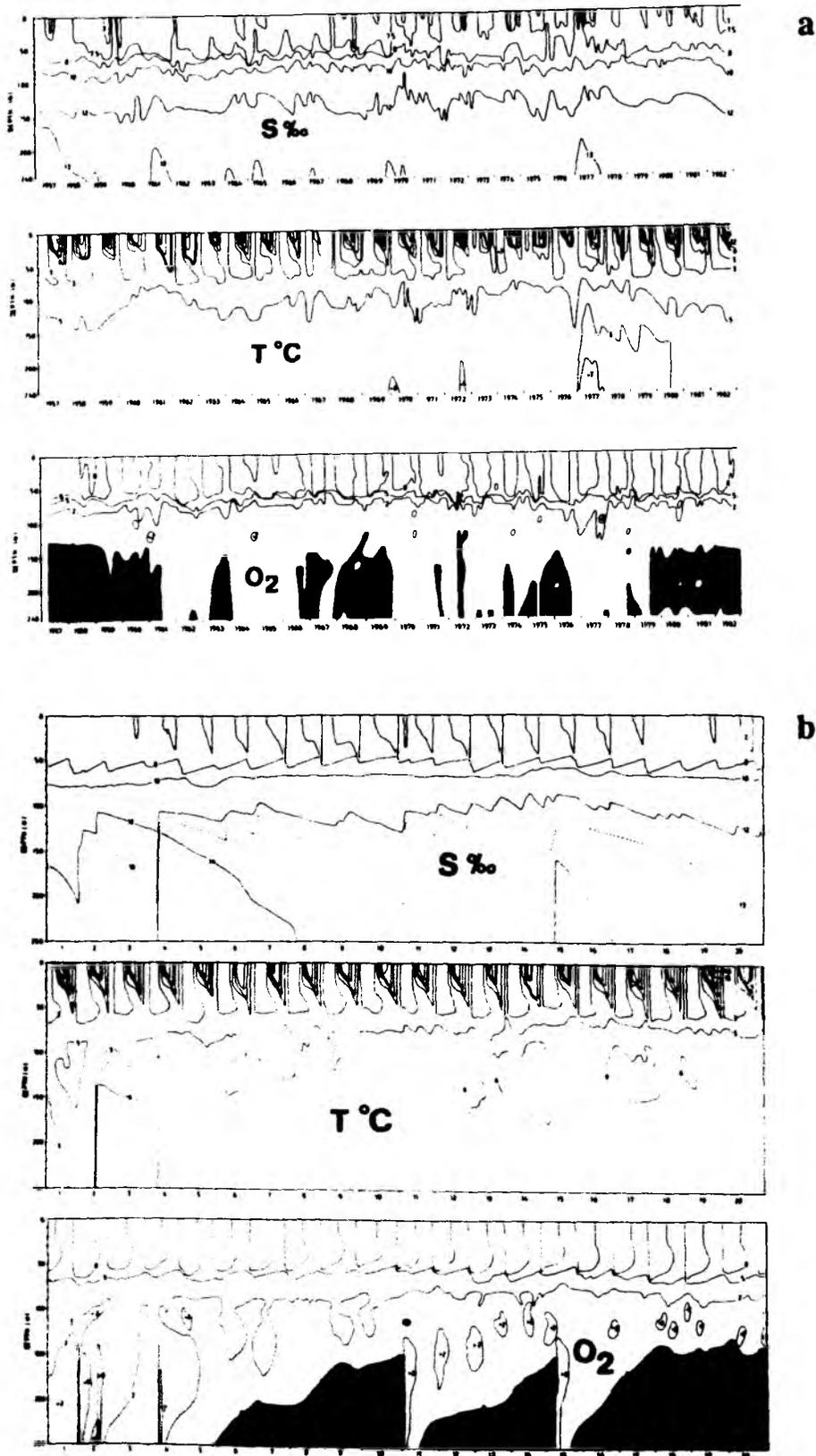
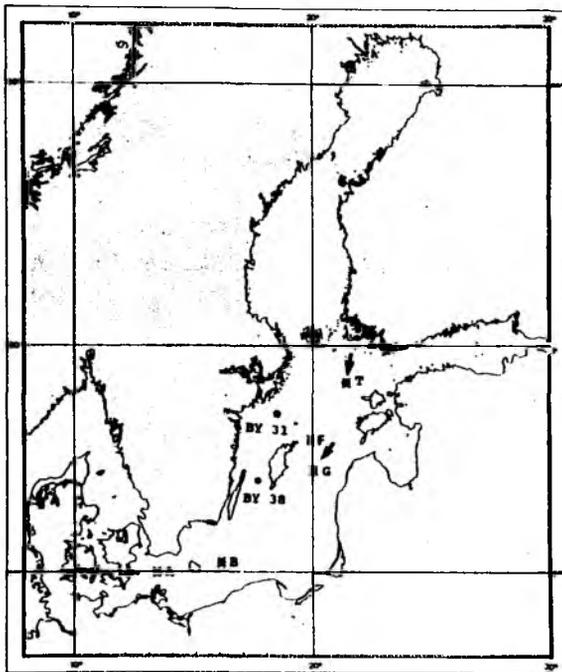


Abb.3a,b:
 Salinität (‰), Temperatur (°C) und Sauerstoffverhältnisse (ml/l) in der Ostgotlandsee für die Periode von 1957-1982 (= 3a), sowie Modellierung dieser Parameter für die nächsten 20 Jahre (= 3b) (gerechnet ab 1987). Die schwarzen Bereiche markieren anoxische Bedingungen. (aus: Stigebrandt und Wulff 1987)



G = Gotlandtief

T = Station T

F = Farötief

B = Bornholmbecken

A = Arkonabecken

BY 38, BY 31 = Stationen
von Rønner und Sørensson (1985)

Abb.4:

Probenmestationen in der zentralen Ostsee, sowie die von Rønner und Sørensson im Mai/Juni 1980 bearbeiteten Stationen

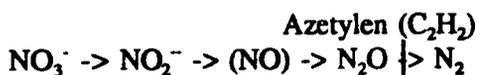
2.1.3. Probenahme

Alle Proben zur Bestimmung von Nährstoffen, chemischen Parametern (u.a. O_2 , H_2S) und bakteriellen Umsatzraten wurden mit 5, 10 und 30 l Niskin-Schöpfern (aus Polyvinylchlorid, Hydrobios, Kiel und General Oceanics, San Diego, Calif.) entnommen. Diese Schöpfer erlauben eine Probenahme ohne Sauerstoffkontamination. Zur Beimpfung von Medien (z.B. zur Bestimmung der Saprophytenzahl auf ZB) wurde das Probenwasser steril mit Zobellschöpfern entnommen (bei Einsatz von Sektflaschen für Flaschengärung bis 240 m problemlos möglich).

2.2. Messung der Denitrifikationsraten mit der Azetylenblockmethode

2.2.1. Wirkungsweise und Möglichkeiten der Methode

Die Azetylenblockmethode beruht darauf, daß Azetylen (C_2H_2) die N_2O -Reduktase hemmt, und N_2O statt N_2 als Endprodukt der Denitrifikation gebildet wird (Yoshinari und Knowles 1976; Balderston et al. 1976).



Denitrifikationsweg und Azetylenblock

Die Azetylenblockmethode wurde von Hattori (1983) und Rönner (1983) als die empfindlichste und bestgeeignetste zum Nachweis von Denitrifikationsraten in der Wassersäule eingestuft. Gegenüber ^{15}N -Methoden hat sie den entscheidenden Vorteil, daß mit in situ-Nitratkonzentrationen gearbeitet werden kann. Ein Nachteil der Methode liegt in der Hemmung verschiedener bakterieller Stoffumsetzungen, wie Methanogenese und Nitrifikation (vgl. Knowles 1982, als Review). Aus diesem Grund ist es sinnvoll bei Untersuchungen mit der Azetylenblockmethode Parallelen ohne Azetylenzusatz mitzubearbeiten, um eine Beeinflussung der verschiedenen Stickstoffumsatzprozesse abschätzen zu können.

2.2.2. Anpassung der Methode

Die Azetylenblockmethode wurde ausgehend von den Beschreibungen von Andersen et al. (1984) und Rönner und Sörensen (1985) an die vorliegenden Erfordernisse angepaßt. Wesentliche Änderungen waren die Erhöhung der Azetylenmenge von 0.1 auf 0.15 atm, sowie der Zusatz von Stickstoff vor Zugabe des Azetylens. Zwei Gründe lagen für die Erhöhung der Azetylenmenge vor: Tam und Knowles (1979) wiesen nach, daß bei Vorliegen von H_2S der Azetylenblock bei mehrtägiger Inkubationszeit wieder aufgehoben wird. Die Dauer der Blockierung konnte durch erhöhte Azetylengaben verlängert werden (bei 0.11 atm ca. 5 Tage). Kaspar (1982) zeigte, daß bei sehr niedrigen Nitratmengen ($> 1 \mu\text{mol/l}$) die zugesetzte Azetylenmenge auf 0.15 atm erhöht werden muß, um die N_2O -Reduktase vollständig zu blockieren. Da beide Bedingungen, niedrige Nitratmengen in den Denitrifikationszonen und H_2S in anoxischen Becken der zentralen Ostsee vorliegen, wurde die Erhöhung der Azetylenmenge als sinnvoll erachtet. Der Zusatz von 10 ml Stickstoff vor Zusetzen des Azetylens erwies sich als zweckvoll, da hierdurch ein genau bemessener Gasraum geschaffen wurde, in den das Azetylen injiziert und aus dem später eine Gasprobe entnommen werden konnte. Ohne N_2 -Zugabe war es nicht möglich, Azetylen in der gewünschten Menge ohne störende Nebenwirkungen zuzugeben: Das Lösen des C_2H_2 in der Wasserprobe dauerte zu lange, als daß dieses ohne Abziehen von Probenwasser hätte zugesetzt werden können. Wurde gleichzeitig bei der Zugabe Wasser entzogen, so bildete sich nach kurzer Zeit in diesem Gasraum Unterdruck, da das Azetylen sich weitgehend im Wasser gelöst hatte (Löslichkeit von C_2H_2 in deionisiertem Wasser: 1 ml C_2H_2 / ml Wasser). Durch diesen Unterdruck waren die Proben sehr anfällig für Luftkontamination, insbesondere wenn später Substanzen mit Spritzen zugesetzt wurden. Bei allen Untersuchungen wurde sehr darauf geachtet, daß der in situ Sauerstoffpartialdruck in der Probe erhalten blieb. Zwischen den verschiedenen Verarbeitungsschritten wurde bei 5°C gelagert, bei Transport und zwischen den einzelnen Handgriffen in einer Kühlbox.

2.2.3. Durchführung der Methode

- Die Wasserproben wurden sofort nach der Probenahme (Niskinschöpfer) in 120 ml Serumflaschen abgefüllt. Das Abfüllen erfolgte wie bei der Winklertechnik vom Boden der Flasche her, mit mindestens $2/3$ Überlauf des abgefüllten Volumens. Die Flaschen wurden sofort luftblasenfrei mit Teflonbutylgummisepten und Alukappen mit Hilfe einer Crimperzange verschlossen.

- Zuerst wurde den Wasserproben 10 ml Stickstoff (N_2 , 5.0) direkt ab Gasflasche unter Entnahme von 10 ml Wasser mit Einwegspritzen zugegeben. Nullproben wurde nach diesem Schritt eine Gasprobe entnommen und die Wasserprobe eingefroren.

- 18 ml Azetylen (C_2H_2 , 2.6) wurde mit einer C_2H_2 -gespülten Einwegspritze zugegeben. Dabei wurde das Azetylen erst in eine zu 1/3 mit Reinstwasser gefüllte Serumflasche mit Butylgummiseptum eingeleitet (ca. 5 Min. vor Erstentnahme kräftig mit C_2H_2 durchspülen), aus der es dann mit der Spritze entnommen wurde. Das Azetylen wurde unter Schütteln zugesetzt. Das Schütteln bewirkt ein schnelleres Lösen in der Wasserprobe und ermöglicht somit ein schnelleres Einspritzen des Azetylens.

- Die Inkubation der Proben erfolgte liegend bei annähernder in situ Temperatur. Die 10 m-Proben wurden bei 20°C, die übrigen Proben wurden 1986 bei 4.6°C +/- 0.1°C, 1987 bei 5°C +/- 0.2°C inkubiert. Die Inkubationsdauer betrug 2 bis 12 Tage, zu Vergleichszwecken einmal 100 Tage.

- Nach Beenden der Inkubation wurden die Proben 15 Minuten im Schüttelwasserbad bei 20°C geschüttelt. In diesem Zeitraum kann sich das Gleichgewicht zwischen N_2O in Gasphase und Wasser bei 20°C einstellen. Das Ausschütteln bei einer höheren Temperatur als der Inkubationstemperatur erhöht die Empfindlichkeit der Methode, da bei 20°C nur etwa halb so viel N_2O in der Wasserphase gelöst ist, als bei 5°C (vgl. Weiss und Price 1980), und somit die N_2O -Menge in der Gasphase ansteigt. Die Gasphase wurde direkt nach dem Ausschütteln mit einer verschließbaren, gasdichten Spritze entnommen und entweder direkt im Gaschromatographen analysiert, oder in gasdichten, evakuierten Röhrchen (Vacutainer, 4 ml, Becton Dickinson) bis zur Analyse gelagert. Nach der Gasentnahme und eventuell weiterer Unterprobenentnahme wurden die Proben sofort eingefroren (- 20°C). Die eingefrorenen Proben wurden später auf Nitrit, Nitrat und Ammonium hin analysiert.

2.2.4. Präzision der Methode

Ein Vergleich der direkten Analyse der Gasphase im GC und der Zwischenlagerung in Vacutainern zeigte bei Messung derselben Proben einer Autofahrt und im Experiment eine sehr gute Übereinstimmung. Die Umrechnung von Vacutainermessung auf Direktmessung konnte mit einer linearen Regression erfolgen ($r = 0.9997$). Die Ermittlung des N_2O -Gehaltes im Wasser aus der Messung in der Gasphase erfolgte anhand der Löslichkeitstabellen von Weiss und Price (1980). Die Standardabweichung der in Vacutainer gelagerten Proben betrug bei Proben mit N_2O -Gehalten über 30 nmol N_2O/l weniger als 2%, über 10 nmol/l weniger als 5%. Im Mittel betrug die Standardabweichung 0.92 nmol/l ($s = 0.77$, $n = 22$). 2 nmol/l war üblicherweise die untere Grenze, bei der 2 Werte noch als signifikant verschieden angesehen werden konnten. Proben mit weniger als 3 nmol N_2O/l konnten vor dem Hintergrundwert der Vacutainer nicht mehr quantifiziert werden.

2.2.5. Gaschromatographie

Gemessen wurde mit einem Gaschromatograph der Firma Packard, Modell 438A (Packard Instrument Co., Inc., Rockville, Md.). Dieser Gaschromatograph war programmierbar und ausgerüstet mit einem ^{63}Ni -Elektroneneinfangdetektor, einem 8-Wege-Ventil, und einer 3 m langen Poropak Q-Säule (80/100 mesh, 3,2 mm (1/8 Zoll) äußerer Durchmesser). Zur Absorption von Wasser war der Säule eine 30 cm lange Vorsäule mit Silicagel (45/60 mesh, Merck, 1/8 Zoll äußerer Durchmesser, vgl. Frunzke und Zumft 1984) vorgeschaltet. Als

Trägergas wurde Argon (95%)/ Methan (5%), ecd-Qualität, benutzt. Injiziert wurde jeweils 1 ml Gasprobe mit einer verschließbaren gasdichten Spritze (1 ml Pressure Lok^R-Spritze, Dynatech Precision sampling Co., Baton Rouge, La.).

a) N₂O-Messung in Wasserproben

Der N₂O-Gehalt der Wasserproben wurde bei einer Säulentemperatur von 65°C, 15 ml Trägergasdurchfluß pro Minute und einer Detektor temperatur von 320°C bestimmt. Nach Erscheinen des N₂O-Peaks wurde die Säule vom Detektor weg geschaltet (geventet), um eine Beeinträchtigung des Detektors durch das in den Proben vorhandene Azetylen zu vermeiden. Azetylen senkt die Empfindlichkeit des Detektors, wahrscheinlich durch Bildung von Kondensationsprodukten auf dem heißen Detektor (K.S. Jörgensen, pers. Auskunft). Bei diesen Meßbedingungen konnte alle 4 Minuten eine Probe injiziert werden. Nach je etwa zehn Messungen wurde mit Eichgas in Konzentrationen der aktuellen Meßwerte kalibriert. Injiziert wurde jeweils 1 ml Gasprobe, entweder direkt nach Entnahme aus der Probenflasche oder aus den Vacutainern. Kohlendioxid konnte bei diesen Laufbedingungen deutlich (0,8 min. vor N₂O) von N₂O abgetrennt werden. Unter den gegebenen Meßbedingungen konnte allerdings aufgrund der hohen Nachweisgrenze (2%) nie CO₂ in den Wasserproben nachgewiesen werden (vgl. Abb.5a).

b) Messung von O₂, CO₂ und N₂O in Bakterienkulturen:

1 ml Gasphase des Headspace (=Gasraum über Medium) der zuvor mehrfach geschüttelten Hungaterörhrchen wurde bei einer Detektortemperatur von 300°C, einer Säulentemperatur von 70°C und einem Trägergasfluß von 18 ml/min analysiert. Das resultierende Chromatogramm besteht aus einem Sammelpeak (1), der im wesentlichen Sauerstoff repräsentiert, einem CO₂-Peak (2) und dem N₂O-Peak (3) (vgl. Abb.5b). Unter diesen Meßbedingungen lag die Nachweisgrenze für O₂ bei 0.2 %, für CO₂ bei 1 % und für N₂O bei 200 ppbv. Alle drei Parameter konnten von diesem unteren Limit aus bis 100 % quantifiziert werden. Die in den bewachsenen Rörhrchen angetroffenen Konzentrationen lagen bei N₂O im Bereich von 0-18 %, bei CO₂ zwischen 0.1 - 10% und bei O₂ zwischen 0.7 und 8.4 %. Die angegebene Meßmethode ist daher, außer bei CO₂, ausreichend zur Detektion dieser Gase. Bei späteren Messungen konnte bei einer auf 250°C erniedrigten Detektortemperatur CO₂ bis 0.08 % nachgewiesen werden.

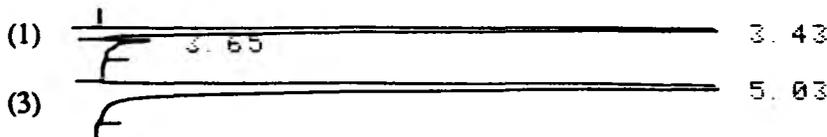


Abb.5a:

Typisches Chromatogramm der Gasphase über einer Wasserprobe aus dem sauerstoffarmen Tiefenwasser der Ostsee. Hier sind der Sammelpeak (1), der im wesentlichen aus O₂ besteht, und N₂O (3) zu sehen.

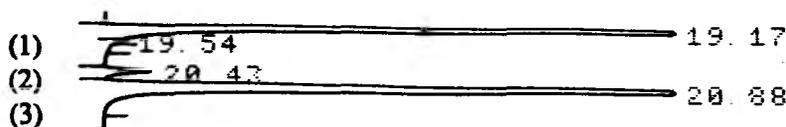


Abb.5b:

Typisches Chromatogramm der Gasphase über einer Bakterienkultur. Neben dem Sammelpeak (1) und N₂O (3) ist noch CO₂ (2) zu sehen.

2.3. Bestimmung der Stickstoffkomponenten und deren Umsetzungen

2.3.1. Nitrit (NO_2^-)

Nitrit wurde nach einer Modifikation der Griess-Ilosvay Methode, adaptiert an Seewasser durch Bendschneider und Robinson (1952) bestimmt. Diese Methode beruht auf der Reaktion von Nitrit mit Sulphanilamid. Das Reaktionsprodukt wird an 1-Naphtylamin gekoppelt. Die Extinktion des so gebildeten Azofarbstoffes wird photometrisch bei 540 nm bestimmt. Die Durchführung erfolgte nach der Beschreibung von Grasshoff (1983). Die Nachweisgrenze für diese Methode, getestet mit Ostseewasser, wird mit 0,01 $\mu\text{mol/l}$ (Gundersen, 1981) und die Reproduzierbarkeit mit $\pm 0,02 \mu\text{mol/l}$ (Grasshoff 1983) angegeben. Die Nitritbestimmung kann in Anwesenheit von H_2S falsche Ergebnisse liefern. Grasshoff (1983) nimmt an, daß der Nachweis von Nitrit in H_2S -haltigem, anoxischen Wasser ein Artefakt darstellt, der durch nachträgliche Oxidation des Ammonium nach Sauerstoffkontakt der Probe und Oxidation des vorliegenden H_2S auftritt.

2.3.2. Nitrat (NO_3^-)

Nitrat wurde nach Reduktion zu Nitrit mit Hilfe einer Kupfer-Cadmium-Säule als Nitrit bestimmt (Grasshoff 1983). Die Reproduzierbarkeit wird im Bereich 0 - 5 $\mu\text{mol/l}$ mit $\pm 0,1 \mu\text{mol/l}$, im Bereich 5 - 10 $\mu\text{mol/l}$ mit $\pm 0,2 \mu\text{mol/l}$ angegeben. Nach Gundersen (1981) beträgt die Nachweisgrenze 0,05 $\mu\text{mol/l}$. H_2S in kleineren Mengen interferiert nicht mit der Nitratbestimmung, da das H_2S bei Eintritt in die Reduktionssäule ausgefällt wird. Nitrat im Bereich von anoxischem Tiefenwasser wird von Grasshoff (1983) wie Nitrit als nachträgliches Oxidationsprodukt nach Sauerstoffkontamination eingestuft. Bei autoklavierten anoxischen Wasserproben aus dem Gotlandtief konnten 100 $\mu\text{mol/l}$ Nitrat (wurde den Proben zugesetzt) problemlos bei Anwesenheit von 50 $\mu\text{mol/l}$ H_2S (ebenfalls den Proben zugesetzt) nachgewiesen werden.

2.3.3. Ammonium (NH_4^+)

Ammonium wurde nach der Indophenolblau-Methode, beschrieben von Koroleff (1983), bestimmt. Die Standardabweichung wird mit $\pm 4,8 \%$ angegeben. Die Nachweisgrenze der Methode liegt nach Gundersen (1981) bei 0,05 $\mu\text{mol/l}$.

2.3.4. Distickstoffoxid (N_2O)

N_2O wurde gaschromatographisch mit einem Elektroneneinfangdetektor bestimmt (vgl. 2.2.5).

2.3.5. Partikulärer organischer Stickstoff (PON)

Bestimmt wurde der PON-Gehalt von 1 l Wasser, abfiltriert auf GF/F-Glasfaserfilter (Whatman, 25 mm). Die Messung erfolgte gleichzeitig und analog der POC-Bestimmung (vgl. 2.4.1). Die Standardabweichung bei Parallelproben betrug im Mittel 4.6 % (n = 8).

2.3.6. Bestimmung der in situ Konzentrationen der N-Komponenten

Die Bestimmung der aktuellen Konzentrationen von NO_2^- , NO_3^- und NH_4^+ in der Wassersäule erfolgte sofort nach der Probeentnahme. N_2O wurde als Gasphase in Vacutainern gelagert und nach der Ausfahrt gaschromatographisch analysiert. PON wurde direkt abfiltriert und die Filter eingefroren (vgl. POC-Bestimmung).

2.3.7. Bestimmung der Stickstoffumsetzungen während der Inkubation

Zur Bestimmung der Stickstoffumsetzungen während der Inkubation von Proben wurden Nullproben wie auch die Proben nach der Inkubation eingefroren (-20°C). Gasproben zur späteren N_2O -Bestimmung wurden nach der Equilibrierung auf 20°C direkt vor dem Einfrieren entnommen. Die eingefrorenen Proben wurden mit einem Autoanalyzer analysiert. Das Auftauen und Verdünnen der Proben erfolgte direkt vor der Analyse.

2.3.8. Nettonitrifikationsrate:

Aussagen über Nitrifikationsraten beziehen sich nur auf die zeitliche Änderung von Nitrit und Nitrat in Wasserproben. Die Wasserproben wurden ebenso wie bei der Denitrifikationsratenbestimmung behandelt und inkubiert, und nach unterschiedlichen Inkubationszeiten die Nitrit- und Nitratkonzentrationen bestimmt. Die Versuchsansätze wurden, wenn nicht anders angegeben, in 3 Parallelen durchgeführt. Den Proben wurde kein Azetylen zugesetzt. Da in diese Beobachtungen keine Verlustprozesse (Reduktion, Aufnahme) eingehen, werden die Raten als Nettonitrifikationsraten bezeichnet.

2.3.9. N_2O -Produktionsraten:

In den zur Erfassung der Nitrifikation genutzten Proben wurde auch versucht die Änderung des N_2O -Gehaltes zu messen. Die Messung erfolgte wie bei der Bestimmung der Denitrifikationsraten (vgl. 2.2), nur ohne den Zusatz von Azetylen.

2.4. Bestimmung der Kohlenstoffkomponenten

2.4.1. Partikulärer organischer Kohlenstoff (POC)

Hierzu wurden 1 l Wasserprobe auf einen Glasfaserfilter (GF/F, 25 mm, Whatman) abfiltriert. Die Filter wurden bei 450°C , 5 h, ausgeglüht und bis zur Verwendung in gasdichten Flaschen aufbewahrt. Nach der Filtration wurden die Filter gefaltet bei 50°C getrocknet, und bis zur Analyse in gasdichten, vorgeglühten Szintillationsfläschchen eingefroren (-20°C) aufbewahrt (gasdicht durch Einlegen von teflon-beschichteten Butylgummisepten). Der POC- und gleichzeitig der PON-Gehalt der Filter wurde bei einer Verbrennungstemperatur von 900°C im CHN-Analyzer (Perkin-Elmer) bestimmt. Die Standardabweichung für POC bei Parallelproben betrug im Mittel 4.0 % (n = 8, s = 2,6). Für weitere Details der Methode s. Ehrhardt (1983).

2.5. Bestimmung der bakteriellen Parameter

2.5.1. Gesamtbakterienzahl (GBZ)

Die Gesamtbakterienzahl wurde nach der Methode von Zimmermann et al. (1978) bestimmt. Hierzu wurden formolfixierte (2 ml Formol/ 100 ml Probe) Wasserproben auf dem Filter (0,2 um Nuclepore, schwarz) mit Acridinorangefärbung gefärbt und unter dem Epifluoreszenzmikroskop ausgezählt.

2.5.2. Bakterielle Biomasse

Zur Bestimmung der bakteriellen Biomasse wurden die mit Acridinorange gefärbten Zellen fotografiert. Je 200 Zellen wurden mit Hilfe eines Digitizer Boards vermessen. Das Programm zur Datenaufnahme und Berechnung des Biovolumens wurde freundlicherweise von C.Krambeck, Plön, bereit gestellt. Die Umrechnung des Biovolumens in mikrobiellen Kohlenstoff erfolgte anhand der größenabhängigen Umrechnungsfaktoren nach Simon und Azam (1989).

2.5.3. Saprophytenzahl (Agarmedium: Zobell-Brackwasseragar (ZB))

Die Saprophytenzahl wurde auf Platten mit einem Zobell-Brackwasser-Medium (ZB) ermittelt. Beiden Versuchen mit der Azetylenblockmethode wurden 0,2 ml und 0,02 ml mit einem Drigalskispatel ausgespatelt. Für die Saprophytenzahlen der Wassersäule wurden 1986 0,2 ml, 1987 0,1 ml Probe ausgespatelt. Die Standardabweichung beim Ausspateln von 0,1 ml Probe betrug im Mittel 20 % ($s = 14$, $n = 8$). Mit dem gleichen Medium wurden 1986 auch Saprophytenzahlen mit dem Koch'schen Plattengußverfahren von der Abteilung Marine Mikrobiologie ermittelt. Hierbei wurden 1 ml und 0,1 ml Probe verwendet. Die Standardabweichung bei dieser Methode lag bei vergleichbaren Proben (ebenfalls Gotlandtief, vergleichbare Tiefen) bei 14 Tage Inkubation und 0,1 ml eingesetzter Probe bei 16 % ($s = 6$, $n = 8$).

Zobell-Brackwassermedium (ZB) (nach Zobell 1946, abgewandelt für Brackwasserbakterien)

Bacto-Pepton	5,0 g
Yeast-Extract	1,0 g
Bacto-Agar	15,0 g
gealtertes Sewasser	250 ml
A. deion.	750 ml

pH 7,2 (ca. 0,95 ml 1 N NaOH)

2.5.4. Bestimmung der Anzahl der Denitrifikanten (Flüssigmedium: NB+NO₃)

Die Denitrifikantenzahlen wurden mit Hilfe eines Mediums nach Sreenivasan und Venkataraman (1956) bestimmt. Dieses Nährbouillon-Nitrat-Medium lieferte bei einem Medienvergleich von Patriquin und Knowles (1974) und Dunn et al. (1980) die besten Ausbeuten. Es wird ebenfalls von Payne (1981) als das bestgeeignete zur Erfassung der Denitrifikantenzahlen beschrieben. Nach Patriquin und Knowles (1974) sollten zur Bestimmung der Denitrifikantenzahlen nicht nur Gasbildung in Durhamröhrchen, sondern

auch die N_2O -Bildung gemessen werden. Die Gasbildung hatte sich als ein wesentlich höher variierendes Merkmal herausgestellt, als N_2O -Bildung. Die Anzahl der N_2O -bildenden MPN-Röhrchen lagen um etwa 3 Zehnerpotenzen höher, als die der gasbildenden. Diese Differenz verringerte sich auf eine Zehnerpotenz, wenn von Platten isolierte Bakterien in dasselbe Medium eingepflegt wurden.

Nährbouillon-Nitrat-Medium (NB + NO_3^-) nach Sreenivasan und Venkataraman (1956), abgeändert für Brackwasserbakterien

KNO_3	2,0 g
Fleischextract (Merck)	3,0 g
Bacto-Pepton	5,0 g
gealtertes Seewasser	250 ml
A. deion.	750 ml
pH	7,35 +/- 0,05

(bei dem Originalmedium wird als pH-Wert 7,0 +/- 0,2 angegeben, statt deion. Wasser wird gealtertes Seewasser verwendet)

Aufbereiten von NB+ NO_3^- -Flüssigmedium:

Die Nährlösung wurde autoklaviert, bei offenem Fenster über Nacht abkühlen lassen (zum Erzielen eines gleichen niedrigen N_2O -levels in allen Ansätzen), zum pH-Einstellen gepoolt, und in Portionen von je 14 ml mit einer Dispensette (Brandt) in Hungateröhrchen abgefüllt. Auf diesem Weg wurde eine homogene Serie hinsichtlich der N_2O -Konzentration, des pH-Wertes, der Medienzusammensetzung und der Größe des Gasraumes über dem Medium erzielt. Um vergleichbare Messungen bei der späteren gaschromatographischen Analyse zu erzielen, ist dies eine wichtige Voraussetzung. Im Lochdeckel der Hungateröhrchen war ein Butylgummiseptum eingelegt, durch das die Gasprobenentnahme erfolgen konnte. Vor dem Autoklavieren wurde den Röhrchen ein Durhamröhrchen zugesetzt. Danach wurden die Röhrchen fest verschlossen und autoklaviert. Der endgültige pH-Wert wurde in 3 autoklavierten Röhrchen kontrolliert. Dieselben Bedingungen gelten auch für das 10-fach konzentrierte Medium, das zur Beimpfung mit 10 ml Probenwasser diente.

Beimpfen des Mediums:

1986 wurden je 3 Parallelen pro Verdünnungsstufe beimpft, 1987 je 5 Parallelen. Die eingesetzten Probenmengen betragen 10, 1, 0,1, 0,01 und 0,001 ml pro Röhrchen.

Auswertung der Flüssigmedien:

Als Kriterium für Denitrifikation wurde die Gasbildung in den Durhamröhrchen (in der Regel N_2) und die N_2O -Bildung (gaschromatographisch nachgewiesen durch Gasraumanalyse vgl. 2.2.5) gewertet. Zusätzlich wurde in den Röhrchen NO_2^- , O_2 und CO_2 gemessen.

2.5.5. Bestimmung der Anzahl der Nitratreduzierer (Agarmedium: NA+ NO_3^-)

Zur Bestimmung der Anzahl der Nitratreduzierer wurde das Nährbouillon-Nitrat-Medium mit 18 g/l Bacto-Agar versetzt. Die Agarplatten wurden mit 1ml und 0,1 ml Wasserprobe beimpft. Die Bebrütung erfolgte anaerob im Eksikator. Als Kriterium für Nitratreduktion

diente Wachstum auf diesem Medium unter anaeroben Bedingungen. Es muß allerdings davon ausgegangen werden, daß auch gärende Bakterien auf diesem Medium wachsen können. Ein Vergleich mit anaerob auf ZB wachsenden Bakterien ist daher notwendig, um die Anzahl der möglichen Gärer abschätzen zu können. Dieses Medium ist in erster Linie als Vergleich zu dem Flüssigmedium zu sehen. Weiterhin diente es der Isolierung von Bakterien.

2.5.6. Bestimmung der Anzahl der denitrifizierenden Thiosulfatoxidierer (Flüssigmedium: BB)

Das verwendete Flüssigmedium ist eine Abwandlung des Mediums nach Baalsrud und Baalsrud (1954), das nach den Ansprüchen von *Thiobacillus denitrificans* optimiert wurde. Die hier vorgenommenen Änderungen betreffen den pH und den Zusatz von NaCl: Tuttle und Jannasch (1973) hatten bei ihren Untersuchungen in anoxischen marinen Becken den pH-Wert auf 8,2 - 8,4 angehoben, sowie den Salzgehalt auf etwa 4 % eingestellt. Um das Medium in etwa auf Brackwasserverhältnisse abzugleichen wurden 8 g/l NaCl zugesetzt. Der pH wurde auf 8,0 eingestellt. Baalsrud und Baalsrud (1954) hatten einen pH-Wert von 7,0 angegeben.

Medium für denitrifizierende Thiosulfatoxidierer (BB), nach Baalsrud und Baalsrud (1954), abgewandelt für Brackwasserbakterien

Na ₂ S ₂ O ₃ x 5 H ₂ O	5,0 g
KNO ₃	2,0 g
NH ₄ ⁺ Cl	0,5 g
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	0,5 g
NaCl	8,0 g
KH ₂ PO ₄	2,0 g
NaHCO ₃	1,0 g
FeSO ₄ x 7 H ₂ O in 1 N HCl	0,01 g
Leitungswasser	750 ml
A. deion.	250 ml
pH 8,0 +/- 0,05	

KH₂PO₄ und NaHCO₃ wurden einzeln in deionisiertem Wasser gelöst, und ebenso wie FeSO₄ x 7 H₂O in 1 N HCl einzeln autoklaviert. Nachdem die Einzelkomponenten über Nacht am Fenster stehend (gleichmäßig niedriger N₂O-level!) abgekühlt waren, wurden alle Komponenten unter Rühren portionsweise zusammengegeben. Je 14 ml des Mediums wurden steril mit einer Dispensette in Hungateröhrchen abgefüllt. Beimpfen, Inkubation und Auswertung wurden wie bei dem NB+NO₃⁻-Flüssigmedium durchgeführt.

2.5.7. Bestimmung der Anzahl der aeroben Thiosulfatoxidierer (Agarmedium: TB)

Hierzu wurde das Thiosulfatbasalmedium (TB) nach Tuttle und Jannasch (1973) verwendet. Dieses hatte sich als geeignet zur Isolierung von Thiosulfatoxidierern aus dem Meer und insbesondere anoxischer Becken erwiesen. Um das Medium an Brackwasserverhältnisse anzupassen, wurde die zugesetzte Meerwassermenge von 625 ml auf 250 ml/l herabgesetzt.

Thiosulfatbasalmedium (TB), nach Tuttle und Jannasch (1973), abgeändert für Brackwasserbakterien:

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5 \text{H}_2\text{O}$	10,0 g
NH_4Cl	0,5 g
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	0,25 g
KH_2PO_4	0,25 g
K_2HPO_4	0,25 g
A. deion.	750 ml
gealtertes Seewasser	250 ml

pH 7,1 +/- 0,05

Der Phosphatpuffer wurde getrennt in deionisiertem Wasser gelöst und autoklaviert. Bei Einstellen des pH im Phosphatpuffer auf 7,2 (mit etwa 2,6 ml/l 1 N NaOH) vor dem Autoklavieren, wurde der angestrebte pH als Endwert im abgekühlten Agar erreicht.

Allgemeines zu Nährmedien, Bebrütung und Auswertung:

Alle Medien wurden bei 121°C, 1,1 atm 20 Minuten lang im Autoklaven sterilisiert.

Die Beimpfung der Agarmedien erfolgte bis zu einem maximalen Probenvolumen von 0,2 ml mit dem Drigalskispatel. Bei größeren Probenvolumen (1 ml) wurde das Koch'sche Plattengußverfahren benutzt. Hierzu wurde das Medium nach 5 minütigem Autoklavieren in Meplatzflaschen (je 150 ml) abgefüllt und 20 min. in den Flaschen autoklaviert. Vor Gießen der Platten wurde das Medium aufgekocht und bei 50°C bis zur Verwendung im Wärmeschrank aufbewahrt. Bei Zugabe zum Probewasser in der Petrischale war das Medium weiterhin auf etwa 40°C (handwarm) abgekühlt, so daß der Agar sofort nach dem Verteilen in der Petrischale stockte.

Die Inkubation erfolgte stets bei 20°C im Dunkeln. Anerobe Inkubation wurde im Eksikator mit Gas Pak^R-System von Becton-Dickinson durchgeführt. Bei diesem System wird O₂ durch H₂-Entwicklung und eine durch einen Palladium-Katalysator angeregte Knallgasreaktion, eliminiert. Für eine genauere Beschreibung siehe Gast und Gocke (1988).

Die Auswertung der Flüssigmedien erfolgte nach den Tabellen von de Man (1975). 1986 wurde mit 3 Parallelen pro Verdünnungsstufe gearbeitet, 1987 mit 5 Parallelen.

Bei den Plattenmedien wurden je 3 Parallelen pro Verdünnungsstufe beimpft. Die Standardabweichung betrug im Mittel 20 % (vgl. Saprophytenzahlen).

2.6. Bestimmung von allgemeinen Hintergrundparametern in den Wasserproben und den Versuchsansätzen

2.6.1. Temperatur und Salzgehalt

Temperatur und Salzgehalt wurden in der Wassersäule direkt mit Hilfe einer CTD-Sonde (Conductivity-Temperature-Depth) bestimmt.

2.6.2. Sauerstoff (O₂)

Sauerstoff wurde titrimetrisch in einer Abwandlung der Methode nach Winkler bestimmt, gemäß der Beschreibung nach Grasshoff (1983). Die Reproduzierbarkeit der Methode liegt bei +/- 0,02 ml/l bei O₂ > 2 ml/l. Bei höheren O₂-Konzentrationen steigt sie auf +/- 0,04 ml/l an. Durch die Reagenzienzugabe werden etwa 0,03 ml Sauerstoff eingetragen, die vom Endwert dann abgezogen werden müssen. In Abweichung von der bei Grasshoff beschriebenen Methode wurden 100 ml Winklerflaschen bei Zugabe entsprechender Reagenzienmengen verwendet.

2.6.3. Schwefelwasserstoff (H₂S)

Schwefelwasserstoff wurde spectrophotometrisch mit der Methylenblaumethode bestimmt, nach der Beschreibung von Fonselius (1983). Um den Gehalt an H₂S auch während der Inkubation von Wasserproben bestimmen zu können, wurde eine Sprizentechnik mit einem Bedarf von 22 ml Wasserprobe entwickelt. Ein Vergleich der Ergebnisse dieser Methode mit der üblichen Flaschenmethode zeigte keine signifikanten Unterschiede. Die Standardabweichung bei drei Unterprobenentnahmen mit der Sprizentechnik lag bei > 4%. Die Sprizentechnik wurde ausschließlich zur Unterprobenentnahme bei der Probeninkubation in 120 ml Serumflaschen und 1 l Duranglasflaschen (s. POC-Abbau versuch) benutzt.

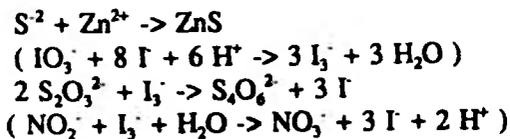
Vorgehen bei der H₂S-Bestimmung in Spritzen:

Hierzu wurde unter Zugabe von Stickstoff eine Wasserprobe (ca. 22 ml) mit einer N₂-gespülten Einwegspritze aus den verschlossenen Flaschen durch das Septum hindurch entnommen. Eine eventuell vorhandene Gasblase wurde sofort nach der Probenahme entfernt. Die Kanüle wurde mit einem Butylgummistopfen verschlossen. Die Reagenzienzugabe erfolgte in der entsprechenden Menge (je 0,2 ml) direkt nach der Probenentnahme. Dazu wurde die Probe auf 20 ml justiert, die Kanüle der Probenspritze abgenommen, und die Reagenzien mit einer Spritze tief in die Wasserprobe hinein injiziert. Bei der Zugabe wurde die Probenspritze mit der Öffnung nach oben gehalten, so daß Wasser, das mit der Luft in Kontakt kam, bei der Reagenzienzugabe gleich wieder abfloß. Die Probenspritze wurde danach sofort mit einer Kanüle, die in einen Butylgummistopfen gespießt war, verschlossen und geschüttelt. Das weitere Verfahren war identisch mit der üblichen Flaschenmethode.

2.6.4. Thiosulfat (S₂O₃²⁻)

Die Bestimmung von Thiosulfat wurde in Abwandlung der von Grasshoff (1983) beschriebenen Methode durchgeführt. Die Methode beruht darauf, daß Jodin (I₃⁻) in die Wasserprobe im Überschuß zugegeben wird. Das in der Probe vorhandene S₂O₃²⁻ wird von dem I₃⁻ zu Tetrathionat (S₄O₆²⁻) oxidiert, I₃⁻ wird zu Jodid (I⁻) reduziert. Das noch vorhandene I₃⁻ wird dann mit einer Thiosulfatlösung (vgl. Winklermethode) rücktitriert. Aus der Differenz zwischen der Menge an Thiosulfatlösung, die notwendig ist, um die gesamte Menge an vorgelegtem Iodin (in destilliertem Wasser) rückzutitrieren, im Vergleich zu der, für die Probe verbrauchte Thiosulfatlösung, wird die Thiosulfatkonzentration der Probe errechnet. Da Sulfid mit dieser Methode interferiert, muß es zuvor mit Zinkacetat als Zinksulfid ausgefällt werden. Die unteren 50 ml der Probe, die das sedimentierte ZnS enthalten, werden dann verworfen (bei Gesamtprobenvolumen von 100 ml).

Der dargestellte Prozeß läuft nach folgendem Reaktionsschema ab:



Die Probenahme erfolgte ohne Sauerstoffkontamination (vgl. Sauerstoffbestimmung). Um die 10-fache Empfindlichkeit der angegebenen Methode zu erzielen, wurden der Probe nur 1 ml (Originalrezept: 10ml) Iodatlösung zugesetzt, und die Thiosulfatlösung für die Rücktitration des I_2 im Verhältnis 1:10 auf 0,002 mol/l $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ verdünnt. Alle übrigen Reagenzien wurden in der angegebenen Menge zugesetzt. Der Meßbereich der Methode lag bei 7-200 $\mu\text{mol/l}$ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$. Sauerstoffreiches Wasser bis zur Halokline des Gotlandtiefs (10-80m Tiefe) zeigte identische Ergebnisse wie deionisiertes Wasser, und eine geringe Standardabweichung von 1 $\mu\text{mol/l}$ (n=4). Parallelproben mit anoxischem Tiefenwasser des Gotlandtiefs zeigten bei Meßwerten von 8-180 $\mu\text{mol/l}$ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ eine Standardabweichung von > 1 $\mu\text{mol/l}$ (n=4).

Während die Reproduzierbarkeit der Methode kein Problem darstellt, liegt die Hauptschwierigkeit in der mangelnden Spezifität. Alle Substanzen, die durch Iodin (I_2) oxidiert werden können, interferieren mit dieser Meßmethode. Tuttle und Jannasch (1973) geben Ergebnisse dieser Methode deshalb als Äquivalente Iodin-oxidierbarer Substanzen (=IOE) an. Für die Interpretation der Meßergebnisse in der Wassersäule bedeutet dies, daß keine Thiosulfatmengen über 7 $\mu\text{mol/l}$ vorliegen, wenn keine oxidierbaren Substanzen nachweisbar sind; dagegen muß es sich beim positiven Nachweis Iodin-oxidierbarer Substanzen nicht unbedingt um Thiosulfat handeln. So gibt z.B. ein negatives Ergebnis für die oxisch-anoxischen Grenzschicht die Auskunft, daß hier keine Thiosulfatakkumulation vorliegt. Ein weiterer Anwendungsbereich dieser Technik liegt beim Verfolgen von Umsetzungen von zugesetztem Thiosulfat. Nitrit wird von Grasshoff (1983) als interferierende Substanz angegeben (vgl. Reaktionsschema), spielt aber in dem Meßbereich von 10 - 200 $\mu\text{mol/l}$ $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ keine Rolle ($1 \text{NO}_2^- = 2 \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$).

Thiosulfatbestimmung mit der Sprizentechnik

Die Anwendung war auf die Unterprobenentnahme bei der Inkubation von Wasserproben in Serumflaschen beschränkt. Die Durchführung erfolgte analog der H_2S -Bestimmung in der Spritze. Die entnommene Unterprobenmenge betrug hier 31 ml Wasserprobe. Da 25 ml zur Durchführung einer präzisen Messung erforderlich waren, wurde die Sedimentation des Zinksulfid in die unteren 5 ml der Probe durch Zentrifugation herbeigeführt. Hierzu wurde nach Zugabe der Zinkacetatlösung (0,3 ml auf 30 ml Probe) die Probenspritze mit einer abgebrochenen und zugekniffenen Kanülenspitze verschlossen und 30 min. (800 U/min., Hettichzentrifuge) zentrifugiert (mit der Kanülenspitze nach unten). Die unteren 5 ml der Probe wurden vorsichtig abgelassen, die restliche Probe als eigentliche Meßprobe wie bei der Flaschenmethode verarbeitet. Ohne Zentrifugation oder mit wesentlich kürzeren Zentrifugationszeiten konnten selbst bei Verwerfen von 10 ml Probe keine reproduzierbaren Blindwerte erstellt werden. Mit dieser Methode wiesen Wasserproben ohne Iodin-oxidierende Substanzen (als in situ-Blindwerte betrachtet) eine Standardabweichung von 2,3 $\mu\text{mol/l}$ (n = 28) auf. Der Meßbereich entsprach dem der Flaschenmethode. Als positiven Nachweis wurden nur Werte über 10 $\mu\text{mol/l}$ angesehen. Die Standardabweichung wird hierbei auf 3 $\mu\text{mol/l}$ geschätzt.

2.7. Versuche zu regulierenden Faktoren der Denitrifikation

2.7.1. Untersuchungen zur Limitierung auf der Elektronenakzeptorseite

Um den Einfluß der verfügbaren Nitratmenge (Nitrat = Elektronenakzeptor der Denitrifikation) auf die Denitrifikation abzuschätzen, wurden die Denitrifikationsraten mit und ohne Nitratzugabe gemessen. Hierzu wurde 50 $\mu\text{mol/l}$ NaNO_3 vor der N_2 -Zugabe den Proben zugesetzt. Diese Versuche wurden mit und ohne Azetylenzusatz parallel durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten in der Wassersäule des Gotlandtiefs, der Station T und im Bornholmbecken.

2.7.2. Untersuchungen zur Limitierung auf der Elektronendonatorseite in der sauerstoffarmen Wasserschicht von Station T

Diese Untersuchungen fanden mit Wasserproben der Station T statt, die einen der Denitrifikation adäquat niedrigen Sauerstoffpartialdruck aufwiesen (O_2 : 0,14 ml/l in 120 m Tiefe). Als Elektronendonator für die Denitrifikation in marinen Systemen dient in der Regel der verwertbare organische Kohlenstoff (Hattori 1983). Um zu untersuchen, wie sich der Zusatz von organischem Material auf die Denitrifikationsrate auswirkt, wurden Acetat und Glucose in einer Konzentration von 300 $\mu\text{mol C/l}$ zugesetzt, d.h. Acetat lag in einer Endkonzentration von 150 $\mu\text{mol/l}$, und Glucose in einer von 50 $\mu\text{mol/l}$ vor. Die Lösungen waren so aufkonzentriert (360 mmol C/l), daß nur 0,1 ml/l pro 120 ml Probe (in Serumflasche) zugesetzt wurde. Die Lösungen waren auf pH 7,4 eingestellt (mit HCl, NaOH), mit N_2 begast und autoklaviert, bzw. bei Glucose sterilfiltriert. Zusammen mit der C-Quelle wurde den Proben 100 $\mu\text{mol/l}$ NaNO_3 (in derselben Lösung) zugesetzt. Um den Einfluß des organischen Materials abzuschätzen, wurden folgende Parallelmessungen mit Wasserproben desselben Schöpfers durchgeführt, wobei jeweils Vergleichsmessungen ohne Azetylenzusatz gleichzeitig erfolgten:

- a) die in situ-Denitrifikationsrate wurde mit der Azetylenblockmethode bestimmt
- b) eine Vergleichsmessung zu a) wurde unter Zugabe von 50 $\mu\text{mol/l}$ NaNO_3 durchgeführt
- c) Denitrifikationsraten wurden unter Zugabe von C-Quelle und 100 $\mu\text{mol/l}$ NaNO_3 bestimmt
- d) Parallel zu c) wurden Denitrifikationsraten unter Zugabe von 100 $\mu\text{mol/l}$ NaNO_3 ohne C-Zusatz bestimmt

Bei a) und b) handelt es sich um Versuche, die in situ-Raten wiedergeben sollten, und daher direkt nach der Probenahme durchgeführt wurden. Für die Versuche c) und d) sollten ein Potential der Bakterienbiozönose wiedergeben. Diese Proben wurden 3 Tage bei 6°C im Dunkeln vorinkubiert (vercrimpt in Serumflaschen). Da die Saprophytenzahlen dieser Probe selbst nach 12 Tagen Inkubation keine signifikante Änderung zeigten - es war auch keine Denitrifikation in dem Zeitraum der Vorinkubation festgestellt worden - ist anzunehmen, daß keine größere Änderung der Bakterienbiozönose in diesem Zeitraum stattgefunden haben. Die Reaktion nach der C-Zugabe dürfte daher in etwa der der frisch entnommenen Probe entsprochen haben.

2.7.3. Untersuchungen zur Verwertbarkeit verschiedener Elektronendonatoren an der oxisch-anoxischen Grenzschicht des Gotlandtiefs

Diese Versuche wurden 1987 im Gotlandtief durchgeführt. Ausgehend von der Beobachtung von 1986, daß die Denitrifikation auf den Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht

beschränkt war, sollte untersucht werden, welche Elektronendonatoren für eine solche Grenzschicht-Denitrifikation relevant sein könnten.

Die Untersuchungen wurden mit Wasserproben aus zwei verschiedenen Tiefen des Gotlandtiefs durchgeführt. Zum einen wurden Wasserproben von ca. 5 - 10 m unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht (140 m Tiefe) verwendet. Die Proben wurden unterhalb der Grenzschicht entnommen, um den Einfluß von Sauerstoff auf die Versuche zu vermeiden. Sauerstoff wurde als störender Parameter erachtet, da aerobe H_2S -Oxidierer gelöst, organischen Kohlenstoff in das Wasser abgeben könnten. Vor einem solchen Hintergrund wäre es dann schwierig zu entscheiden, ob die Denitrifikation durch die zugesetzten Elektronendonatoren, insbesondere H_2S und Thiosulfat, oder durch das freigesetzte organische Material der aeroben Organismen bedingt war. Weiterhin wurde angenommen, daß aufgrund vertikaler Austauschprozesse, die Bakterienbiozönose von knapp unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht noch weitgehend der der Grenzschicht entsprach, und somit eine ähnliche Reaktion in Bezug auf die Verwertung der Elektronendonatoren geben würde. Zu Vergleichszwecken wurden Wasserproben aus 180 m Tiefe parallel zu denen der Grenzschicht verarbeitet.

Die Wasserproben von unterhalb der Grenzschicht wurden innerhalb einer Stunde mit einem 10 l Niskinschöpfer (zwei Probenahmen: S1 und S2) entnommen. Die Proben enthielten keinen nachweisbaren Sauerstoff, kein Nitrat oder Nitrit und geringe Mengen an H_2S (S1: 12 $\mu\text{mol/l}$, S2: 9 $\mu\text{mol/l}$). Um sicherzugehen, daß kein Sauerstoff mehr in den Proben vorlag, der durch das H_2S kaschiert wurde (Ingvorsen und Jorgensen, 1979), wurden die Proben vorinkubiert (S1: 2 Tage, S2: 1 Tag). Zu Beginn des Versuches lag weder O_2 , noch H_2S in den Wasserproben vor. Die Proben aus 180 m Tiefe enthielten 61 $\mu\text{mol/l}$ H_2S und weder Nitrat noch Nitrit.

Nach der erwähnten Vorinkubation, wurden die Denitrifikationsraten nach Zugabe von 100 $\mu\text{mol/l}$ NaNO_3 und den im folgenden aufgeführten Elektronendonatoren bestimmt. Den Kontrollen wurde nur 100 $\mu\text{mol/l}$ NaNO_3 zugesetzt. Parallel dazu wurden Proben ohne jegliche Zusätze inkubiert.

Zugesetzte Elektronendonatoren:

Na_2S	50 $\mu\text{mol/l}$
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	50 $\mu\text{mol/l}$
Acetat	100 $\mu\text{mol/l}$
Acetat + Na_2S	50 + 25 $\mu\text{mol/l}$

Parallelen wurden immer mit und ohne Azetylenzusatz durchgeführt. In den Versuchsansätzen wurde neben der Änderung der Stickstoffkomponenten, H_2S , Thiosulfat, die Gesamtbakterienzahl und die bakterielle Biomasse bestimmt.

2.7.4. Bestimmung der Verwertbarkeit des POC

Ziel dieses Versuches war, die Verfügbarkeit des POC für die Denitrifikation zu erfassen. Untersucht wurden hierzu Wasserproben mit niedrigem Sauerstoffgehalt (O_2 : 1,3 - 0,1 ml/l), die in oder in unmittelbarer Nähe von vermuteten Denitrifikationsschichten lagen. Hierzu wurden Wasserproben luftblasenfrei und ohne Sauerstoffkontamination in 1 l-Duranguasflaschen mit Überlauf abgefüllt, und inkubiert. Die Proben wurden 12 Tage ohne Zusätze

und 100 Tage mit Zusatz von 500 $\mu\text{mol/l}$ NO_3^- inkubiert. Der Zusatz der Nitratlösung erfolgte durch eine Bohrung im Schraubdeckel, die mit einem Butylgummistopfen abgedichtet war. Der Schraubdeckel war mit einem teflonkaschierten Butylgummiseptum unterlegt. Vor und nach der Inkubation wurde POC, NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , H_2S , O_2 und die Gesamtbakterienzahl (vor und nach der GF/F-Filtration) bestimmt. Parallel zu diesen Versuchen wurde in Wasserproben aus denselben Schöpfern die Denitrifikationsraten bestimmt.

2.8. Materialien für Denitrifikationsmessungen

Auf zwei Aspekte wurde bei allen Versuchen zur Denitrifikation besonders geachtet. Dies war zum einen der Erhalt der aktuellen Konzentrationen der Gase in den Wasser- und Gasproben, insbesondere sollte eine Änderung des O_2 -Partialdruckes und der Verlust von N_2O vermieden werden. Zum anderen sollte jegliche Kontamination der Proben mit organischem Material und anorganischem Stickstoff, insbesondere Ammonium, unterbunden werden. Diese Faktoren haben wesentliche Einflüsse auf Stickstoffumsetzungen durch Nitrifikation und Denitrifikation bei der Probeninkubation. N_2O -Verluste während der Inkubation und der Lagerung der Gasproben in Vacutainer würden die Denitrifikationsraten verfälschen.

2.8.1. Vermeidung von Gasaustausch mit der Umgebung

a) Gasdichte Materialien:

Zur Abdichtung der Inkubationsflaschen wurden teflonkaschierte Butylgummisepten (Macherey-Nagel, Düren) verwendet. Das Aufbewahren der Gasproben erfolgte in 3 ml-Vacutainer (Becton-Dickinson). Zur Überleitung von Gasen wurden nur Kupferleitungen in Kombination mit Butylgummischläuchen verwendet. Butylgummi ist das gasdichteste Material, was im Handel für Septen und Schläuchen relativ preisgünstig erhältlich ist. Die Dichtheit aller Inkubationsgefäße und der Vacutainer für N_2O und O_2 wurde über mindestens 4 Wochen gaschromatographisch verfolgt. Dazu wurden die Gefäße mit Stickstoff gespült und mit N_2O in verschiedenen Mengen (0 - 5 ppmv) versetzt. Eine zeitliche Änderung der N_2O , bzw. O_2 -Konzentrationen konnte bei all den aufgeführten Materialien nicht festgestellt werden. Zum Vergleich: bei demselben Versuchsansatz mit Silikonstopfen (3 mm) konnte schon nach einer Stunde O_2 -Austausch, und nach 3 Stunden N_2O -Austausch mit der Umgebungsluft nachgewiesen werden.

b) Zusatz von gelösten Substanzen zu den Proben

Die gelösten Substanzen wurden vor dem Autoklavieren 10 min. mit N_2 perkoliert. Der Gasraum über den Lösungen wurde unter einen Überdruck mit N_2 gesetzt. Dies vermeidet Lufteintrag bei späterer Entnahme.

2.8.2. Vermeiden von Kontamination der Wasserprobe mit organischem und anorganischen Material:

a) Materialien, die in Kontakt zur Wasserprobe stehen:

Bei diesen Materialien handelte es sich ausschließlich um Glas und Teflon. Der Kontakt mit Kunststoffen wurde außer bei den Schöpfern (PVC) weitgehend vermieden. Hierbei ist insbesondere der Kontakt mit Butylgummi kritisch. Butylgummi gibt organische Substanzen an die Proben ab (G. Petrick, pers. Auskunft), die in der Lage sind, Nitrifikanten zu hemmen (V. Enoksson, pers. Auskunft).

b) Reinigen und Sterilisieren der Gefäße:

Die Glasflaschen wurden nach zweimal Maschinenspülen, mit deionisiertem Wasser und Reinstwasser (Millipore-Anlage) nachgespült. Bei den Versuchen zum POC-Abbau wurden die Flaschen nach dem Maschinenspülen noch mit 10 %iger HCl gespült. Autoklaviert wurden die Gefäße bei 180°C, 8 h im Trockenschrank.

2.8.3. Verwendete Gase

a) Eichgase:

- 327 ppbv N₂O in Luft, in Stahlkugel zur Verfügung gestellt vom Fraunhofer-Institut für atmosphärische Umweltchemie (H.Scheel)
- 5 ppm N₂O in Helium, in 10 l-Eichgasflasche von Messer-Griesheim, Lübeck, von H. Scheel (FHG) als 5ppm bestimmt
- 100 ppm N₂O in Helium, +/- 2 %, 4 l in Spraydose, Alltech Calibration Gases, Alltech Ass., Ontario, Canada
- 1000 ppm N₂O in Helium, +/- 2 %, 4 l in Spraydose, Alltech Calibration Gases, Alltech Ass., Ontario, Canada
- N₂O, Reinheit > 99 Vol%, 12 l Druckdose von Messer-Griesheim, Lübeck
- CO₂, 100 %, +/- 2 %, 4 l in Spraydose, Alltech Calibration Gases, Alltech Ass., Ontario, Canada
- O₂, 2 % in Helium, 12 l Druckdose von Messer-Griesheim, Lübeck

b) für Azetylenblockmethode:

- Azetylen, 2.6, mit Zertifikat für PH₃ < 5 vpm
- N₂, 5.0

c) für Gaschromatographie:

- Argon (95%)/ Methan (5%), ecd-Qualität

Die unter b) und c) genannten Gase wurden von Messer-Griesheim, Lübeck, bezogen.

2.9. Untersuchungen zur Azetylenblockmethode

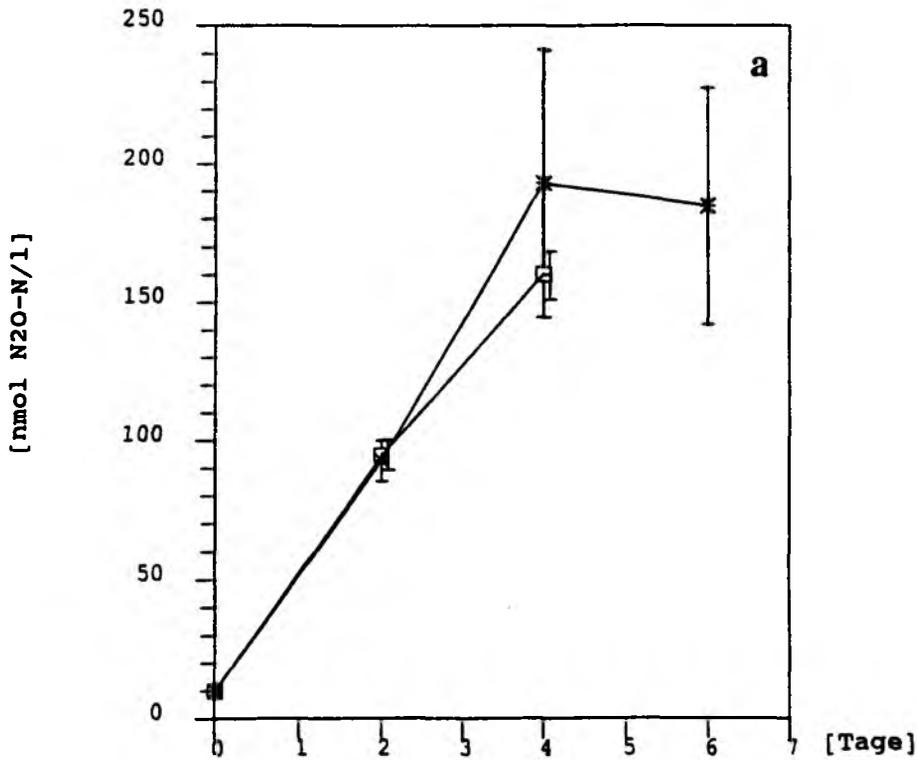
Um den Einfluß von Azetylen auf die mikrobiellen Umsetzungen abschätzen zu können, wurden bei allen Versuchen mit der Azetylenblockmethode stets Parallelen ohne Azetylen durchgeführt. In diesem Kapitel sollen nun die Versuche hinsichtlich des Azetyleneinflusses auf mikrobielle N-Umsetzungen und Bakterienwachstum ausgewertet werden, um letztlich zu einer Beurteilung für die Einsetzbarkeit der Azetylenblockmethode zu gelangen.

2.9.1. Auswirkung der Azetylenzugabe bei der Azetylenblockmethode auf mikrobielle N-Umsetzungen und Bakterienwachstum

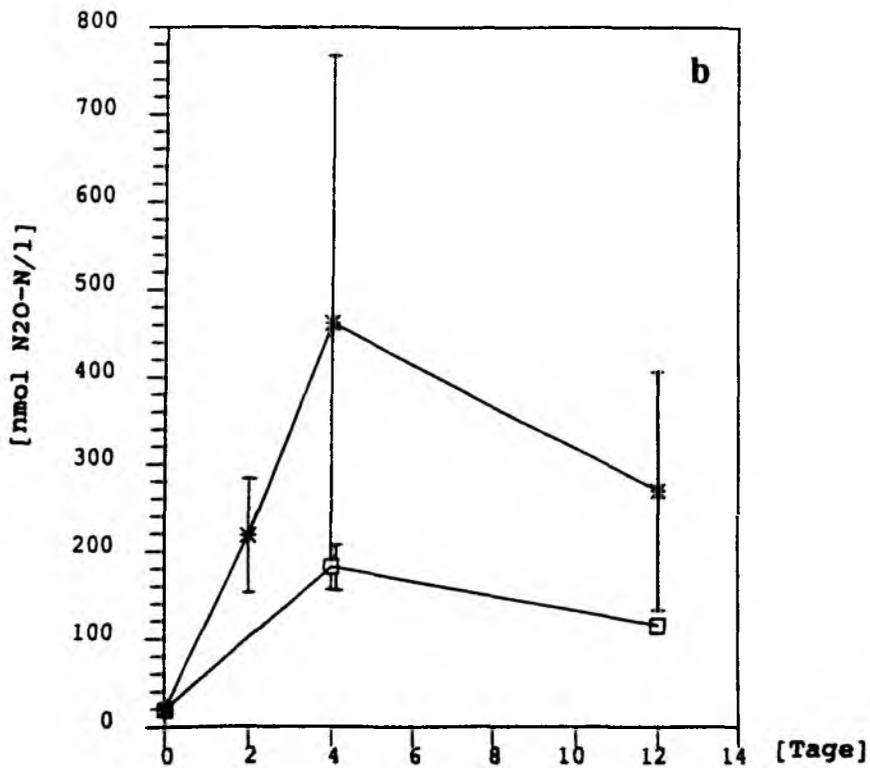
2.9.1.1. Azetyleneinfluß bei der Bestimmung von in situ-Denitrifikationsraten und Denitrifikationspotentialen unter Zusatz von Nitrat

Verlauf der Denitrifikation

Die Proben von der oxisch-anoxischen Grenzfläche des Gotlandtiefs zeigten 1986 und 1987 einen annähernd linearen Verlauf der Denitrifikation bis zu einer Inkubationszeit von 4 Tagen (s. Abb.6a,b). Dabei nimmt die Standardabweichung mit zunehmender Inkubationszeit stark



Gotland 1987 (130 m)



* = + C₂H₂
 □ = + 50 μ mol/l NO₃ + C₂H₂

Gotland 1986 (140 m)

Abb.6a,b:

Verlauf der Denitrifikation bei Inkubation mit und ohne Nitratzusatz. Bis zu 4 Tage war der Verlauf der in situ-Rate (ohne Nitrat) linear. Danach erfolgte ein Abfall der Raten.

zu. Einen ähnlichen Verlauf zeigten 1987 auch die mit Nitrat versetzten Proben. 1986 waren die Raten der Proben mit Nitrat niedriger als derjenigen ohne Nitrat.

Verlauf der Saprophytenzahl (auf ZB)

1986 wurde der Verlauf der Saprophytenzahl während der Inkubation der oben genannten Proben verfolgt. Während einer Inkubationszeit bis zu 4 Tagen blieb die Saprophytenzahl konstant. Bei 12-tägiger Inkubation zeigten alle Proben einen Anstieg, der bei den Proben ohne Azetylenzusatz am ausgeprägtesten war. Der Unterschied zwischen den verschiedenen Versuchsansätzen kann allerdings wegen der hohen Schwankungsbreite zwischen den Parallelen nicht als signifikant angesehen werden (vgl. Abb.7a).

Der Verlauf der Saprophytenzahl wurde auch in nicht denitrifizierenden Proben untersucht. Dieses waren Proben von 10 m oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht im Gotlandtief (1986: 130 m), und Proben aus zwei Tiefen der suboxischen Wassersäule von Station T (1986: 100 m und 120 m).

Bei den Proben aus dem Gotlandtief (130 m) blieben die Saprophytenzahlen bis 2 Tage Inkubationszeit konstant. In den folgenden beiden Inkubationstagen war ein leichter Anstieg zu verzeichnen. Bei der 12-tägigen Inkubation gab es nur geringe Unterschiede zwischen den Ansätzen mit und ohne Azetylenzusatz. Ein starker Anstieg trat hingegen bei Zusatz von NO_3^- und Azetylen auf (s. Abb.7b).

Vergleicht man die Wasserproben von 130 und 140 m aus dem Gotlandtief miteinander, so sieht man eine ähnliche Tendenz: Zu Anfang der Inkubationszeit (bis 2 oder 4 Tagen) traten keine Änderungen der Saprophytenzahlen bei Proben mit Azetylenzusatz auf. Nach 12-tägiger Inkubation war ein Anstieg zu verzeichnen, wobei die Proben mit Azetylenzusatz etwas von denjenigen ohne Azetylenzusatz übertroffen wurden (vgl. Abb.7c).

Bei den Proben von Station T zeigte sich kein Einfluß durch Azetylen oder Azetylen + Nitrat auf die Saprophytenzahl. Nach 12-tägiger Inkubation zeigten die 3 verschiedenen Versuchsansätze keine signifikant unterschiedlichen Werte. Bei den Proben aus 100 m Tiefe erfolgte in dieser Zeit ein Abfall der Saprophytenzahlen von ca. 2200 auf ca. 500 Saprophyten/ml (vgl. Abb.8a). Die Proben aus 120 m dagegen wichen nur geringfügig von dem Anfangswert ab (vgl. Abb.8b).

Bei allen hier genannten Untersuchungen konnte kein signifikanter Einfluß des Azetylenzusatzes auf die Saprophytenzahl ausgemacht werden. Die Änderung der Saprophytenzahl in den ersten 2 - 4 Tagen ist in der Regel nur geringfügig. Nimmt man die Änderung der Saprophytenzahl als Kriterium für die Änderung der Bakterienbiozönose, so sollten sich innerhalb der ersten 4 Tagen der Inkubation der Wasserproben bei 5°C keine größeren Änderungen der Biozönose ergeben haben.

2.9.1.2. Verlauf der Nettonitrifikation

Die Änderungen der Nitrit- und Nitratkonzentrationen (als Nettonitrifikation bezeichnet, da Verlustprozesse von Nitrat hier nicht miteinfaßt werden) mit und ohne Azetylenzusatz wurde bei Wasserproben im Gotlandtief 1986 und 1987 und an Station T verglichen. Die zeitlichen Änderungen sind im Profil der Wassersäule in den Abbildungen 9,10 und 11a,b wiedergegeben. In den Abbildungen 12 a-d ist der zeitliche Verlauf der Nitratänderung

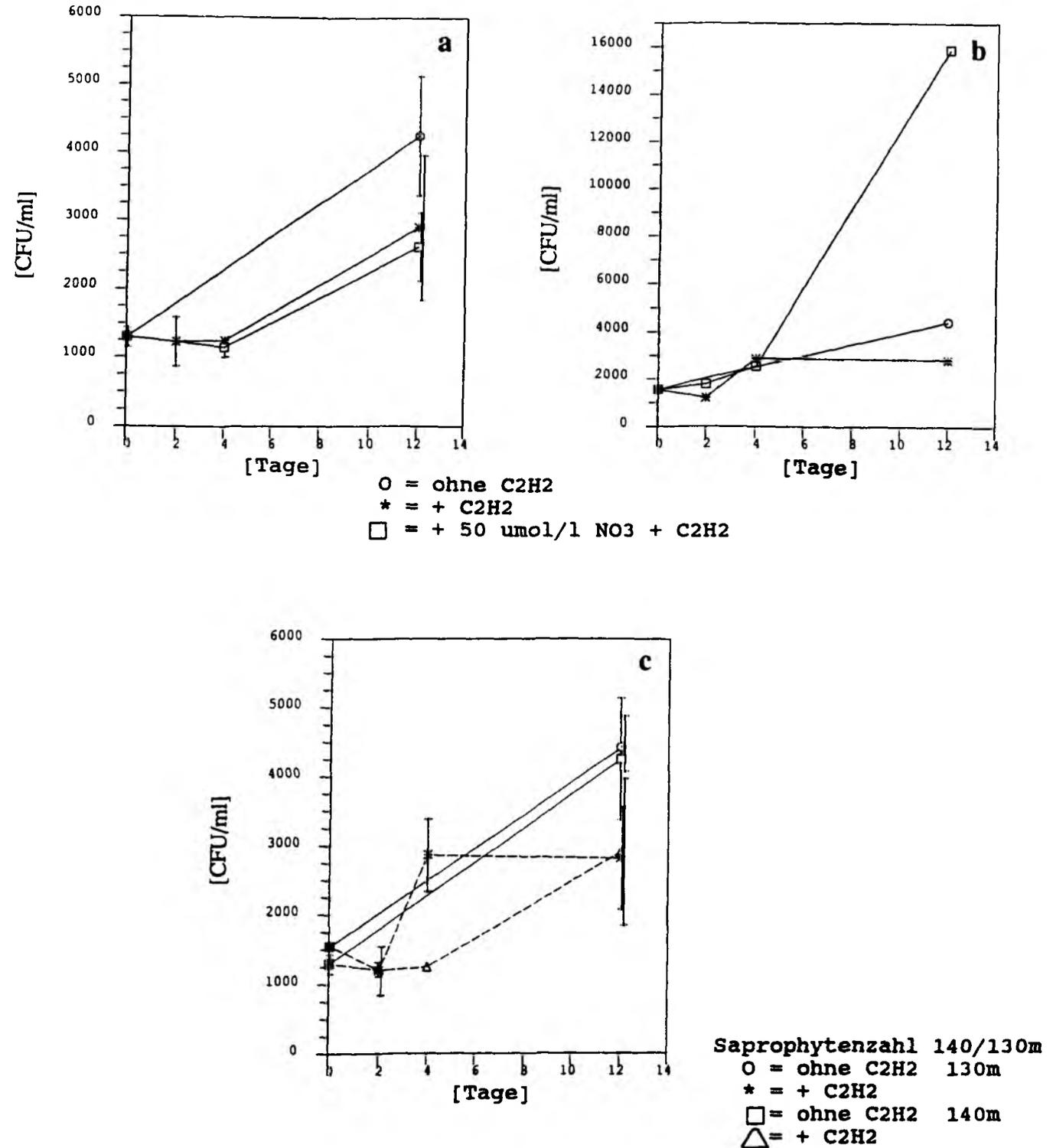


Abb.7a-c:

Verlauf der Saprophytenzahlen (aerob auf ZB) bei Inkubation von Proben aus der denitrifizierenden oxisch-anoxischen Grenzschicht (140 m = a) des Gotlandtiefs 1986, und aus der nicht-denitrifizierenden Schicht 10 m darüber (130 m = b). Vergleich des Verlaufs mit und ohne Azetylenzugabe, und mit Azetylen + NO_3^- -Zusatz. In Abb.c ist der Verlauf mit und ohne Azetylenzusatz aus 130 und 140 m vergleichend in einer Grafik dargestellt.

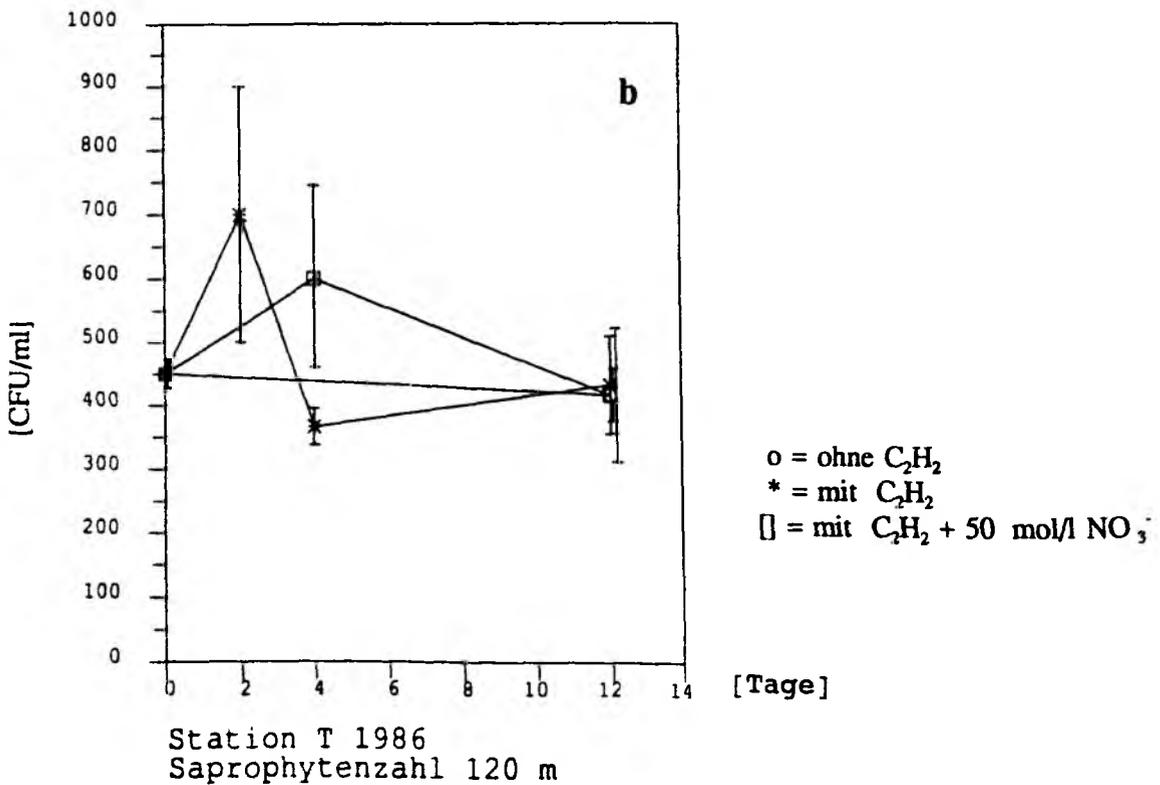
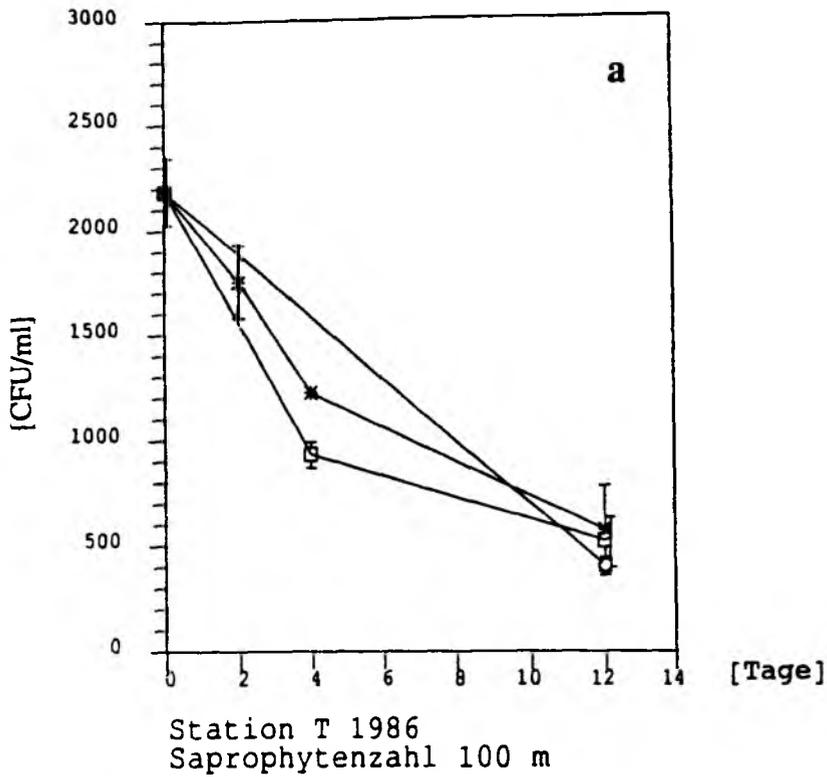


Abb.8a,b:

Verlauf der Saprophytenzahlen (aerob auf ZB) bei Inkubation von Proben aus der nicht-denitrifizierenden, suboxischen Wasserschicht von Station T (a = 100 m, b = 120 m). Vergleich des Verlaufs mit und ohne Azetylenzugabe, und mit Azetylen + NO₃⁻-Zusatz.

Abb.9

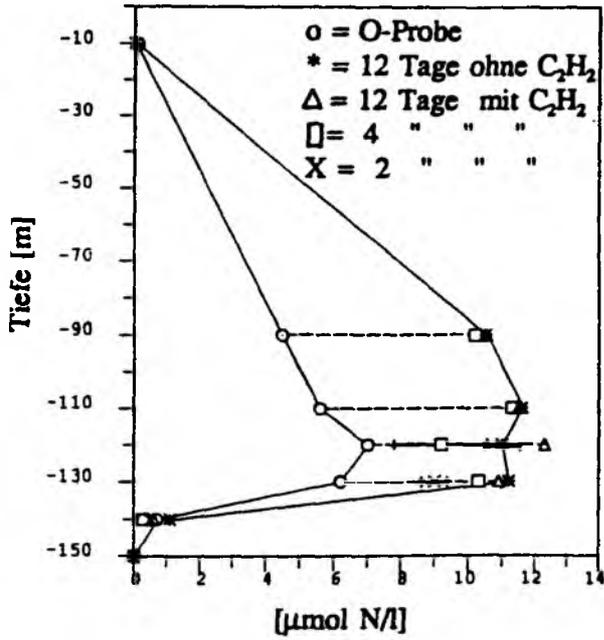


Abb.10

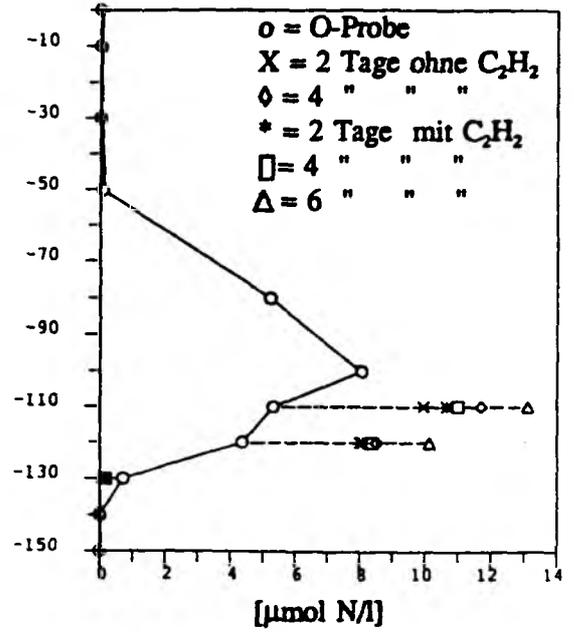


Abb.9 u. 10:

Änderungen der Nitratkonzentration in Proben aus der oxischen Wassersäule des Gotlandtiefs (1986 = Abb.9, 1987 = Abb.10) bei Inkubation mit und ohne Azetylenzusatz.

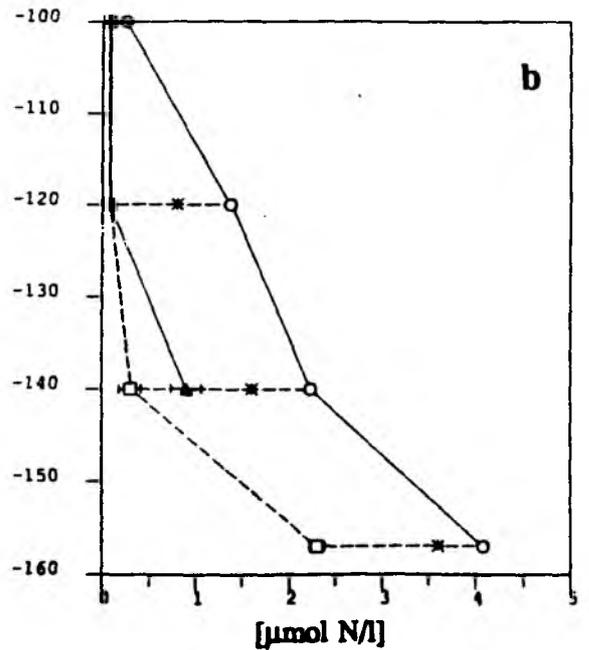
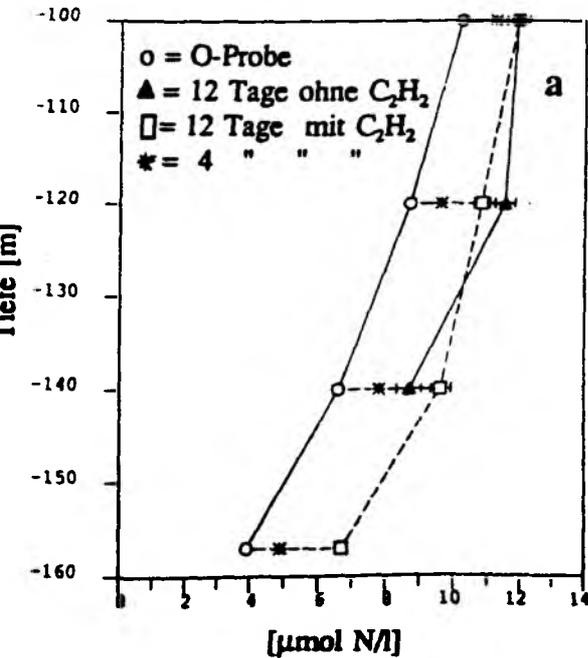


Abb.11:

Nitratzunahme (= a) und Nitritabnahme (= b) bei Wasserproben aus der suboxischen Wasserschicht von Station T mit und ohne Azetylenzusatz.

oberhalb und an der oxisch-anoxischen Grenzfläche während einer 6-tägigen Inkubation mit und ohne Azetylenzusatz widergegeben. Ein signifikant unterschiedlicher Verlauf der Nitratzunahme war bei diesen Versuchen nicht feststellbar. Da im Gotlandtief das Nitrit nur eine sehr untergeordnete Rolle spielte (max. 5 % des Nitrats in den nitrifizierenden Wasserschichten), wurde die zeitliche Nitritänderung hier nicht dargestellt.

Die Zunahme an Nitrat, sowie die Abnahme an Nitrit in Wasserproben aus der suboxischen Wassersäule ($>0,22$ ml O_2/l) der Station T nach einer Inkubationszeit von 12 Tagen ist in Abbildung 13 dargestellt. Die Wasserproben aus 100 m Tiefe zeigten mit und ohne Azetylenzusatz identische Nitritabnahme und Nitratzunahme. Bei den Proben aus 120 m Tiefe fand bei identischer Nitritabnahme eine verstärkte Nitratbildung statt, wenn kein Azetylen zugesetzt war. Die Proben aus 140 m hingegen zeigten bei Zusatz von Azetylen sowohl eine verstärkte Nitritabnahme, als auch eine etwas höhere Nitratzunahme (auch nach Abzug der verzeichneten Nitritabnahme). Auch bei den Proben aus 157 m Tiefe konnte in Anwesenheit von Azetylen Ammoniumoxidation nachgewiesen werden. Bei dieser Tiefe wurde keine Parallelinkubation ohne Azetylen durchgeführt. In Proben dieser Tiefe wurde gleichzeitig Denitrifikation nachgewiesen.

Bei den dargestellten Untersuchungen konnte keine eindeutige Auswirkung des Azetylen auf die Nitrifikation festgestellt werden, soweit diese durch das Messen der Zunahme von Nitrat und Abnahme von Nitrit bei der Inkubation der Wasserproben erfaßt werden kann. Während die 120 m-Probe eine Hemmung der Ammoniumoxidation durch Azetylen anzeigt, wirkt sich der Azetylenzusatz bei der 140m-Probe eher fördernd aus. Insgesamt gesehen sind die Unterschiede allerdings zu geringfügig als daß von einer hemmenden oder fördernden Wirkung gesprochen werden könnte.

2.9.1.3. Azetyleneinfluß bei anoxischen Wasserproben aus dem dem Gotlandtief unter Zusatz von Nitrat und verschiedenen Elektronendonatoren

Wasserproben aus dem anoxischen Teil der Wassersäule des Gotlandtiefs wurden unter Zugabe von NO_3^- und verschiedenen Elektronendonatoren (H_2S , H_2S + Acetat, Acetat, Thiosulfat) inkubiert. Die Wasserproben wurden 1987 von ca. 5 m unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht (140 m) und aus 180 m Tiefe entnommen, und enthielten zu Beginn der Inkubation kein H_2S (140 m), bzw. $60 \mu\text{mol/l}$ H_2S (180 m). Nach den Substratzusätzen zeigten die Wasserproben Denitrifikation, Nitratreduktion und eine Zunahme der Gesamtbakterienzahl in unterschiedlichem Ausmaß. Als Kriterien zur Bewertung des Azetyleneinflusses wurden Nitratreduktion und Änderung der Gesamtbakterienzahl herangezogen.

Einfluß auf die Nitratreduktion

Als Maß für die Nitratreduktion wurde die Nitratabnahme in der Probe während der Inkubation gewertet. Da in den Proben ausreichend Ammonium für das Bakterienwachstum vorlag, ist anzunehmen, daß Nitrat in erster Linie dissimilatorisch reduziert, und nur in vernachlässigbaren Mengen assimilatorisch reduziert und in die bakterielle Biomasse aufgenommen wurde. Da keine Zunahme der Ammoniumkonzentrationen während der Inkubation der Proben zu verzeichnen war, dürfte die Nitratammonifikation nur eine untergeordnete Rolle spielen. Die Abnahme der Nitratkonzentration kann daher in erster Näherung als Nitratreduktion im Sinne des ersten Reduktionsschrittes der Denitrifikation betrachtet werden.

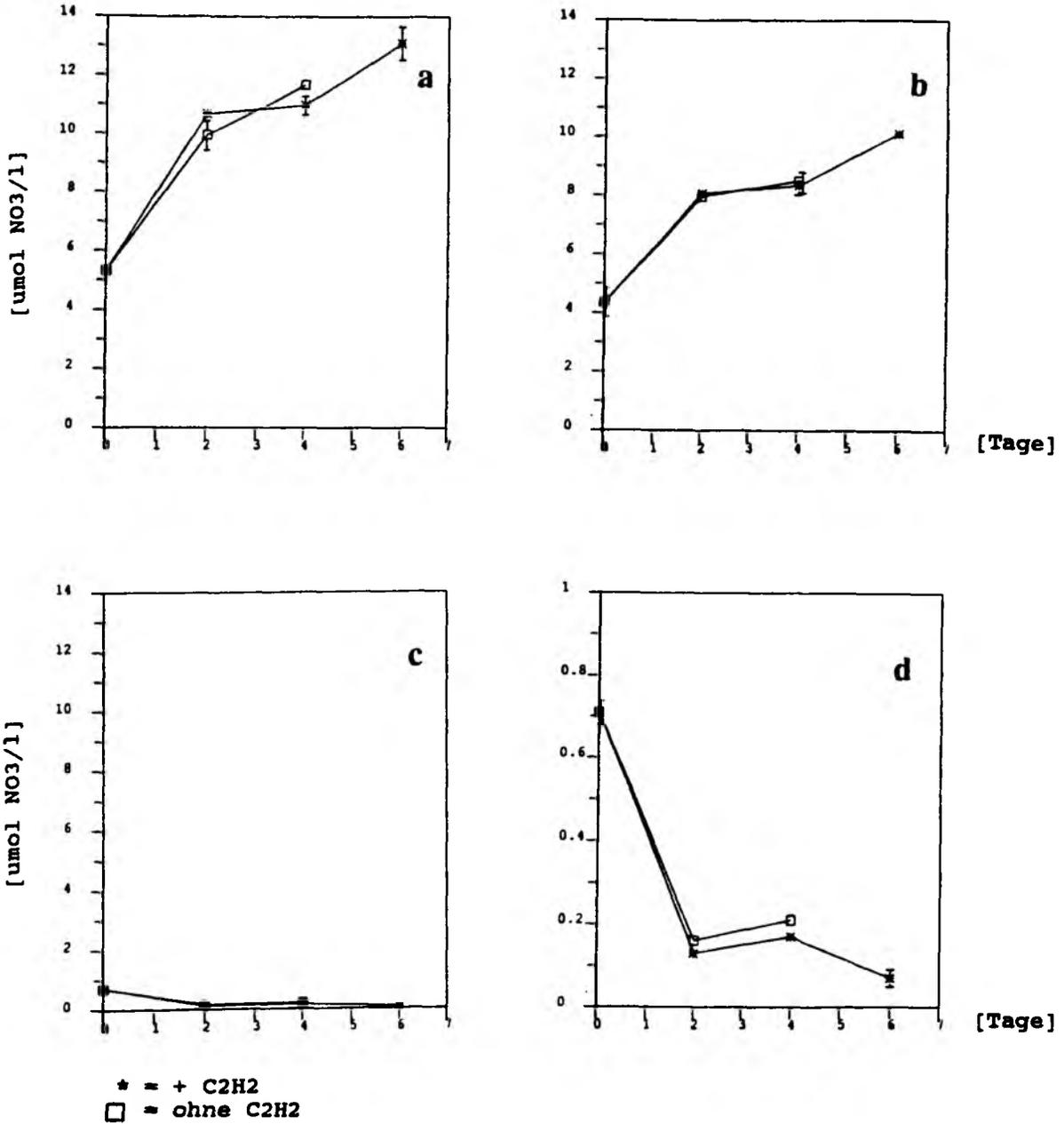


Abb.12a-d:

Zeitlicher Verlauf der Nitratänderungen mit und ohne Azetylenzusatz bei Proben aus der sauerstoffarmen Wasserschicht von 110 bis 130 m des Gotlandtiefs (1987). Abb. c und d zeigen die gleiche Probe aus 130m, in Abb.c ist als Vergleich zu a und b der Verlauf im gleichen Maßstab dargestellt.

a = 110 m, b = 120 m, c,d = 130 m

Bei den Proben von unterhalb der Grenzschicht (140 m) zeigte sich ein signifikanter Einfluß auf die Nitratreduktion nur bei Zusatz einer Mischung von Acetat (50 $\mu\text{mol/l}$) und von H_2S (25 $\mu\text{mol/l}$). Der Zusatz von Azetylen hat hierbei einen hemmenden Einfluß (vgl. Abb.14a,b). Bei den Proben aus 180 m Tiefe konnte bei allen Substratzusätzen eine starke Hemmung der Nitratreduktion festgestellt werden. (vgl. Abb.15a,b). Bei allen Proben mit durch Azetylen gehemmter Nitratreduktion waren nach einer 4-tägigen Inkubationszeit 20 - 28 $\mu\text{mol/l NO}_3^-$ weniger reduziert als bei den Proben ohne Azetylenzusatz

Einfluß auf die Gesamtbakterienzahl

Bei den 140 m-Proben mit Zugabe von Acetat/ H_2S und H_2S wirkte der Azetylenzusatz sich stark hemmend auf die Zunahme der Bakterienzellzahl aus. Eine schwächere Hemmung trat bei Zugabe von Acetat als Elektronendonator auf (vgl. Abb.16a,b). Bei den 180 m-Proben trat bei allen Versuchsansätzen eine Hemmung der Zellzahlzunahme durch Azetylen auf (vgl. Abb.17a,b).

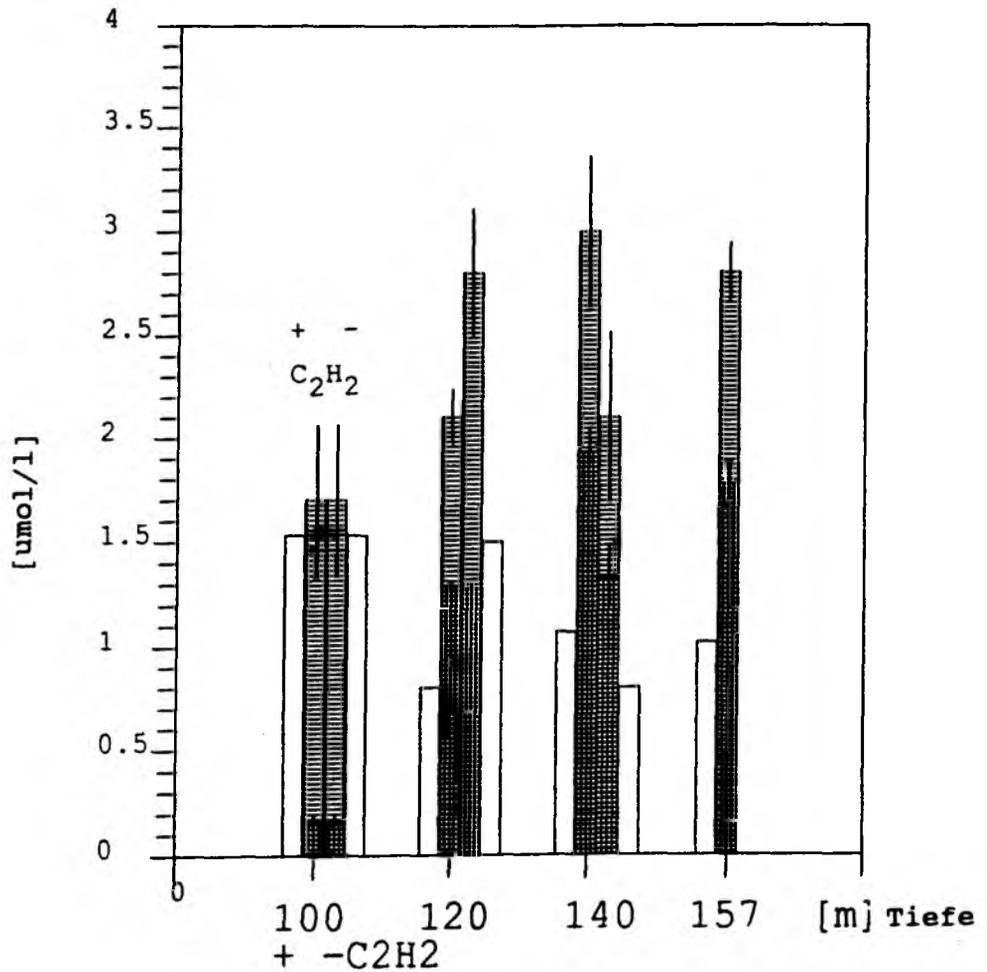
Alle Versuchsansätze, die eine Hemmung der Nitratreduktion aufwiesen, zeigten gleichzeitig auch eine Hemmung der Zellzahlzunahme. Es ist daher naheliegend anzunehmen, daß Azetylen das Wachstum der in diesen Ansätzen für die Nitratreduktion und eventuell auch für die weitere Denitrifikation verantwortlichen Bakterien hemmt.

2.9.2. Beurteilung der Azetylenblockmethode zur Ermittlung von Denitrifikationsraten in der Wassersäule der zentralen Ostsee

Wie aus den Untersuchungen zum Azetyleneinfluß hervorgeht, dürfte die Erfassung der Denitrifikationsraten mit Hilfe der Azetylenblockmethode die tatsächlichen Denitrifikationsraten widerspiegeln haben. Inkubationszeiten bis zu 4 Tagen bei in situ-Temperatur zeichneten sich dabei als am günstigsten ab. In diesem Zeitraum war der Verlauf der Denitrifikation linear. Die bakterielle Biozönose, zumindest soweit sie durch die Saprophytenzahl wiedergespiegelt wird, zeigte in diesem Zeitraum keine Veränderung.

Bei allen Proben mit und ohne Zusatz von Elektronendonatoren erfolgte eine Blockierung der N_2O -Reduktase durch Azetylenzusatz. In keinem Fall kam es bei 4-tägiger Inkubation zu einer Zehrung von N_2O . Dies war auch bei Anwesenheit von H_2S und Thiosulfat der Fall. Selbst Zusatz von 50 $\mu\text{mol/l H}_2\text{S}$ bzw. S_2O_3 bedingte keine Aufhebung des Azetylenblocks. Sørensen et al. (1987) erhielten bei Untersuchungen mit *Pseudomonas aeruginosa* schon eine Aufhebung des Azetylenblocks bei H_2S -Konzentrationen über 2 $\mu\text{mol/l}$. Tam und Knowles (1979) zeigten, daß die Aufhebung des Blocks zumindest für Inkubationszeiten bis zu 4 Tagen gegenkompensiert wurde durch eine Anhebung der Azetylenkonzentration über 11%. Diese Befunde wurden mit Bodenproben und *Pseudomonas aeruginosa* erzielt. Für *Thiobacillus denitrificans* stellten Tam und Knowles (1979) keine Aufhebung des Azetylenblocks durch H_2S fest.

Eine eindeutige Auswirkung der Azetylen auf die Nitrifikation zeichnete sich nicht ab. Dies steht im Widerspruch zu zahlreichen Publikationen (Hynes und Knowles, 1978), die zeigen daß schon ein Tausendstel der hier eingesetzten Azetylenzugaben die Ammoniumoxidation durch autotrophe Nitrifikanten vollständig hemmen konnten. Eine mögliche Erklärung könnte sein, daß hier heterotrophe Nitrifikation vorgelegen hatte, die nicht durch Azetylen gehemmt wird (Hynes und Knowles, 1982). Da Nitrifikation als autotropher Prozeß in der Wassersäule



- ▨ = Gesamtnitratzunahme
- ▩ = Nitritabnahme
- = Differenzbetrag NO₃⁻ - Zunahme - NO₂⁻ - Abnahme

Abb.13:

Nitritabnahme und Nitratzunahme bei Wasserproben aus der suboxischen Wasserschicht von Station T. Vergleich der Veränderungen mit und ohne Azetylenzusatz nach 12-tägiger Inkubation. Bei den 4 Säulen pro Tiefenstufe stellt das linke Säulenpaar jeweils die Änderungen mit Azetylenzusatz dar, das rechte Paar diejenigen ohne Zusatz. Die Gesamthöhe der schraffierten Säule entspricht der registrierten Nitratzunahme, der längs-schraffierte Bereich davon ist die verzeichnete Nitritabnahme. Die Differenz aus Nitratzunahme und Nitritabnahme ist zusätzlich als unschraffierte Säule dargestellt. Diese Differenz entspricht der Nitratmenge die durch Oxidation von Ammonium und nicht durch Oxidation von Nitrit entstanden sein mußte.

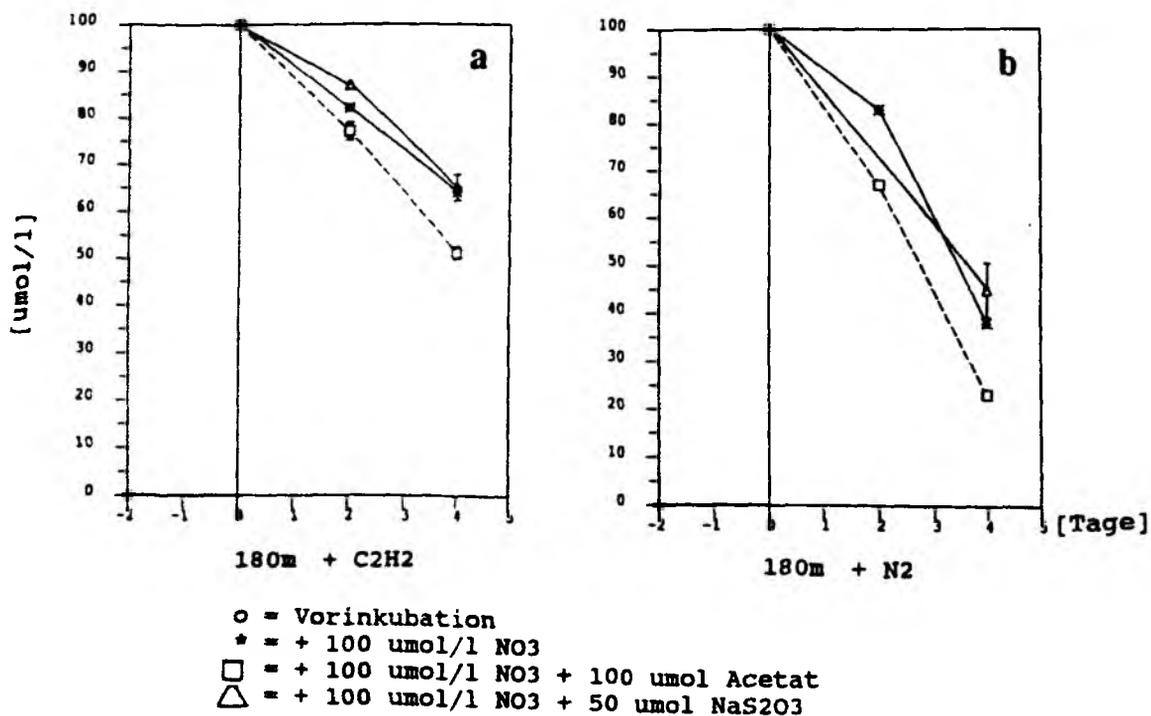
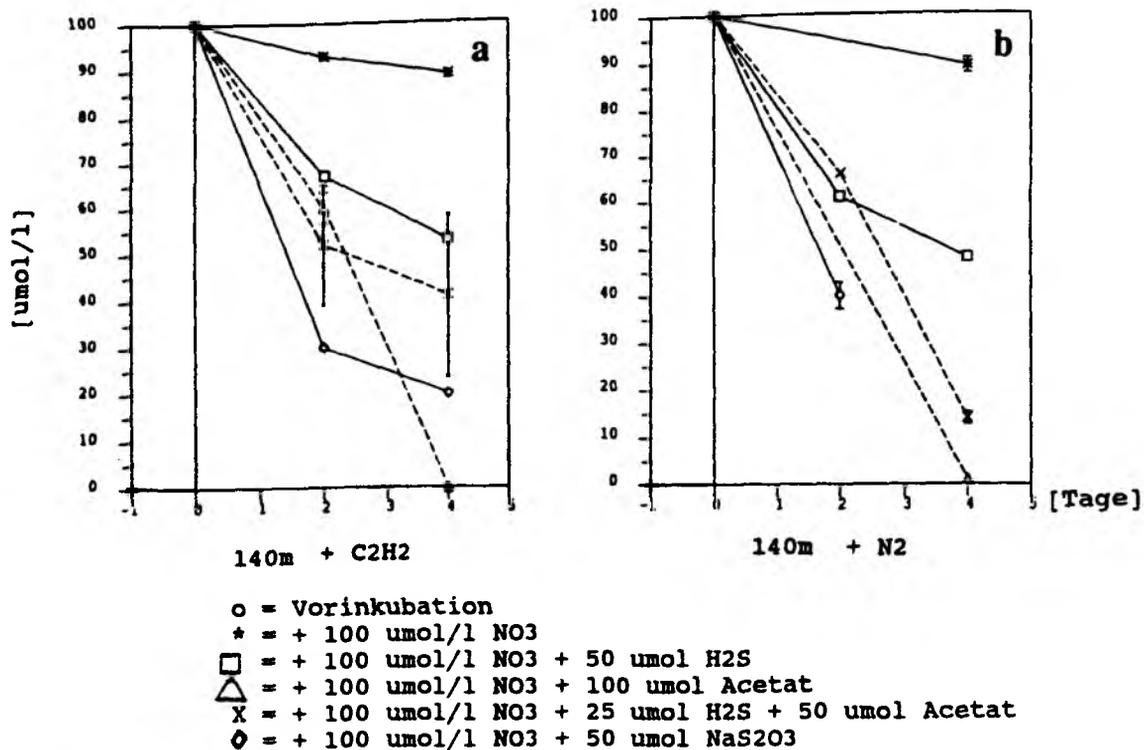


Abb.14 u.15:

Verlauf der Nitratreduktion mit (a) und ohne Azetylenzusatz (b) in denitrifizierenden Wasserproben aus dem Gotlandtief (140 m = Abb.14a,b, 180 m = Abb.15a,b) nach Zusatz unterschiedlicher Elektronendonatoren und Nitrat.

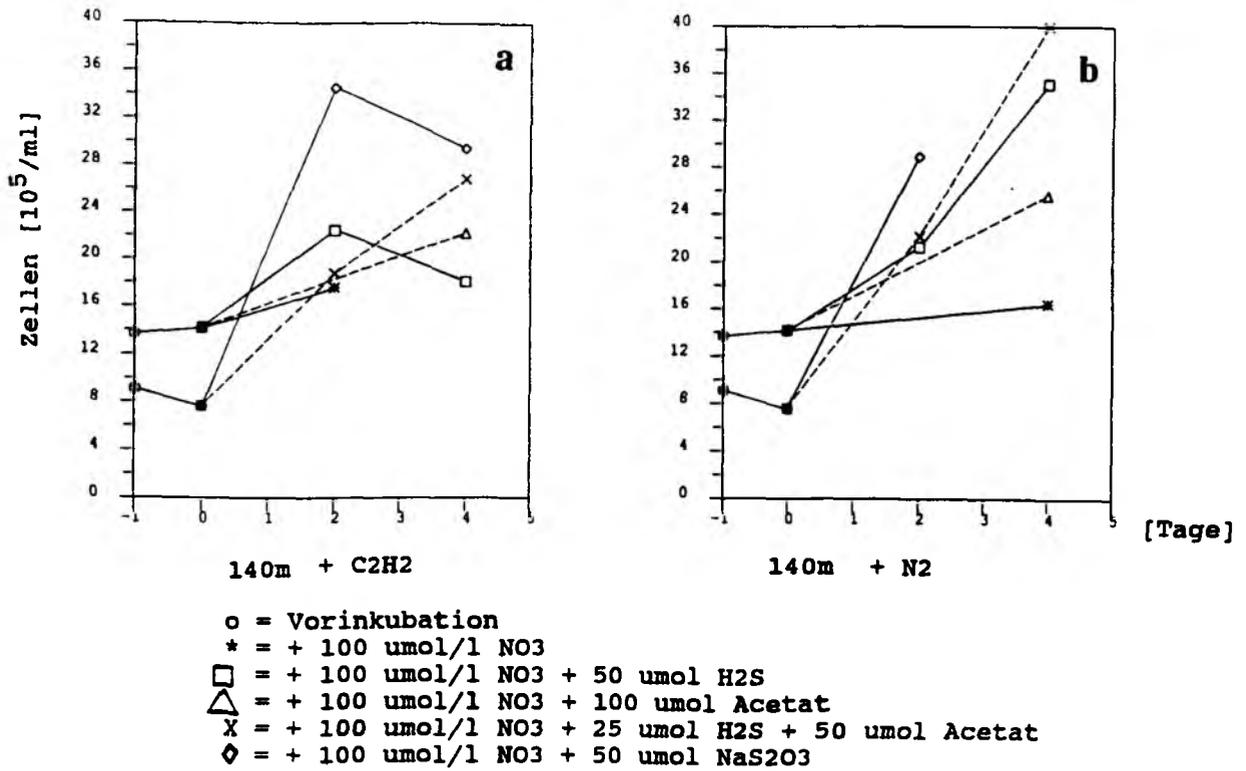


Abb.17

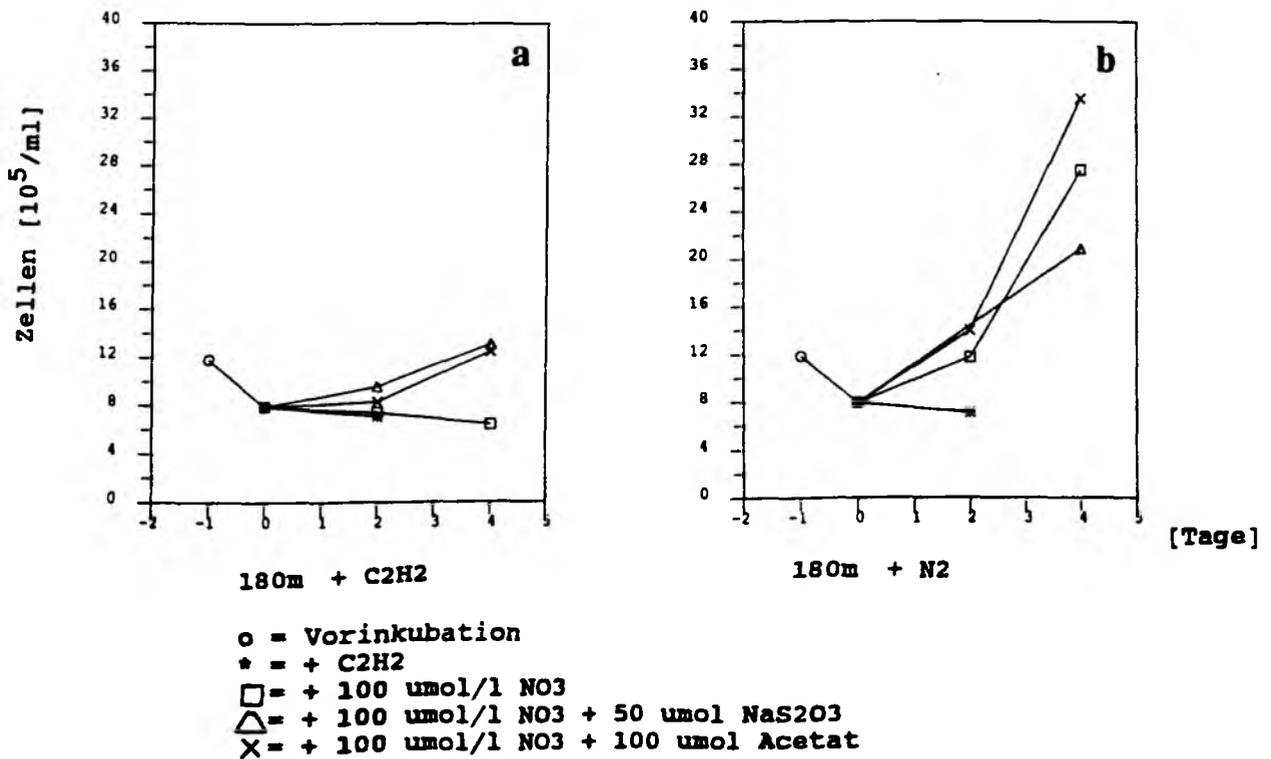


Abb. 16, 17:

Änderungen der Zellzahlen bei Inkubation mit (a) und ohne Azetylen (b) von denitrifizierenden Wasserproben aus dem Gotlandtief (140 m = Abb.16a,b, 180 m = Abb.17a,b.) nach Zusatz unterschiedlicher Elektronendonatoren und Nitrat.

der zentralen Ostsee von Enoksson (1986) nachgewiesen wurde, ist diese Erklärung eher unwahrscheinlich. Für die untersuchten Wasserproben wäre eine Nitrifikationshemmung wahrscheinlich ohne größeren Einfluß auf die Denitrifikationsrate gewesen, da bei der 4-tägigen Inkubation stets nur ein Bruchteil des vorliegenden Nitrat und Nitrit oxidiert wurde, und selbst der Zusatz von 50 $\mu\text{mol/l}$ Nitrat nur in der suboxischen Wasserschicht von Station T zu einer Erhöhung der Denitrifikationsrate führte.

Der Zusatz von Azetylen bewirkte nie eine Steigerung der Stickstoffumsetzungen oder des Bakterienwachstums. Für eine bakterielle Nutzung des Azetylens, wie sie von Culbertson et al. (1981) für anaerobe Küstensedimente, sowie von Tam et al. (1983) für aerobe Flußsedimente, und für hiervon isolierte aerobe Bakterien berichtet wurde, ergaben sich keine Hinweise.

Bei Versuchsansätzen mit Elektronendonatorzusatz ergab sich in einigen Fällen eine Hemmung der Nitratreduktion, sowie des Zellwachstums. Unter Hemmung wird hierbei die verringerte Umsatzleistung der Proben mit Azetylenzusatz gegenüber denjenigen ohne Zusatz verstanden. In allen Fällen handelte es sich nie um eine 100%-ige Hemmung, sondern um eine Senkung der Umsatzleistung innerhalb der angewandten Inkubationszeit. Dabei war die Auswirkung auf die Zellzahlzunahme stärker ausgeprägt und häufiger anzutreffen, als die Senkung der Nitratreduktion.

Sowohl die Herkunft der Wasserproben, als auch das Vorliegen verschiedener Elektronendonatoren schienen für die Ausprägung der Hemmwirkung eine Rolle zu spielen. Während die Proben von knapp unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht nur eine leichte Hemmung der Nitratreduktion nur bei gleichzeitigem Vorliegen von H_2S und Acetat zeigten, trat bei Wasserproben aus dem anoxischen Tiefenwasser (180 m) des Gotlandtiefs eine Hemmung bei allen Elektronendonatoren auf. Da bei allen Fällen von Hemmung der Nitratreduktion gleichzeitig eine Hemmung der Bakterienzellzahlzunahme vorlag, liegt die Annahme nahe, daß die Wachstumshemmung Ursache der Nitratreduktion war. Dies ist umso wahrscheinlicher, als davon auszugehen ist, daß die Anzahl der nitratreduzierenden Bakterien im oxisch-anoxischen Grenzbereich größer war, als im anoxischen H_2S -reichen Tiefenwasser. Eine Wachstumshemmung dürfte daher bei letzteren Proben einen sehr viel größeren Einfluß auf die Nitratreduktionsrate gehabt haben, als bei den Proben aus dem grenzschichtnahen Bereich.

Der Zusatz von Azetylen hat auf viele mikrobielle Stoffumsetzungen eine hemmende Wirkung. Die Hemmung der autotrophen Ammoniumoxidation, der Stickstofffixierung, der Methanoxidation und der Methanogenese sind dabei wohl die wesentlichsten Prozesse. Einen Überblick hierüber geben Knowles (1982) sowie Oremland und Capone (1988). Neuere Untersuchungen über Verunreinigungen im Azetylen von Hyman und Arp (1987) deuten allerdings darauf hin, daß viele Effekte, die dem Azetylen zugeschrieben wurden, eventuell auf die Verunreinigungen des Azetylens zurückzuführen sind. Dabei könnte vor allem Phosphin (PH_3), eine stark metallkomplexierende Verunreinigung, als möglicher Hemmer von Metalloenzymen agieren. Phosphin wurde von den Autoren sowohl in Carbid-produziertem, als auch bei kommerziellem ungereinigtem Flaschenazetylen in Konzentrationen zwischen 400 und 600 ppm angetroffen. In gereinigtem Flaschenazetylen konnte es hingegen nicht mehr nachgewiesen werden. Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Azetylen handelte es sich um gereinigtes und auf PH_3 hin (< 5 ppm) kontrolliertes Flaschenazetylen. Bei der Ammoniumoxidase der autotrophen Nitrifikanten handelt es sich mit aller Wahrscheinlichkeit um ein kupferhaltiges Enzym (Wood 1988), das durch kupferkomplexierende Substanzen

inaktiviert werden kann (Hooper und Terry, 1973). Ob das Verwenden von PH_3 -freiem oder zumindest sehr PH_3 -armem Azetylen in Zusammenhang mit der nichterzielten Hemmung der Nitrifikation steht, bliebe noch abzuklären.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Azetylenblockmethode bei den vorliegenden Untersuchungen durchaus geeignet war, in situ-Raten zu erfassen. Ein Vergleich der Stickstoffumsetzungen mit Proben ohne Azetylen ist sehr hilfreich, um die die Umsetzungen z.T. verlangsamende Wirkung des Azetylens abschätzen zu können. Letzteres kommt insbesondere bei Substratzugabeversuchen zum Tragen, da die verlangsamende Wirkung in erster Linie einer Wachstumshemmung zugeschrieben wird. Bei Messungen von in situ-Raten dürfte diese Hemmung daher keine wesentliche Rolle spielen, da den gemessenen Umsetzungen kein Wachstum vorgeschaltet ist.

Anmerkung zu Statistik und Grafiken:

Die Statistik wurde mit dem Softwarepaket "Statgraphics" (Statistical Graphics Corporation, STSC Inc., U.S.A., 1986) erstellt. Bei den dargestellten Regressionen ist stets die 95 %-Vertrauensgrenze (am nächsten der Ausgleichsgerade) und die 95 %-Vorhersagegrenze (= prediction limits, von der Ausgleichsgerade weiter entfernte Markierung) dargestellt. Bei Verlaufskurven ist die Standardabweichung (s) des Mittelwertes (\bar{x}) eingetragen.

3. ERGEBNISSE

3.1. Denitrifikation und Stickstoffumsetzungen in der Wassersäule des Gotlandtiefs im Sommer 1986 und 1987

3.1.1. Beschreibung der abiotischen Faktoren

Bei der Beprobung im Sommer '86 und '87 wurden typische Sommerbedingungen im Gotlandtief angetroffen. Das Tiefenprofil des Gotlandtiefs war charakterisiert durch zwei ausgeprägte Dichtesprungschichten: die Thermokline in 20 m Tiefe, und die permanente Halokline in 50-70 m Tiefe. Die Primärproduktion des Phytoplanktons beschränkte sich auf die oberen 20 m (Gocke 1989).

In Bezug auf die Sauerstoffkonzentrationen kann die Wassersäule des Gotlandtiefs in drei Bereiche eingeteilt werden: die sauerstoffreiche Wasserschicht bis in 50 m Tiefe, die sauerstoffarme Zone unterhalb der Halokline und das sauerstofffreie H_2S -haltige Tiefenwasser. Bis 50 m Tiefe lagen die Sauerstoffkonzentrationen im Sättigungsbereich. Im Bereich der Halokline sank die Sauerstoffkonzentration stark ab. Unterhalb von 80 m bis zur Chemokline lag eine Zone mit stark reduziertem Sauerstoffgehalt (0,5 - 1,6 ml O_2/l) vor. Absolute Sauerstofffreiheit trat erst bei Kontakt mit der H_2S -haltigen Schicht auf. Im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht lagen H_2S und O_2 in geringen Konzentrationen gleichzeitig vor (vgl. Abb.18a u. 20a).

Die oxisch-anoxische Grenzschicht lag 1986 in 130 - 140 m Tiefe, 1987 in 120 - 130 m Tiefe. Die H_2S -Konzentrationen stiegen ausgehend von der Chemokline mit zunehmender Tiefe an, z.T. konnte ein linearer Konzentrationsanstieg zum Sediment hin festgestellt werden. Einen ähnlichen Verlauf wie das H_2S zeigte die Konzentration der Iodin-oxidierbaren Äquivalente (vgl. Thiosulfatbestimmung, Kap.2.6.) (Abb.20a). Unter Iodin-oxidierbaren Substanzen werden reduzierte Verbindungen zusammengefaßt, die ebenso wie Thiosulfat in der Lage sind, Iodin (I_2) zu Iodid (I^-) zu reduzieren, und daher mit der Titrationsmethode zum Nachweis von Thiosulfat miterfaßt werden. Die ausgeprägten Konzentrationsänderungen von O_2 , H_2S und Ammonium an der oxisch-anoxischen Grenzschicht werden durch die Darstellung der Konzentrationsänderung gegen die Tiefe besonders deutlich hervorgehoben (vgl. Abb.21).

NO_3^- und NH_4^+ waren die Hauptkomponenten des anorganischen Stickstoffs. In der O_2 -haltigen Wasserschicht lagen in der Regel nur geringe Ammoniumkonzentrationen vor, meist weniger als 1 $\mu mol/l$. In der oxischen Wassersäule waren NH_4^+ -Anstiege unterhalb der Thermokline, sowie im Bereich der Halokline zu verzeichnen. In der anoxischen Wassersäule stiegen die Ammoniumkonzentrationen parallel zu den H_2S -Konzentrationen zum Sediment hin an.

Nitrat wurde in der oxischen Wasserschicht unterhalb von 30 m Tiefe angetroffen. Die Nitratkonzentrationen erreichten ein ausgeprägtes Maximum oberhalb der Chemokline in dem sauerstoffarmen Bereich der Wassersäule. Die maximalen Nitratwerte zwischen 6,1 und 12,5 $\mu mol/l$ wurden bei Sauerstoffkonzentrationen zwischen 0,5 und 1,6 ml/l (= 22 - 71 $\mu mol O_2/l$) angetroffen.

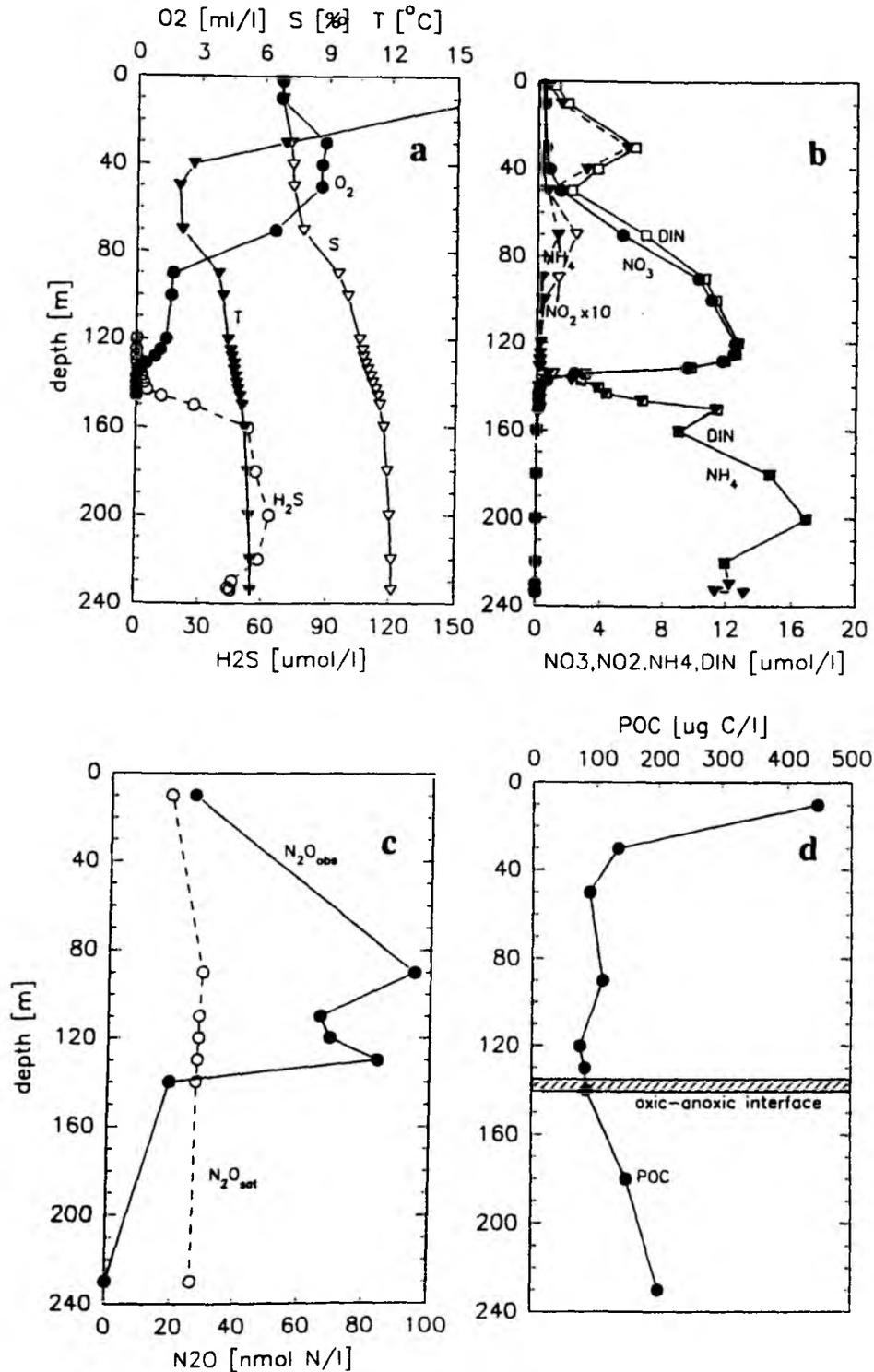


Abb.18:

Tiefenprofil des Gotlandtiefs 15.8.-17.8.1986

18a: Verlauf von Salinität (S), Temperatur (T), Sauerstoff (O₂) und Schwefelwasserstoff (H₂S)18b: Verlauf der Stickstoffkomponenten NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺ und des gelösten anorganischen Stickstoffs (= DIN = Summe NO₃⁻ + NO₂⁻ + NH₄⁺)18c: Gemessene N₂O-Konzentration (N₂O_{obs}) und berechneter Sättigungswert (N₂O_{sat})

18d: Verteilung des partikulären organischen Kohlenstoffs (POC)

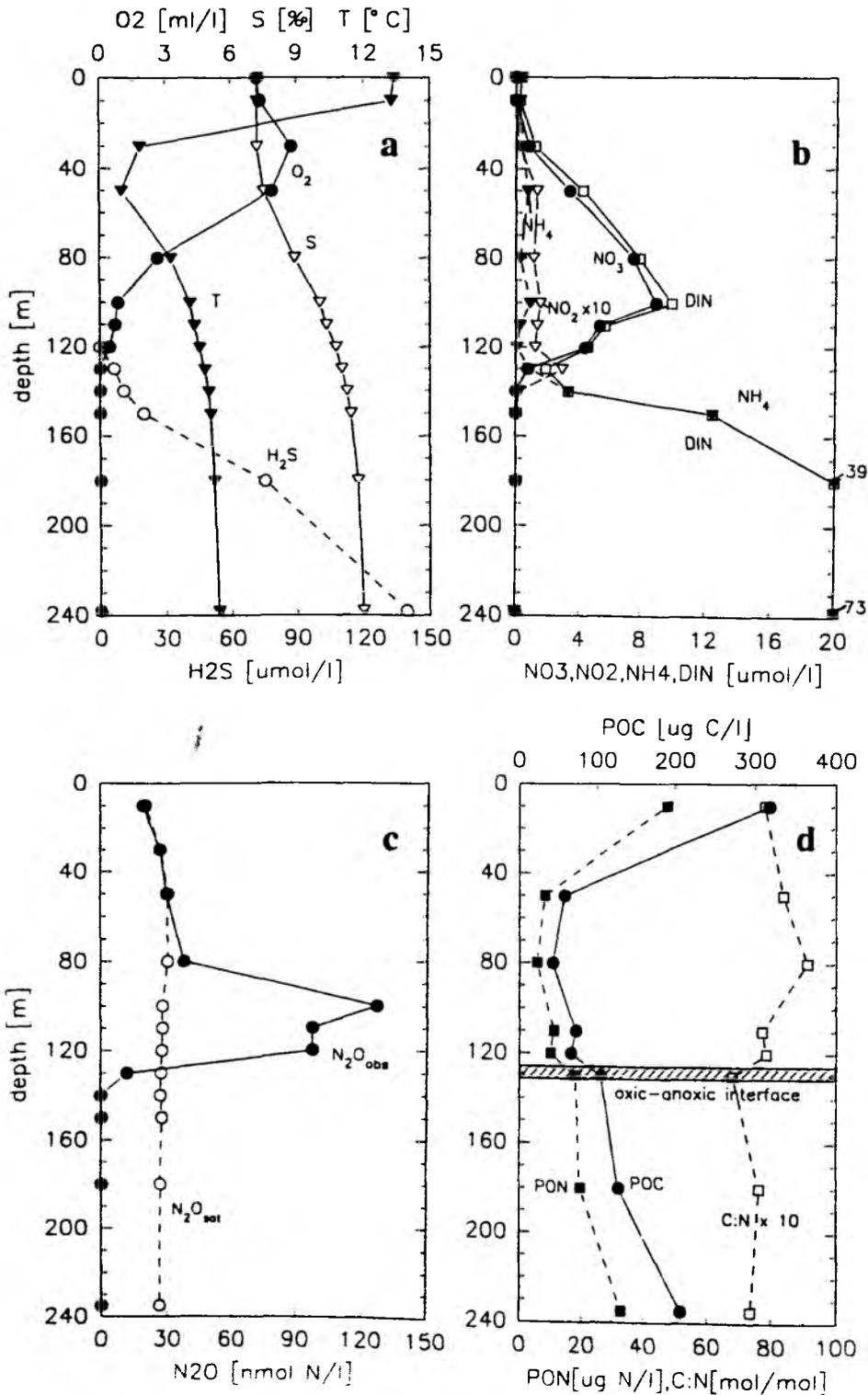


Abb.19:

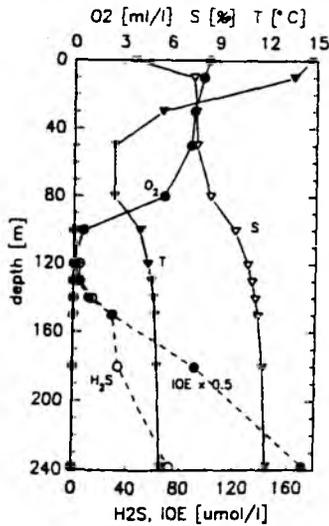
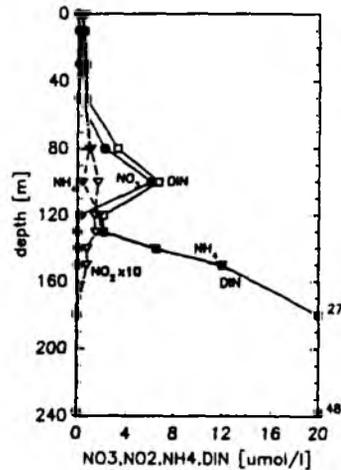
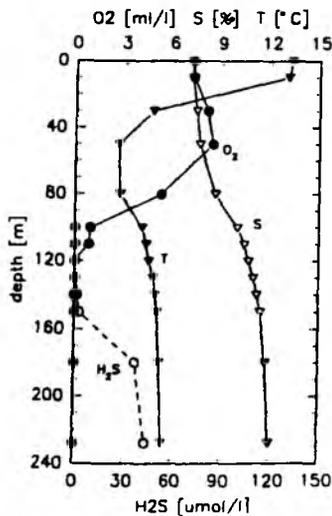
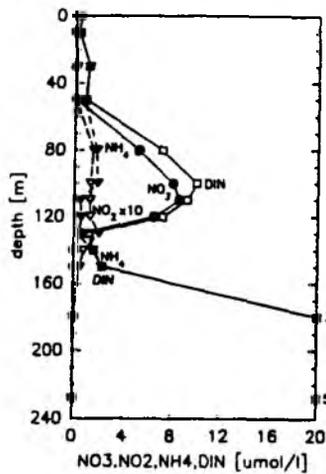
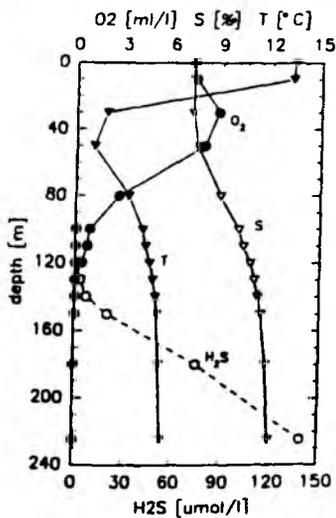
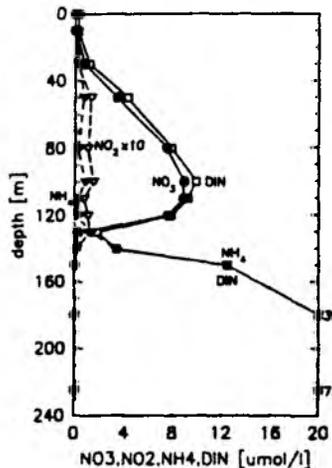
Tiefenprofil des Gotlandtiefs 31.7.1987 (Von 110 - 130 m wurden die Daten integriert, die in den zur Denitrifikationsmessung benutzten Proben gemessen wurden. Die Werte wichen nur geringfügig von denen des Profils am 31.7. ab)

19a: Verlauf von Salinität (S), Temperatur (T), Sauerstoff (O₂), Schwefelwasserstoff (H₂S)

19b: Verlauf der Stickstoffkomponenten NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺ und des gelösten anorganischen Stickstoffs (= DIN = Summe NO₃⁻ + NO₂⁻ + NH₄⁺)

19c: Gemessene N₂O-Konzentration (N₂O_{obs}) und berechneter Sättigungswert (N₂O_{sat})

19d: Verteilung des partikulären organischen Kohlenstoffs (POC) und des partikulären organischen Stickstoffs (PON), molares C:N-Verhältnis (mit Faktor 10 multipliziert).

Abb.20a₁Abb.20a₂Abb.20b₁Abb.20b₂Abb.20c₁Abb.20c₂20a_{1,2}: 29.7.198720b_{1,2}: 30.7.198720c_{1,2}: 31.7.1987**Abb.20:**

Tiefenprofile des Gotlandtiefs an 3 aufeinanderfolgenden Tagen: 29., 30., 31.7. 1987. Auffallend ist hier die Variabilität der Stickstoffkomponenten im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht

¹ = Verlauf von Salinität (S), Temperatur (T), Sauerstoff (O₂) und Schwefelwasserstoff (H₂S); für 29.7. wurden zusätzlich Iodin oxidierbare Äquivalente (IOE) eingetragen

² = Verlauf der Stickstoffkomponenten NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺ und des gelösten anorganischen Stickstoffs (= DIN = Summe NO₃⁻ + NO₂⁻ + NH₄⁺)

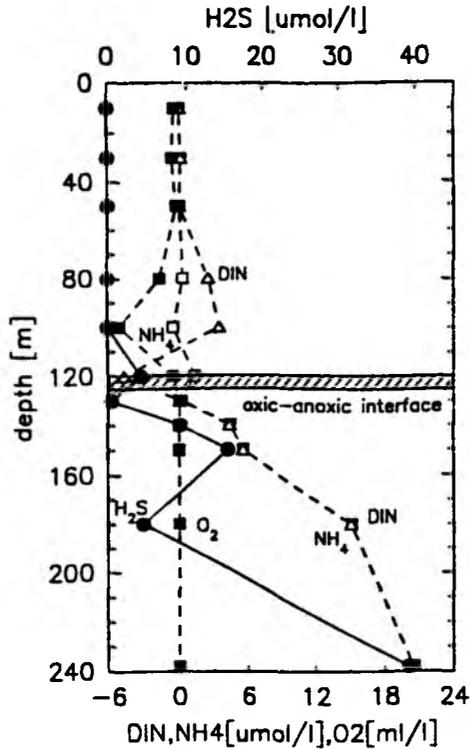


Abb.21:

Änderung der Konzentrationen von O_2 , H_2S , DIN und NH_4^+ zwischen zwei benachbarten Meßpunkten im Tiefenprofil (Daten vom 29.7.87). Oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht tritt ein starker Sauerstoffrückgang deutlich hervor, in der Grenzschicht selbst eine starke Abnahme des gelösten mineralisierten Stickstoffs (DIN).

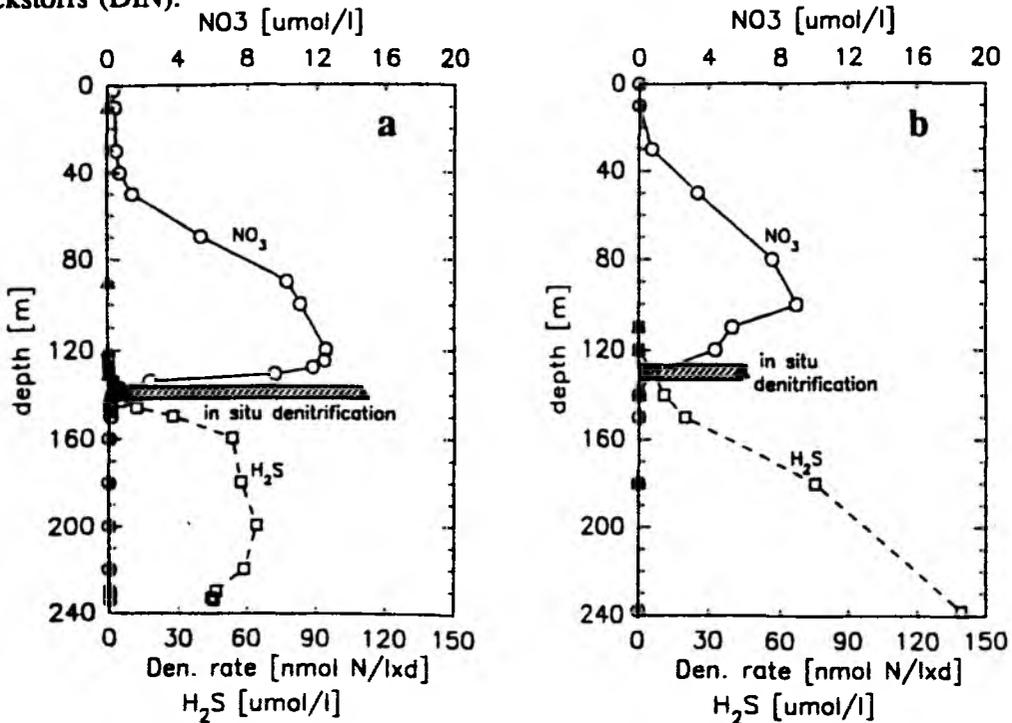


Abb.22a,b:

Denitrifikation in der Wassersäule des Gotlandtiefs

a = 16.8. 1986

b = 30.7. 1987

Nitrit trat in um zwei Größenordnungen niedrigeren Konzentrationen auf. In der oxischen Wassersäule lagen die Konzentrationen in der Regel unterhalb von 0,1 $\mu\text{mol/l}$, als höchste Konzentration wurde 0,24 $\mu\text{mol/l}$ verzeichnet. Nitritpeaks wurden am Ober- und am Unterrand der Nitrifikationszone angetroffen.

Die Konzentrationsgradienten der o.g. Komponenten können im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht sehr variabel sein. Bei den jeweils drei aufeinanderfolgenden Probenahmetagen wurden recht unterschiedliche Gradienten insbesondere in Bezug auf H_2S , O_2 und NO_3^- im Bereich der Grenzschicht angetroffen (vgl. Abb.20a-c).

Der Gehalt an partikulärem organischen Kohlenstoff (POC) in der Wassersäule lag zwischen 40 und 450 $\mu\text{g C/l}$ (vgl. Abb.18d, 19d). Die größten Mengen wurden in der euphotischen Schicht angetroffen, ein zweites Maximum lag in der sedimentnahen Wasserschicht. In der Wassersäule zwischen 50 m bis zur Chemokline wurde der niedrigste POC-Gehalt gemessen: 1987 lagen in diesem Bereich die Werte zwischen 40 und 70 $\mu\text{g C/l}$. Unterhalb der Chemokline lagen vor allem 1987 die Werte signifikant höher, als in der nicht-euphotischen, oxischen Schicht. Der PON-Gehalt in der Wassersäule zeigte dieselbe Verteilungsstruktur wie der POC-Gehalt. Die Konzentrationen lagen zwischen 5 und 50 $\mu\text{g N/l}$. Das C/N-Verhältnis (mol/mol) des partikulären organischen Materials zeigte ein Maximum am Unterrand der Halokline (80 m: 9,1 +/- 0,6) und ein Minimum im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht (130 m: 6,8 +/- 0,2; vgl. Abb.19d).

3.1.2. Lokalisation und Rate der Denitrifikation

Die Denitrifikationsraten wurden in der gesamten Wassersäule des Gotlandtiefs untersucht. Der Schwerpunkt der Untersuchungen wurde auf die Wasserschicht mit erniedrigtem Sauerstoffpartialdruck zwischen Halokline und Chemokline gelegt. Die einzige Stelle in der Wassersäule in der in situ-Denitrifikationsraten gemessen werden konnten, war in der oxisch-anoxischen Grenzschicht (vgl. Abb.22 a,b). Die denitrifizierenden Wasserproben enthielten sowohl H_2S als auch NO_3^- (1987: 6,4 $\mu\text{mol/l}$ H_2S , 0,7 $\mu\text{mol/l}$ NO_3^-). Am 16.8. 1986 wurde eine Denitrifikationsrate von 110 nmol produziertem $\text{N}_2\text{O-N/l}$ ermittelt, am 30.7.1987 44 nmol $\text{N}_2\text{O-N/l}$. Geht man nun davon aus, daß ohne Azetylenzugabe dieselbe Menge an Elektronen auf Nitrat übertragen worden wären, so wäre die endgültige Denitrifikationsrate bis zum N_2 4/5 der oben angegebenen. Dies würde die Raten für 1986 auf 88 nmol N/l , für 1987 auf 35 nmol N/l senken.

3.1.3. Mineralisation in der Wassersäule

3.1.3.1. Mineralisation des organischen Stickstoffs

Ammonium ist das primäre Produkt der Mineralisation des organisch gebundenen Stickstoffs. Die Nitrifikation und die Aufnahme des Ammonium in die bakterielle Biomasse sind außerhalb der euphotischen Schicht die wichtigsten Prozesse, die die Konzentration des freigesetzten Ammoniums in der Wassersäule reduzieren. In erster Linie die Nitrifikation bewirkt, daß in der oxischen Wasserschicht die Ammoniumkonzentrationen in der Regel sehr gering sind, meist < 1 $\mu\text{mol/l}$. Erhöhte Ammoniumkonzentrationen sollen im folgenden als Hinweise auf verstärkte Mineralisationsprozesse im oxischen Teil der Wassersäule beachtet werden.

Erhöhte Ammoniumkonzentrationen wurden in der oxischen Wassersäule unterhalb der

Thermokline, sowie im Bereich der Halokline verzeichnet. Dies mag von Mineralisationsprozessen des organischen Materials aus der euphotischen Schicht, und einer nicht entsprechend starken Nitrifikation herrühren. Der starke Anstieg der Ammoniumkonzentration in der anoxischen Wasserschicht zum Sediment hin, deutet auf das Sediment als bedeutender Standort für die Stickstoffmineralisation. Die abnehmende Konzentration vom Sediment zur Chemokline kann dann als Diffusionsgradient angesehen werden. Daß dieser Gradient nicht immer so deutlich ausgeprägt ist, kann durch horizontalen Wasseraustausch erklärt werden (vgl. Kap. 2.1.2.). Besonders in Sedimentnähe ist der horizontale Wasseraustausch ein häufigeres Ereignis als in der darüberliegenden Wasserschicht bis zur Chemokline. Eine solche Bodenwassererneuerung könnte 1986 Ursache der niedrigen Ammoniumwerte in Bodennähe gewesen sein (vgl. Abb.18b).

Um die Menge an mineralisiertem Stickstoff im Tiefenprofil der Wassersäule darzustellen, wurde die Summe der Hauptkomponenten der Mineralisation, NO_2^- , NO_3^- plus NH_4^+ aufgezeichnet. Der Verlauf der Konzentration des mineralisierten Stickstoffs im Tiefenprofil der Wassersäule kann in seiner Gesamtheit am ehesten mit einer Exponentialfunktion angenähert werden (29.7.87: $r = 0.941$, Gesamtdaten 29.,30.,31.7.87: $r = 0.863$)(vgl. Abb.23a), deren Korrelationskoeffizient durch das Weglassen der Grenzschichtdaten erheblich verbessert wird (Daten vom 29.7.87 ohne 120 m: $r = 0.954$, Gesamtdaten ohne 130 und 140m-Werte: $r = 0.924$). Eine andere Annäherung kann mit Hilfe von zwei linearen Regressionen erfolgen, eine für den oxischen und eine für den anoxischen Teil der Wassersäule. Die Steigung der Geraden für beide Bereiche unterscheiden sich in etwa um den Faktor 10. Während im O_2 -haltigen Teil der Wassersäule die Zunahme des remineralisierten Stickstoffs nur 0,57 $\mu\text{mol/l}$ pro 10 m Tiefendifferenz bei den Daten vom 29.7.87 beträgt, liegt der Anstieg im anoxischen Bereich bei 4,1 $\mu\text{mol/l}$. Dabei ist die Zunahme im anoxischen wesentlich konstanter als im oxischen. Bei den Gesamtdaten ist der Anstieg etwas höher: 0,85 $\mu\text{mol/l}$ im oxischen, bzw. 5,5 $\mu\text{mol/l}$ im anoxischen Bereich (vgl. Abb.23b).

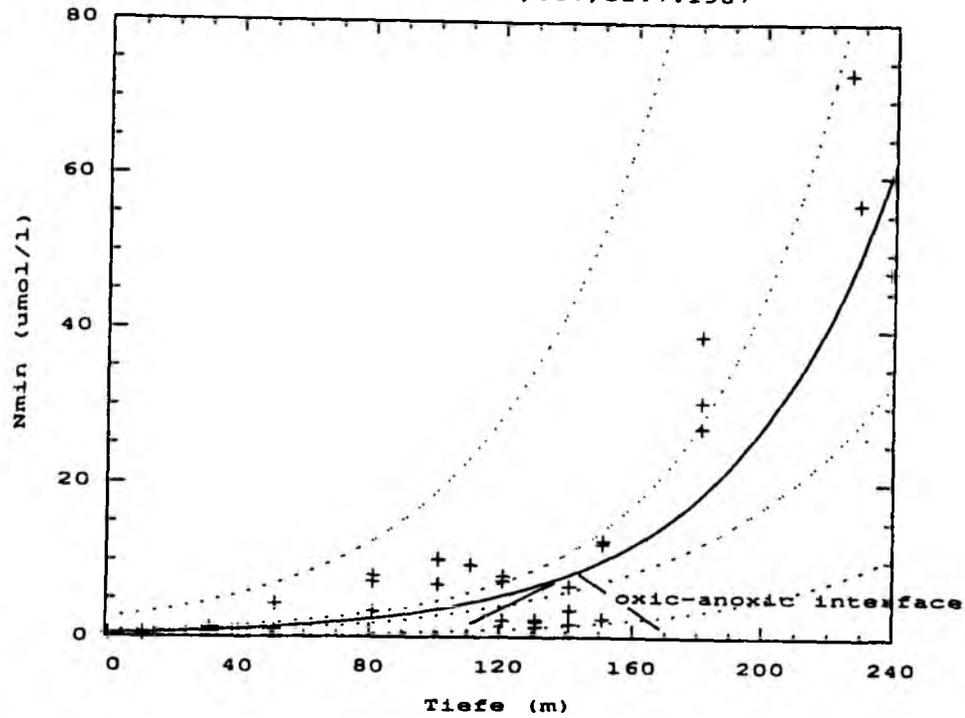
Diese Darstellungen zeigen, daß die Verteilung des mineralisierten Stickstoffs in oxischer und anoxischer Wassersäule sehr verschieden war. Die Mengen in der oxischen Wassersäule waren gegenüber denen in der anoxischen geradezu vernachlässigbar.

3.1.3.2. Mineralisation von organischem Material

Die Stickstoffmineralisation ist eng an die Mineralisation des gesamten organischen Materials gekoppelt, daher soll bei den folgenden Betrachtungen die Gesamtmineralisation der Stickstoffremineralisation gegenübergestellt werden.

Als Kriterien für die Mineralisation werden der Sauerstoffverbrauch, berechnet als Differenz zwischen Sättigungswert und Meßwert (= apparent oxygen utilization = AOU), die H_2S -Konzentration sowie die Konzentration der Iodin-oxidierbaren Äquivalente (IOE) herangezogen. Diese drei Parameter können als Äquivalente für oxidierten organischen Kohlenstoff betrachtet werden. Dabei wird für ein mol oxidierten organischen Kohlenstoff der Verbrauch von 1 mol O_2 , sowie die Produktion von 1/2 mol H_2S oder 1 mol IOE berechnet. Bei der angewandten Titrationsmethode entspricht 1 mol H_2S 2 mol IOE (vgl. Grasshoff 1983, Fonselius 1983). Da mit der Titrationsmethode zur Thiosulfatbestimmung eine Vielzahl von reduzierten Verbindungen inklusive H_2S erfaßt werden, soll sie als Summenparameter für den oxidierten Kohlenstoff im anoxischen Teil der Wassersäule als Fortsetzung der

Regression von N_{min} gegen Tiefe
 Gotlandtief 29., 30., 31.7.1987



Regression von N_{min} gegen Tiefe
 Gotlandtief 1987, 0-120m, 140-240m

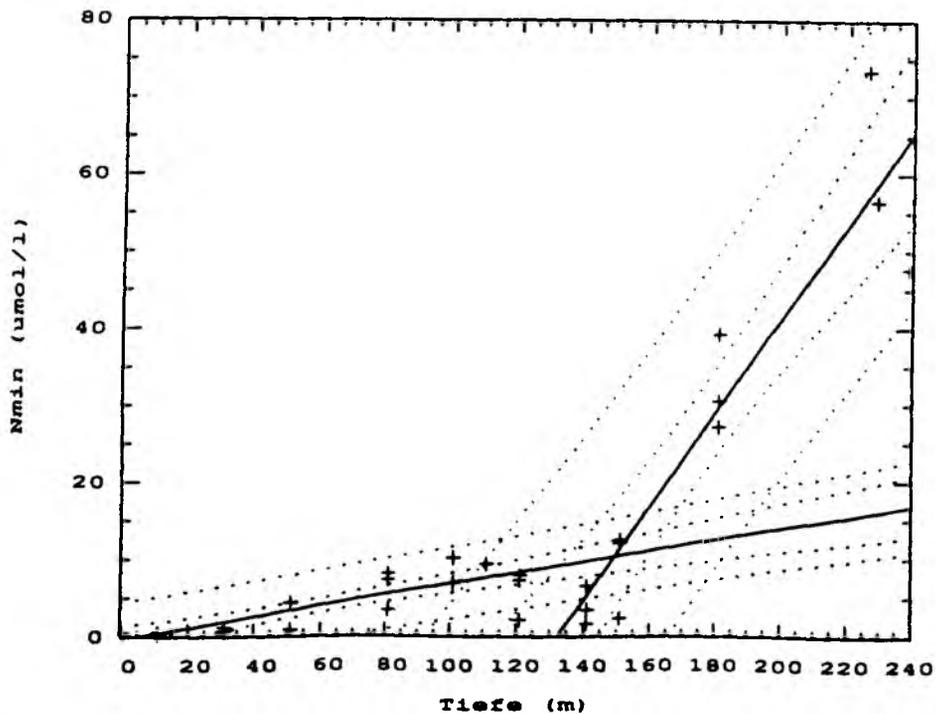


Abb.23a,b:

Regressionen des mineralisierten Stickstoffs (N_{min} = Summe von $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$) gegen die Tiefe unter Verwendung der Daten vom 29.-31.7.1987 vom Gotlandtief.

a = Beschreibung durch exponentielle Funktion

b = Beschreibung durch 2 lineare Regressionen von 0-120 m und 140-240 m

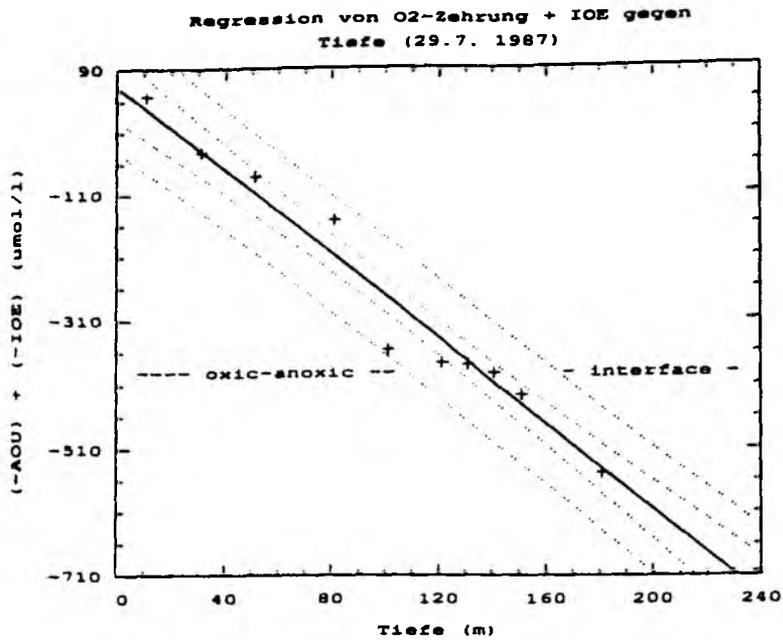


Abb.24

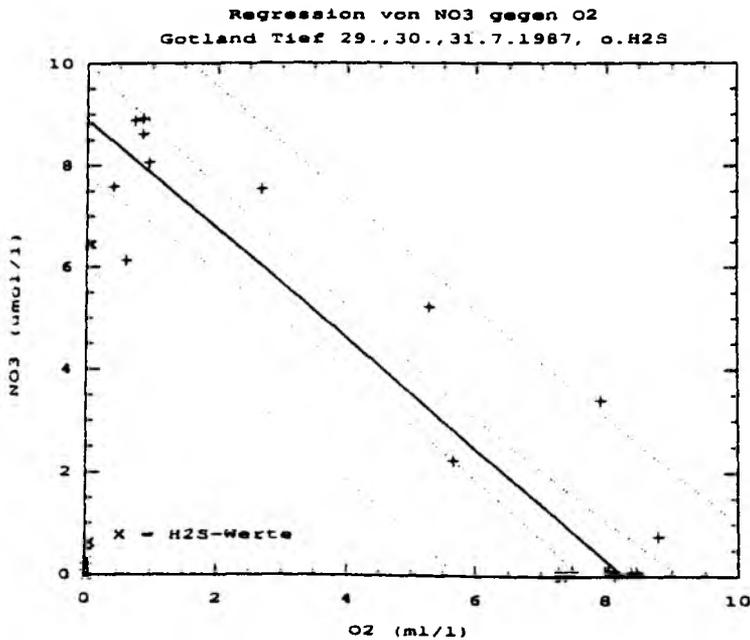


Abb.25

Abb.24:

Lineare Regression der Summe von O₂-Zehrung (AOU = apparent oxygen utilization) und Iodin-oxidierbarer Äquivalente (IOE) gegen die Tiefe. Die stärksten Abweichungen von der Regressionsgeraden traten oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht auf.

Abb.25:

Lineare Regression der NO₃⁻ gegen die Sauerstoffkonzentration. Die höchsten NO₃⁻-Konzentrationen wurden stets im sauerstoffarmen Wasser angetroffen. Nur bei Vorliegen von H₂S lagen die Werte weit außerhalb des 90%-Vertrauensbereiches. Werte aus dem H₂S-Bereich wurden in der Berechnung nicht verwendet.

Sauerstoffzehrung betrachtet werden.

Hierzu wurden Sauerstoffverbrauch (AOU) plus IOE-Konzentrationen gegen die Tiefe dargestellt. Der Verlauf des Sauerstoffverbrauchs und der IOE-Zunahme im Tiefenprofil der Wassersäule zeigt einen nahezu linearen Verlauf (vgl. Abb.24, $r = 0.987$). Die Sauerstoffabnahme bzw. die IOE-Zunahme betrug im Mittel 33,5 $\mu\text{mol/l}$ pro 10 m Tiefendifferenz. Abweichungen von der Gerade sind am Unterrand der Halokline (80 m), wo die O_2 -Zehrung niedriger war, und oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht, wo eine stärkere O_2 -Abnahme auftrat.

Im anoxischen Teil der Wassersäule kann ein ähnlicher Verlauf von mineralisiertem Stickstoff, H_2S und IOEs beobachtet werden (vgl. Abb.18,19). Die Konzentration des NH_4^+ , das im anoxischen als einzige Komponente des mineralisierten Stickstoffs vorliegt, ist sehr gut korreliert mit der IOE-Konzentration (mit den Daten vom 29.7.87 der anoxischen Wassersäule: $r = 0.998$), etwas weniger gut mit der H_2S -Konzentration (mit Daten vom 29.7.87: $r = 0.976$, bei Verwendung der Daten vom 29.,30 u. 31.7.87: $r = 0,928$). Dabei entsprechen 1 mol NH_4^+ etwa 7,5 mol IOE, bzw. 1,5 mol H_2S in der anoxischen Wassersäule.

Im oxischen Teil der Wassersäule beträgt die Korrelation zwischen der Abnahme der Sauerstoffkonzentration und Zunahme des remineralisierten Stickstoffs bei den Daten vom 29.7.1987 $r = 0.986$, bei Benutzung der Gesamtheit der Daten vom 29.,30. und 31.7.1987 ist $r = 0.924$. Die Sauerstoffabnahme im Verhältnis zur N-Mineralisierung lag dabei im Mittel bei 34,5 $\mu\text{mol O}_2$ pro $\mu\text{mol N}$.

Diese Darstellungen zeichnen das Bild einer relativ gleichmäßigen Zunahme der zeitlich integrierten Gesamtoxidation von organischem Material im Tiefenprofil des Gotlandtief. Dies kommt insbesondere in der Darstellung von Sauerstoffzehrung plus IOE-Produktion zum Ausdruck. Die Verteilung des mineralisierten Stickstoffs hingegen zeigt nicht diesen gleichmäßigen Verlauf. Nimmt man die Sauerstoffzehrung, bzw. die IOE-Produktion als Maß für den insgesamt oxidierten Kohlenstoff, so würde dies bedeuten, daß im oxischen Bereich nur 1/5 der Menge an mineralisiertem N pro mol oxidiertem Kohlenstoff entstanden wäre, wie im anoxischen Teil der Wassersäule.

Die Sauerstoffzehrung, sowie die Menge an mineralisiertem Stickstoff im Tiefenprofil, sind als zeitlich integrierte Parameter zu verstehen, und nicht als Maß für die Umsatzrate pro Zeiteinheit. In der oberen Wassersäule bis zur Halokline können diese Parameter sich maximal bis zu einem Jahr akkumulieren. In den tieferen Wasserschichten sind Akkumulationen von mehreren Jahren in Abhängigkeit vom horizontalen Wasseraustausch zu erwarten.

3.1.3.3. Nitrifikation

Die Nitrifikation wurde, wie in Kap.2.3.8. erläutert, als Zunahme der Nitrit- und Nitratkonzentration der Wasserproben erfaßt. Es handelt sich daher um eine Erfassung der Nettonitrifikation, bei der Verlustprozesse wie Nitrataufnahme und Denitrifikation nicht berücksichtigt werden. Da allerdings die Denitrifikation gleichzeitig verfolgt wurde, die Nitrataufnahme durch Bakterien wegen dem ausreichend vorhandenen Ammonium keine große Rolle gespielt haben dürfte, sollte diese Nettonitrifikation der Gesamtnitrifikation sehr nahe kommen. In den folgenden Betrachtungen wird nur die Änderung der Nitratkonzentration verfolgt, da Nitrit im Gotlandtief quantitativ unbedeutend war.

Die Zone der Nitrifikation im Gotlandtief dürfte sich nach dem Nitratvorkommen von 30 m Tiefe bis zur oxisch-anoxischen Grenzschicht erstreckt haben. Um den Bezug zwischen aktueller Sauerstoffkonzentration und Nitrifikation herzustellen, wurden die Nitratkonzentrationen gegen die Sauerstoffkonzentrationen aufgetragen. Die linearen Regressionen der beiden Parameter zeigen, daß die höchsten Nitratwerte im Bereich geringer Sauerstoffkonzentrationen erreicht wurden. 1986 und 1987 (Gesamtdaten von Gotlandtief) war das Verhältnis von Sauerstoffabnahme in der Wassersäule zu Nitratanstieg sehr ähnlich. 1987 entsprach eine Abnahme von 1,07 ml/l O₂ (= 48,0 umol/l) der Zunahme von 1 umol/l NO₃⁻, 1986 waren es 1,09 ml/l O₂(= 48,5 umol/l). Bei diesen Regressionen wurden nur die Daten aus dem H₂S-freien Teil der Wassersäule verwendet, da wie schon gezeigt bei Anwesenheit von H₂S und Nitrat Denitrifikation auftrat. Die Werte im H₂S-Bereich liegen unterhalb der Regressionsgeraden entlang der y-Achse (vgl. Abb.25). Sie wurden nachträglich eingetragen und nicht in der Berechnung verwendet.

Nitrifikation wurde während der Inkubation von Wasserproben aus 90 m Tiefe bis oberhalb der Chemokline (noch kein H₂S nachweisbar) festgestellt. Oberhalb von 90 m wurden nur Wasserproben aus 10 m Tiefe (1986) inkubiert. Diesen war bei der Inkubation 50 umol/l Nitrat zugesetzt. Eine Nitrifikation war bei diesen Proben nicht feststellbar. Bei allen nitrifizierenden Proben aus größeren Tiefen hatte der Zusatz dieser Menge Nitrat keinen hemmenden Effekt, auf die Nitrifikation, so daß davon ausgegangen werden kann, daß die Proben aus 10 m Tiefe auch ohne Nitratzusatz keine Nitrifikation gezeigt hätten.

Für die Beobachtung der Nitrifikation werden im folgenden Ergebnisse der Versuchsansätze ohne Azetylen herangezogen werden, um eine Beeinflussung der Nitrifikation durch Azetylen auszuschließen. Die Nitratzunahmen in Proben ohne Azetylenzusatz wurde 1986 für 12 Tage Inkubation aufgezeichnet, für 1987 auch nach 2 und 4 Tagen Inkubation. Die Nitratzunahmen lagen bei den Proben aus 90 bis 130 m Tiefe zwischen 4 und 6 umol/l nach der 12-tägigen Inkubation (s. Abb.26a). 1987 betrug der Nitratzuwachs nach 4 Tagen zwischen 4,1 und 6,3 umol/l. Dabei fand der Großteil der Nitrifikation in den ersten beiden Tagen der Inkubation statt (vgl. Abb. 26b, 12a-d). Geht man davon aus, daß auch bei den Proben von 1986 der Hauptanteil der Nitrifikation in den ersten 2 Tagen erfolgt war, so wäre der ermittelte Nitratzuwachs auf etwa 2 Tage zu beziehen. Für 1986 wie 1987 würden sich daraus Nitrifikationsraten von 2 - 3 umol/l pro Tag für die Wasserschichten zwischen 90 m und Chemokline ergeben. Wie schon anhand der O₂/NO₃⁻-Regression gezeigt, dürfte die sauerstoffarme Schicht unterhalb von 100 m Tiefe (1986: < 2.28 ml/l = 102 umol/l; 1987: < 0.91 ml/l = 41 umol/l) die bedeutendste für die Nitrifikation gewesen sein.

3.1.3.4. N₂O-Produktion

Die Wassersäule des Gotlandtiefs zeigte 1986 und 1987 einen ähnlichen Verlauf der N₂O-Konzentration (vgl. Abb.18c, 19c). In den Abbildungen ist die gemessene N₂O-Konzentration (N₂O obs) und der berechnete Sättigungswert (N₂O sat) in nmol N₂O-N/l eingetragen. Der Sättigungswert (N₂O sat) ist die N₂O-Konzentration, die sich bei Sättigung der Wasserprobe mit dem atmosphärischen N₂O-Partialdruck (hier nach Rönner (1983) als 300 ppbv eingesetzt) einstellt. Die prozentuale N₂O-Sättigung des Wassers berechnet sich aus dem Quotienten von beobachteter N₂O-Konzentration (N₂O obs) zu berechnetem Sättigungswert (N₂O sat), multipliziert mit 100:

$$\text{prozentuale N}_2\text{O-Sättigung (\%)} = (\text{N}_2\text{O obs} / \text{N}_2\text{O sat}) \times 100$$

Bis in 80 m Tiefe zeigte die N_2O -Konzentration 1987 keine größere Abweichung von dem Wert der Sättigung mit dem atmosphärischen N_2O -Partialdruck (80m: 38,1 nmol N_2O -N/l = 125 %). Die maximalen N_2O -Werte lagen in beiden Jahren zwischen 90 m Tiefe und der Chemokline. In diesem Bereich lagen die Werte 1987 zwischen 97 und 127 nmol N_2O -N/l (= 347-448 % Sättigung), 1986 zwischen 66 und 95 nmol N_2O -N/l (= 233-303 % Sättigung). Die Proben aus dem Bereich der Denitrifikationsschicht aus der Chemokline wiesen eine N_2O -Untersättigung auf: 1987 wies die denitrifizierende Wasserprobe 11,7 nmol N_2O -N/l (= 43 % Sättigung) auf, 1986 19,2 nmol N_2O -N/l (= 70 % Sättigung). Im anoxischen Teil der Wassersäule unterhalb der Chemokline konnte kein N_2O mehr nachgewiesen werden.

Um mögliche N_2O -Produktions- und -Zehrungsmechanismen zu erhellen, werden im folgenden die Zusammenhänge zwischen N_2O -Konzentrationen und Nitrat- und Sauerstoffkonzentrationen dargestellt, und diese mit Beobachtungen zur Nitrifikation und Denitrifikation verglichen.

Vergleicht man die Profile der N_2O -Konzentration mit den Profilen der Nitratkonzentration, so sieht man, daß beide einen sehr ähnlichen Verlauf zeigen (vgl. Abb.18,19). Eine lineare Regression der Nitratkonzentration gegen die N_2O -Konzentration zeigt bei den Daten von 1987 eine gute positive Korrelation (1987: $r = 0.966$, 1986: $r = 0.871$). Die N_2O -Konzentration wies eine negative Korrelation mit der Sauerstoffkonzentration (1987: $r = 0.969$, 1986: $r = 0.871$) auf. Diese Korrelation gilt nur für die H_2S -freien Teil der Wassersäule. Die Regressionen von N_2O gegen O_2 und NO_3^- werden später noch zusammen mit den Beobachtungen an Station T dargestellt (s. Kap. 3.5.).

N_2O -Übersättigung wurde stets nur in nitrifizierenden Wasserproben festgestellt (vgl. Abb.26 und 18c, 19c). Denitrifizierende Wasserproben wiesen immer eine N_2O -Untersättigung auf (vgl. Abb. 22a,b). Eine signifikante Zunahme der N_2O -Konzentration bei der Inkubation bei Proben ohne Azetylenzusatz konnte in keinem Fall nachgewiesen werden. N_2O -Zehrung in denitrifizierenden Proben ohne Azetylenzusatz trat dagegen immer auf. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Nitrifikation und N_2O -Produktion, sowie Denitrifikation und N_2O -Zehrung ist daher wahrscheinlich. Daß keine N_2O -Produktion in nitrifizierenden Proben nachgewiesen werden konnte, mag daran liegen, daß der erfolgte N_2O -Anstieg unterhalb der Nachweisgrenze der Methode lag.

3.1.4. Regulierende Faktoren der Denitrifikation im Gotlandtief

3.1.4.1. Untersuchung der Limitierung durch den Elektronenakzeptor

Um zu sehen, inwieweit die Denitrifikation in der Wassersäule des Gotlandtiefs durch den Elektronenakzeptor limitiert war, wurden Denitrifikationsraten vergleichsweise mit und ohne NO_3^- -Zusatz gemessen. Diese Untersuchungen wurden 1986 und 1987 durchgeführt. Die Raten, die 1987 nach 4 Tagen Inkubation bestimmt wurden, sind in Abbildung 28 im Tiefenprofil vergleichend dargestellt. Die Tiefenprofile der in situ-Denitrifikationsraten im Vergleich mit dem Denitrifikationspotential zeigen, daß im Bereich der in-situ Denitrifikation keine Erhöhung der Denitrifikationsrate durch Nitratzugabe erzielt wurde. Der Verlauf der Denitrifikation in diesen Proben mit und ohne Nitrat ist in den Abbildungen 27a,b



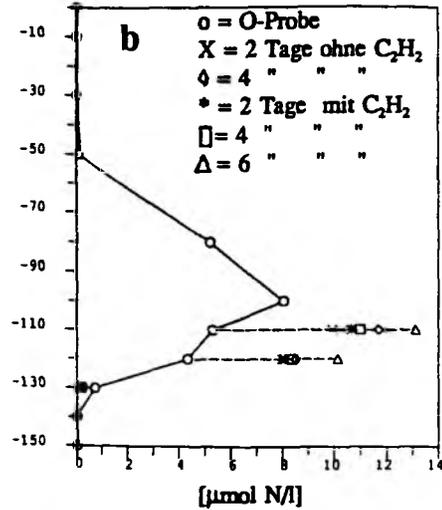
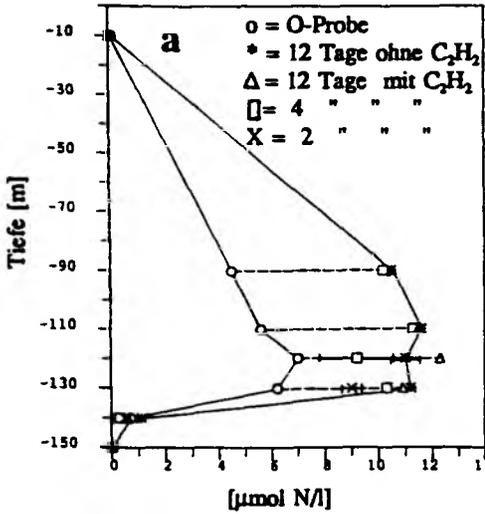


Abb.26a,b:
 Änderungen der Nitratkonzentration bei Inkubation von Proben aus dem oxischen Teil der Wassersäule des Gotlandtiefs (1986 = Abb.26a, 1987 = Abb.26b). Die Inkubation erfolgte vergleichsweise mit und ohne Azetylen.

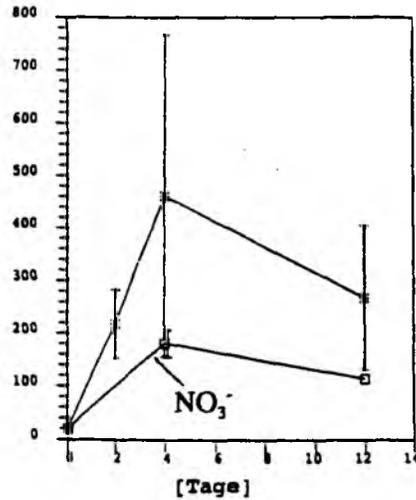
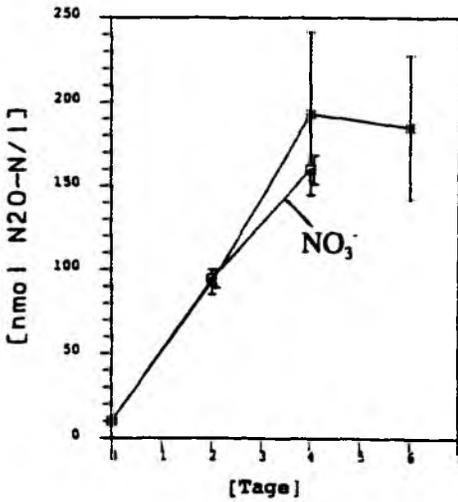


Abb.27a

Abb.27a,b:
 Vergleich des Verlaufs der in situ-Denitrifikation mit Denitrifikation nach Nitratzugabe in Proben aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht
 a = 1986, b = 1987

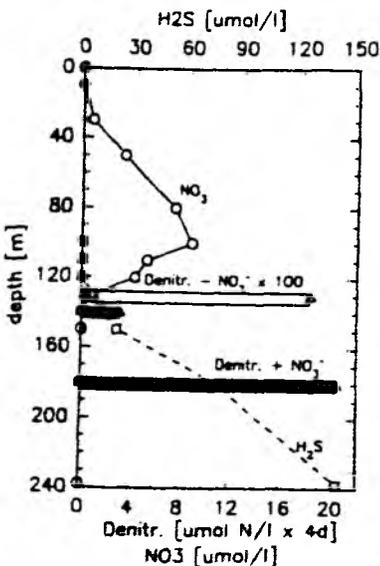


Abb.28:
 In situ-Denitrifikation und Denitrifikation nach NO_3^- -Zugabe im Tiefenprofil des Gotlandtiefs 1987.

wiedergegeben. 1987 waren die Raten mit und ohne Nitratzusatz nahezu identisch. 1986 bewirkte Nitratzusatz eine Verringerung der Denitrifikationsrate.

Oberhalb der Denitrifikationsschicht konnte weder mit noch ohne Nitratzusatz Denitrifikation gemessen werden. 1986 wurden Proben bis zu 12 Tage lang inkubiert. Auch nach einer 12-tägigen Inkubationszeit war in Proben von oberhalb der Chemokline keine Denitrifikation nachzuweisen.

In der H_2S -haltigen Schicht unterhalb der eigentlichen Denitrifikationsschicht konnte nach Nitratzugabe Denitrifikation gemessen werden. Dabei zeigten Proben aus größeren Tiefen mit höheren H_2S -Konzentrationen ein höheres Denitrifikationspotential (bis zu $20,4 \mu\text{mol } N_2O-N/l$ bei Proben aus 180 m).

Diese Ergebnisse deuten in beiden Untersuchungszeiträumen auf einen Mangel an Elektronendonatoren für die Denitrifikation außerhalb der H_2S -haltigen Wasserschicht hin. Mit zunehmender H_2S -Konzentration scheint der Mangel an Elektronenakzeptoren die Denitrifikation zu begrenzen. Diese Ergebnisse führten zu der Frage, ob H_2S und andere reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren für die Denitrifikation in diesem Ökosystem von Relevanz sind.

3.1.4.2. Untersuchungen zur Verwertbarkeit verschiedener Elektronendonatoren

Um die Relevanz von reduzierten Schwefelverbindungen als Elektronendonator für die Denitrifikation in diesem Ökosystem zu untersuchen wurde die Denitrifikation und die Zunahme der Bakterienzahlen nach Zugabe verschiedener Elektronendonatoren verfolgt. Stellvertretend für möglicherweise relevante reduzierte Schwefelverbindungen wurde H_2S und Thiosulfat (je $50 \mu\text{mol/l}$) zugesetzt. Zum Vergleich wurde ebenfalls die Reaktion auf die Zugabe von Acetat ($100 \mu\text{mol/l}$) und eine Mischung von Acetat ($50 \mu\text{mol/l}$) und H_2S ($25 \mu\text{mol/l}$) verfolgt. Zusätzlich zu dem Elektronendonator wurde den Proben Nitrat ($100 \mu\text{mol/l}$) zugesetzt.

Die Untersuchungen wurden 1987 mit Wasserproben von 5 - 10m unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht (140 m) und Proben aus 180 m mit höheren H_2S -Konzentrationen durchgeführt. Die Proben wurden von unterhalb der Grenzschicht, und damit ebenfalls von unterhalb der eigentlichen Denitrifikationsschicht entnommen, um sicher zu gehen, daß kein Sauerstoff mehr in der Probe vorhanden war, der zur Oxidation der zugesetzten Elektronendonatoren beitragen könnte. Weiterhin wurde davon ausgegangen, daß die Bakterienbiozönose von knapp unterhalb der Grenzschicht noch eine sehr gute Adaptation an Grenzschichtbedingungen aufwies, also eine sehr ähnliche Reaktion auf die zugesetzten Elektronendonatoren zeigen würde, wie die Biozönose der Denitrifikationsschicht. Die Probe aus 180 m diente als Vergleich für die Reaktionen unterschiedlich stark adaptierter Biozönosen. In Proben aus beiden Tiefen war weder Nitrat noch Sauerstoff nachweisbar. Proben beider Tiefen enthielten zum Zeitpunkt der Probenahme H_2S : die Proben aus 140 m 12 bzw. $9 \mu\text{mol/l}$, die Probe aus 180 m $61 \mu\text{mol/l}$. Zur Zeit der Substratzugabe (nach 1-2 tägiger Vorinkubation bei in situ-Temperatur) war in den Proben aus 140 m Tiefe weder H_2S noch O_2 nachweisbar, in den Proben aus 180 m war das H_2S noch vollständig vorhanden.

3.1.4.2.1. Reaktion von grenzschichtnahen Proben auf den Zusatz verschiedener Elektronendonatoren und Nitrat

Denitrifikationsverlauf nach Zusatz der verschiedenen Elektronendonatoren:

Die Proben von unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht zeigten nach Zugabe von ausschließlich Nitrat nur eine geringe Denitrifikation (3,0 $\mu\text{mol N}_2\text{O-N/l}$ nach 2 Tagen, 3,12 μmol nach 4 Tagen). Durch Zusatz aller Elektronendonatoren ließ sich die Menge an denitrifiziertem Stickstoff wesentlich steigern (vgl. Abb.29 a-e). Nach 2-tägiger Inkubation wurde die größte Menge an denitrifiziertem Stickstoff bei der Zugabe von Thiosulfat (48,8 $\mu\text{mol N}_2\text{O-N/l}$) registriert. Die Zugabe von H_2S hatte eine geringere Denitrifikation zur Folge (nach 2 Tagen: 21,1 $\mu\text{mol N}_2\text{O-N/l}$), gefolgt von der Denitrifikationsleistung nach Zugabe von $\text{H}_2\text{S}+\text{Acetat}$ (17,6 $\mu\text{mol N}_2\text{O-N/l}$) und Acetat (13,5 $\mu\text{mol N}_2\text{O-N/l}$). Die denitrifizierte Stickstoffmenge zwischen 2 und 4 Tagen Inkubation war, bis auf den Versuch mit Acetatzusatz, wesentlich geringer als in den ersten beiden Tagen. Die Standardabweichung bei den ermittelten Denitrifikationsraten war im allgemeinen sehr gering, meist weniger als 16 % des Mittelwertes. Höhere Abweichungen traten nur bei Zusatz von Acetat auf: 108 % bei der 2-tägigen Inkubation nach Zusatz von Acetat, 28 % nach 4 Tage Inkubation mit Acetat und H_2S . Bei allen Versuchen wurde die Menge des als N_2O detektierten Stickstoffs von der Abnahme der Nitratmenge übertroffen.

Verlauf der Oxidation der reduzierten Schwefelverbindungen:

Zugesetztes H_2S bzw. Thiosulfat war immer schon während der ersten 2 Tage der Inkubation vollständig verbraucht worden. Dies war auch bei allen Proben ohne Azetylenzusatz der Fall.

Azetyleneinfluß:

Deutliche Abweichungen der Nitratänderungen bei Parallelansätzen mit und ohne Azetylenzugabe trat nur bei gleichzeitigem Zusatz von Acetat und H_2S auf. Die Nitrat-Abnahme nach 4-tägiger Inkubation war ohne Azetylenzusatz im Mittel um 27 $\mu\text{mol/l}$ höher (vgl. Kap. 2.9., Abb. 14a,b). Auch deutliche Unterschiede hinsichtlich der Nitritkonzentrationen traten nur bei diesen Proben auf (1,3 $\mu\text{mol/l NO}_2^-$, $s = 1,3$; bei Azetylenzusatz; 0,3 $\mu\text{mol/l NO}_2^-$, $s = 0,1$ bei Proben ohne Azetylenzusatz). Die 2-Tages-Inkubation dieses Versuches ist auch der einzige Fall bei dem signifikante Unterschiede bei den Ammoniumkonzentrationen vorkamen (2,0 $\mu\text{mol/l NH}_4^+$, $s = 1,0$, bei Azetylenzusatz; 0,9 $\mu\text{mol/l NH}_4^+$, $s = 0,1$, ohne Azetylenzusatz). Die Änderungen der Nitrit- und Ammoniumkonzentrationen während der Inkubation der Proben waren bei den übrigen Elektronendonatorzusätzen vernachlässigbar gering.

Da bei den Versuchen - außer bei den oben genannten Ansätzen mit Acetat+ H_2S -Zusatz - die Nitrat-, Nitrit und Ammoniumänderungen bei Azetylenzusatz nicht signifikant von denen ohne Azetylenzusatz abwichen, ist davon auszugehen, daß diese Proben auch ähnliche Denitrifikationsraten aufwiesen, d.h. daß die unter Azetylenzusatz gemessenen Denitrifikationspotentiale den in situ-Potentialen der vorliegenden Bakterienbiozönose entsprach.

Veränderungen von Zellzahl und Gesamtbiomasse:

Eine signifikante Zunahme der Bakterienzahlen erfolgte bei allen Proben, denen

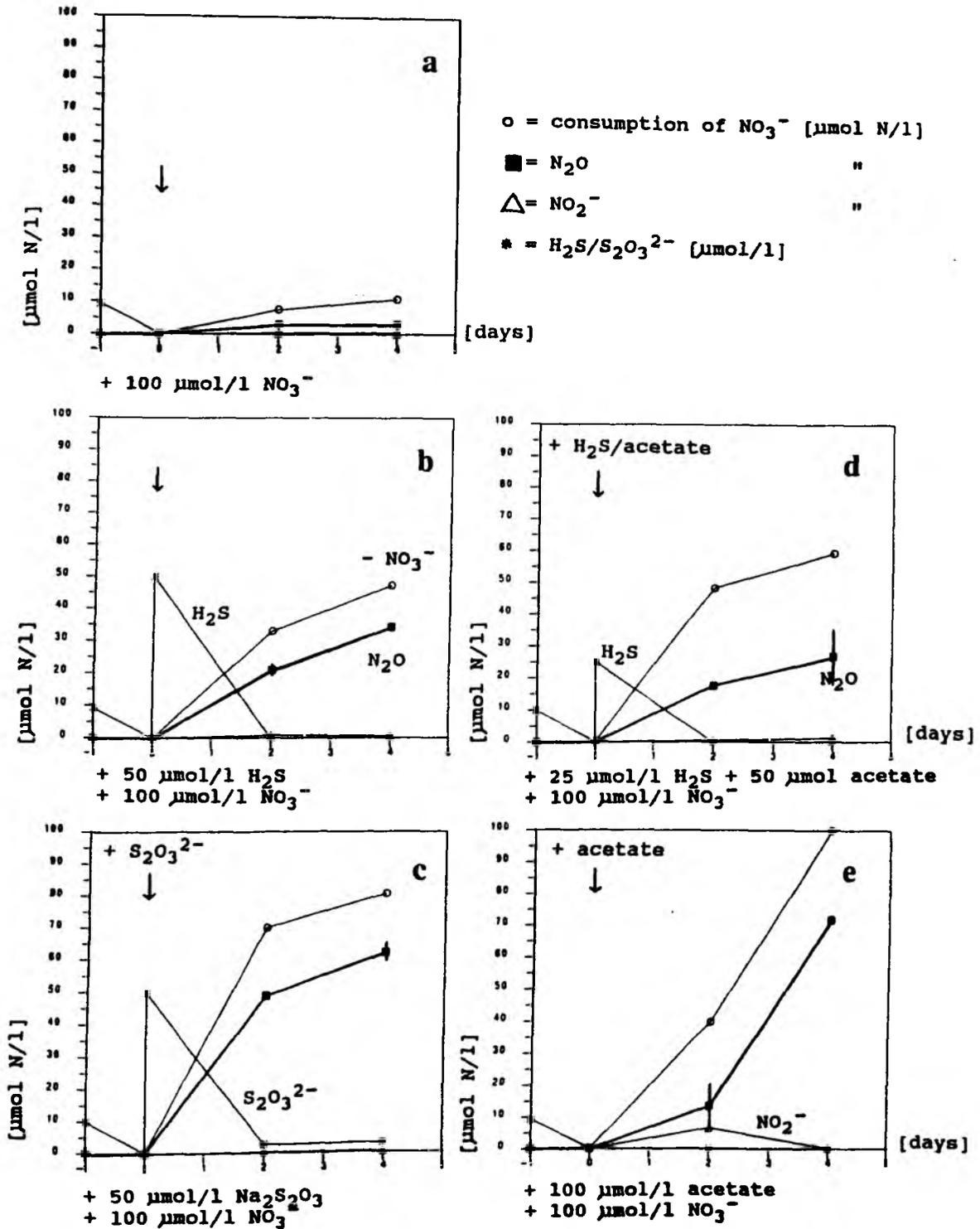
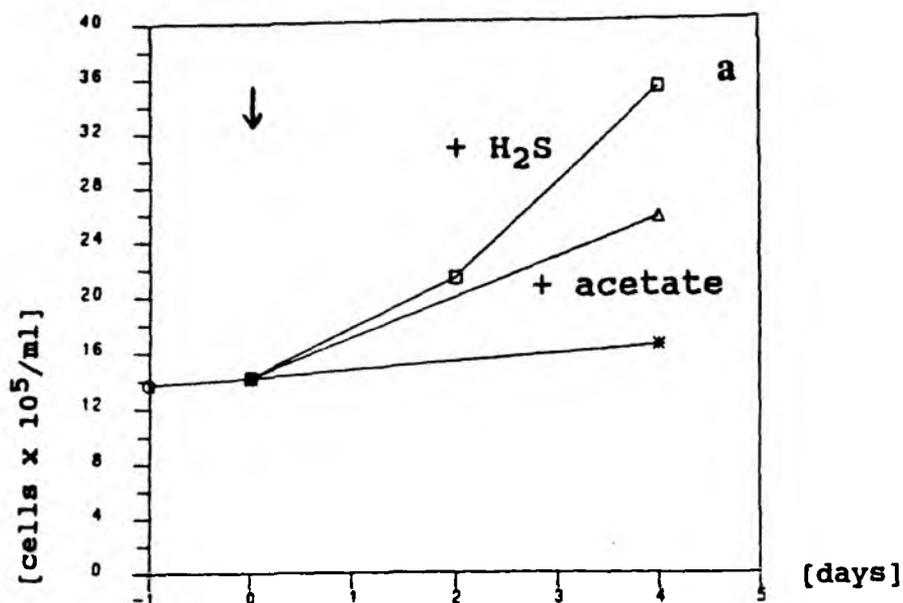


Abb.29a-e:

Denitrifikation in Wasserproben aus Grenzschichtnähe (140 m, ca. 5-10 m unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht) nach Zugabe von Nitrat (100 $\mu\text{mol/l}$) und verschiedenen Elektronendonatoren (50 $\mu\text{mol/l}$).



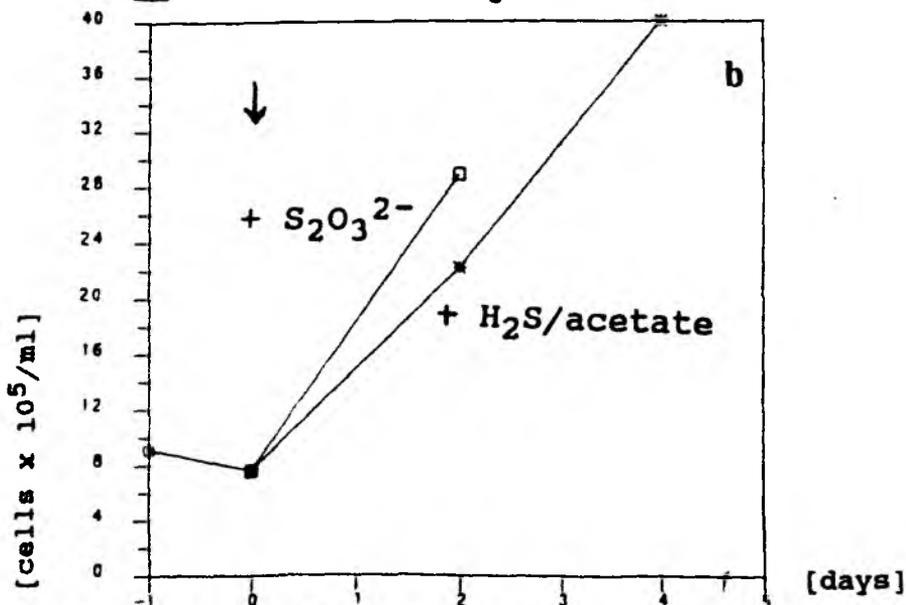
cells x 10⁵/ml in sample S2 (140m) + N₂

o = preincubation

* = + 100 μmol/l NO₃⁻

□ = + 100 μmol/l NO₃⁻ + 50 μmol/l H₂S

△ = + 100 μmol/l NO₃⁻ + 100 μmol/l acetate



cells x 10⁵/ml in sample S1 (140m) + N₂

o = preincubation

* = + 100 μmol/l NO₃⁻ + 25 μmol/l H₂S + 50 μmol/l acetate

□ = + 100 μmol/l NO₃⁻ + 50 μmol/l Na₂S₂O₃

Abb.30a,b:

Zellzahlzunahme in Wasserproben aus Grenzschichtmähe (140 m, ca. 5-10 m unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht) nach Zugabe von Nitrat (100 μmol/l) und verschiedenen Elektronendonatoren (50 μmol/l). Diesen Proben war kein Azetylen zugesetzt worden.

Elektronendonatoren zugesetzt worden waren (vgl. Abb.30a,b). Während den ersten beiden Tagen der Inkubation war der Anstieg bei Zugabe von Thiosulfat mit einer Zunahme um $2,0 \times 10^6$ Zellen/ml am ausgeprägtesten. Nach 4-tägiger Inkubation war die Zunahme bei den Proben mit Acetatzusatz am geringsten ($+ 1,1 \times 10^6$ Zellen/ml). Berücksichtigt wurden hierbei nur die Zellzahländerungen ohne Azetylenzusatz (zu der Wirkung des Azetylen auf die Zellvermehrung s. Kap.2.9.). Das mittlere Zellvolumen der Bakterien blieb während der Inkubation der Proben annähernd gleich ($0,10-0,17 \text{ um}^3$), so daß die Zellzahlzunahmen um mehr als den Faktor 2 wie sie nach Zusatz aller verwendeter Elektronendonatoren verzeichnet werden konnten, als Biomasseproduktion gewertet werden können. Diese Versuche machen deutlich, daß bei der Nutzung der reduzierten S-Verbindungen als Elektronendonator für die Denitrifikation auch deutliche Produktion von bakterieller Biomasse erfolgte.

3.1.4.2.2. Reaktion von Tiefenwasserproben auf den Zusatz verschiedener Elektronendonatoren und Nitrat

Denitrifikationsverlauf nach Zusatz der verschiedenen Elektronendonatoren:

Die Proben aus 180 m wurden denselben Untersuchungen unterzogen wie die grenzschichtnahen Proben, mit dem Unterschied, daß H_2S als Elektronendonator nicht mehr zusätzlich zugesetzt wurde, sondern das in der Probe vorhandene H_2S als Elektronendonator eingesetzt wurde.

Alle Proben, denen Nitrat zugesetzt worden war, zeigten Denitrifikation (vgl. Abb.31). Im Gegensatz zu den grenzschichtnahen Proben, bei denen die höheren Denitrifikationsraten in den ersten beiden Tagen der Inkubation verzeichnet wurden, waren bei den 180 m-Proben die Denitrifikationsraten zwischen dem 2. und 4. Tag der Inkubation wesentlich höher. Die erzielten Denitrifikationsraten lagen nach 2-tägiger Inkubation wesentlich niedriger, als bei den grenzschichtnahen Proben ($5,2 - 6,3 \text{ umol N}_2\text{O-N/l}$). Nach 2-tägiger Inkubation hatte der Zusatz der verschiedenen Elektronendonatoren nur einen geringfügigen Anstieg der Denitrifikation bewirkt. Die Denitrifikation von $5,2 \text{ umol N}_2\text{O-N/l}$ bei ausschließlichem Nitratzusatz erhöhte sich nur geringfügig bei Zusatz von Thiosulfat + Nitrat auf $5,5 \text{ umol N}_2\text{O-N/l}$ und bei Acetatzugabe auf $6,3 \text{ umol/l}$.

Der Zusatz der Elektronendonatoren führte außer bei Thiosulfat zu einem deutlichen Anstieg der Denitrifikation nach 4 Tagen Inkubation. Die Zugabe von Thiosulfat zeigte keine signifikante Erhöhung der Rate (bei Thiosulfatzugabe nach 4 Tagen: $21,4 \text{ umol N}_2\text{O-N/l}$) gegenüber der ausschließlichen Nitratzugabe (bei Nitratzusatz nach 4 Tagen: $20,4 \text{ umol/l}$). Eine deutliche Erhöhung der Rate um 30 % wurde durch die Zugabe von Acetat erzielt (bei Acetatzusatz nach 4 Tagen: $30,4 \text{ umol N}_2\text{O-N/l}$). Die Mengen an denitrifiziertem Stickstoff entsprechen 30 - 60 % der Menge, die bei Zusatz der gleichen Elektronendonatoren in den grenzschichtnahen Proben denitrifiziert wurden, wobei hier die grenzschichtnahe Probe mit $\text{H}_2\text{S} + \text{NO}_3^-$ -Zusatz der 180 m-Probe mit NO_3^- -Zusatz gegenübergestellt wurde. Vergleicht man die 180 m-Probe mit Acetatzusatz mit der 140 m-Probe mit Acetat+ H_2S -Zusatz so sieht man, daß hier fast identische Mengen N denitrifiziert wurden.

Verlauf der Zellzahlen:

Die alleinige Zugabe von Nitrat bedingte schon eine deutliche Zunahme der Zellzahlen, die sich durch Acetatzugabe noch geringfügig steigern ließ (s. Abb.32).

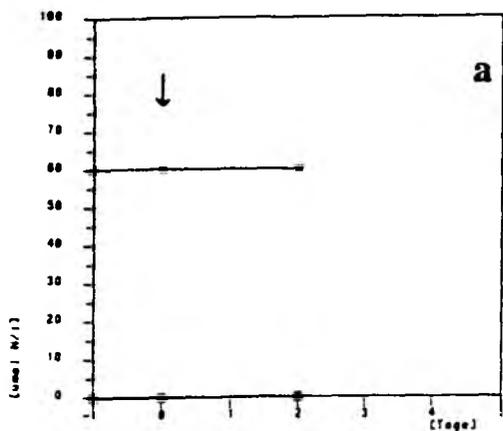
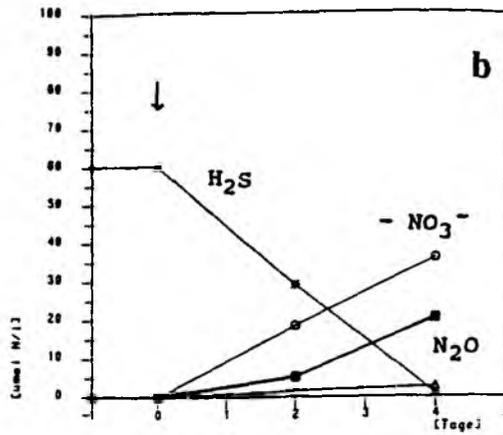
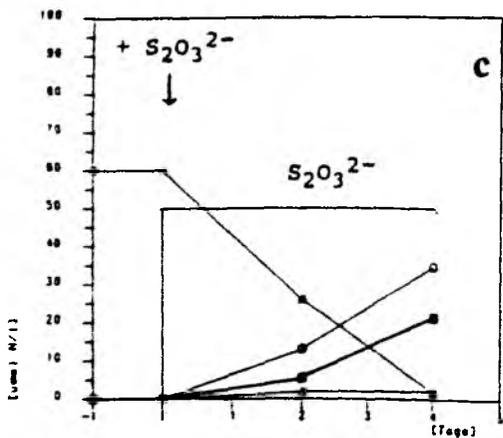
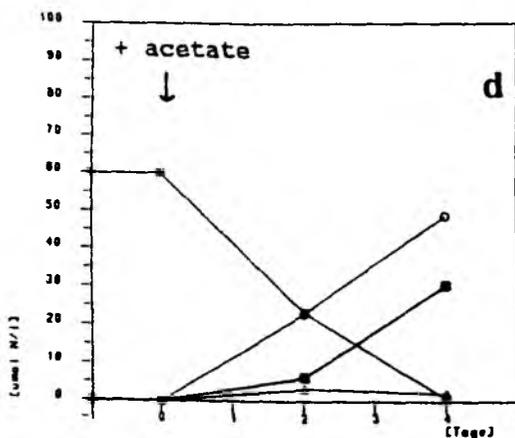
+ C₂H₂+ 100 μmol/l NO₃⁻ + C₂H₂○ = consumption of NO₃⁻ [μmol N/l]■ = N₂O△ = NO₂⁻* = H₂S [μmol/l]+ 50 μmol/l S₂O₃²⁻
+ 100 μmol/l NO₃⁻ + C₂H₂+ 50 μmol/l Acetat
+ 100 μmol/l NO₃⁻ + C₂H₂

Abb.31a-d:

Denitrifikation in Wasserproben aus anoxischem, H₂S-haltigen Tiefenwasser (180 m) nach Zugabe von Nitrat (100 μmol/l) und verschiedenen Elektronendonatoren (50 μmol/l). Als Vergleich wurde in Ansatz (a) nur Azetylen zugesetzt.

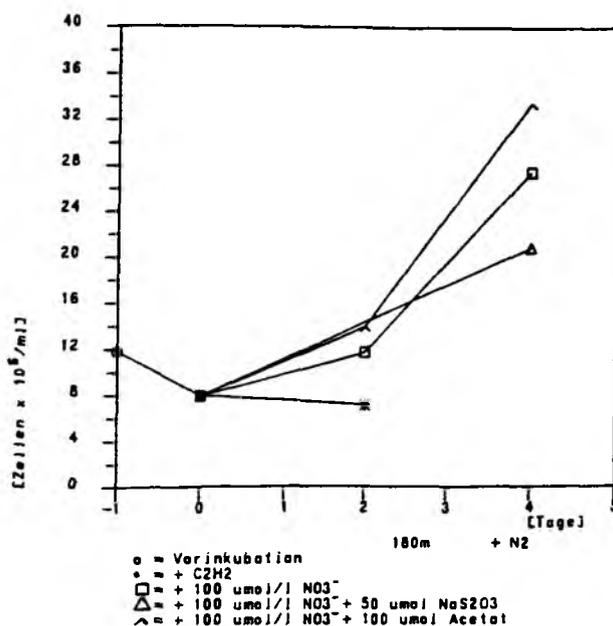


Abb.32:

Zellzahlzunahme in Wasserproben aus 180 m (anoxisches, H₂S-haltiges Tiefenwasser) nach Zugabe von Nitrat (100 µmol/l) und verschiedenen Elektronendonatoren (50 µmol/l). Diesen Proben war kein Azetylen zugesetzt worden.

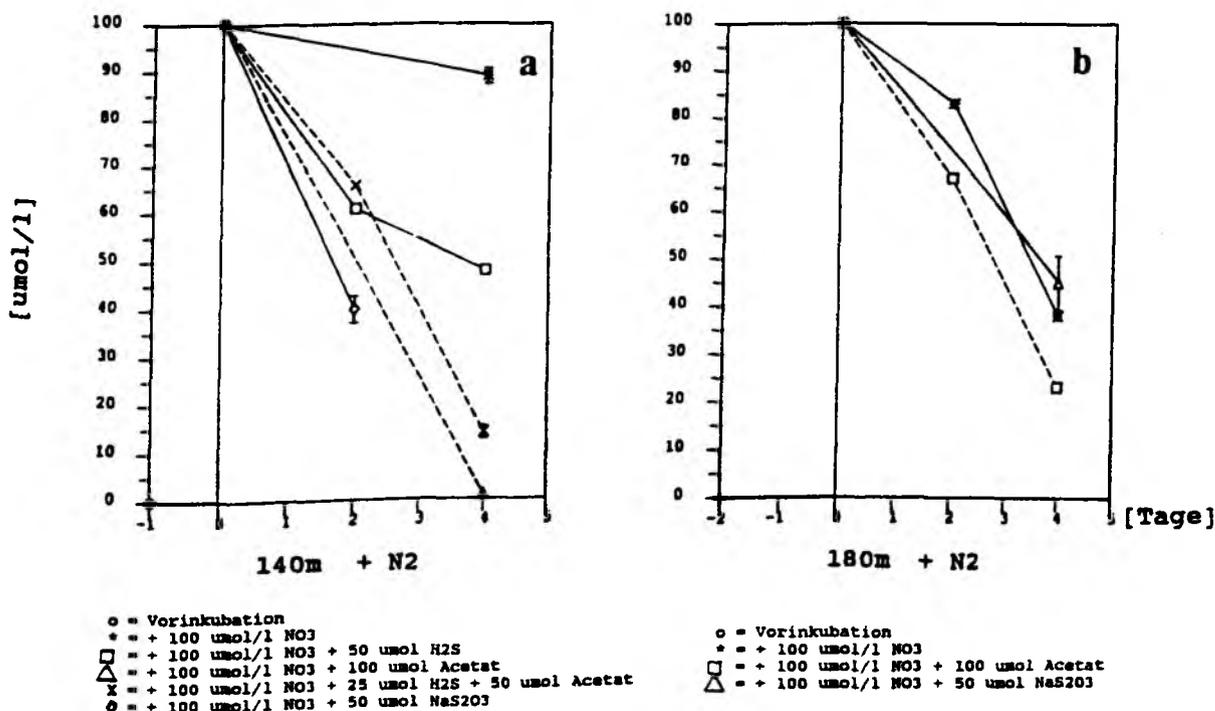


Abb.33a,b:

Vergleich der Nitratreduktion bei Wasserproben aus 140 m und 180 m des Gotlandtiefs nach Zugabe von Nitrat (100 µmol/l) und verschiedenen Elektronendonatoren (50 µmol/l). Diesen Proben war kein Azetylen zugesetzt worden.

Azetyleneinfluß:

Im Gegensatz zu den Proben aus der grenzschichtnahen Wasserschicht, die nur einen geringfügigen Einfluß des Azetylen auf die Stickstoffumsetzungen zeigten, kommt bei den 180 m-Proben insbesondere bei der 4-tägigen Inkubation ein hemmender Einfluß des Azetylen auf die Stickstoffumsetzung zum Tragen (vgl. Kap.2.9.).

Zeitlicher Verlauf der H₂S- und Thiosulfatoxidation:

Nach 4-tägiger Inkubation der Proben mit Nitrat war in allen Versuchsansätzen das ursprünglich vorhandene H₂S fast völlig aufgezehrt (Endkonzentration: zwischen 1,6 und 0,3 umol/l). Nach 2 Tagen Inkubation mit Azetylen lagen die H₂S-Konzentrationen zwischen 23,4 und 29,1. Die geringste H₂S-Zehrung trat bei ausschließlichem Nitratzusatz auf, die höchste bei Zusatz von Acetat. Nur bei Zusatz von Acetat war eine sehr stark unterschiedliche H₂S-Zehrung bei Proben mit und ohne Azetylenzusatz zu verzeichnen. Während nach 2-tägiger Inkubation der Proben mit Azetylen noch 23,4 umol/l H₂S vorhanden waren, war in den Parallelansätzen ohne Azetylen zu diesem Zeitpunkt die Konzentrationen bereits auf 0,8 umol/l abgesunken. Das zugesetzte Thiosulfat wurde in den 180 m-Proben im Gegensatz zu den 140 m-Proben nicht verwertet, weder in den Ansätzen mit, noch in denen ohne Azetylenzusatz.

3.1.4.2.3. Vergleich der Reaktion der Probe aus der grenzschichtnahen Wasserschicht mit der Probe aus dem H₂S-reichen Tiefenwasser

Azetyleneinfluß:

Ein wesentlicher Unterschied zwischen den Proben ist die unterschiedliche Reaktion auf Azetylenzusatz: während Azetylen bei den Proben aus 140 m nur bei Zusatz von Acetat+H₂S eine hemmende Wirkung auf die Stickstoffumsetzungen ausübte, kam dieser Hemmeffekt bei allen Versuchsansätzen mit Proben aus 180 m zum Tragen. Als Vergleichskriterium soll daher die Nitratabnahme in den Versuchsansätzen ohne Azetylenzusatz herangezogen werden (vgl. Abb.33a,b), um die azetylenbedingten Unterschiede auszusparen.

Verlauf der Denitrifikation:

Ein Vergleich der 180m-Probe mit Nitratzusatz und natürlich vorliegendem H₂S (61 umol/l), mit der 140m-Probe mit Zusatz von H₂S (50 umol/l) und Nitrat zeigt, daß die grenzschichtnahe Probe schneller auf den Substratzusatz reagierte, als die Tiefenwasserprobe. Der Hauptanteil der Nitratabnahme lag bei der 140m-Probe in den ersten beiden Tagen der Inkubation, bei der 180m-Probe zwischen den 2. und 4. Tag der Inkubation (Nitratabnahme nach 2 Tage Inkubation: 140 m: 38,7 umol/l, 180 m: 17,5 umol/l; nach 4 Tage Inkubation: 140 m: 51,7 umol/l, 180 m: 62,4 umol/l). Dabei stimmte in beiden Fällen die Nitratabnahme nach 4 Tagen in etwa mit dem Verbrauch an H₂S überein, d.h. pro mol H₂S wurde in etwa 1 mol NO₃⁻ reduziert.

Einen sehr ähnlichen Verlauf zeigten die Nitratkonzentrationen bei den Ansätzen aus 180 m mit Acetatzusatz verglichen mit den Proben aus 140 m mit Zusatz von Acetat + H₂S als Elektronendonatoren (Nitratabnahme nach 2 Tagen Inkubation: 140 m: 33,6 umol/l, 180 m: 33,5 umol/l; nach 4 Tage Inkubation: 140 m: 86,4 umol/l, 180 m: 77,2 umol/l). Da in den 180m-Proben das H₂S schon in der Wasserprobe vorlag, handelte es sich bei Proben beider

Tiefen um Nitratreduktion in Anwesenheit von Acetat und H_2S . Da keine Erhöhung der Ammoniumkonzentrationen zu verzeichnen war, ist anzunehmen, daß ein Großteil der verbrauchten Nitratmenge denitrifiziert wurde.

Verwertung von Thiosulfat und H_2S :

Bei Zusatz von Thiosulfat zeigten die 140m-Proben schon nach 2-tägiger Inkubationszeit eine höhere Nitrat-Abnahme, als die 180m-Probe nach 4-tägiger Inkubationszeit. Während das zugesetzte Thiosulfat in der 140m-Probe schon nach 2 Tagen aufgebraucht war, war bei der 180m-Probe auch nach 4 Tagen das zugesetzte Thiosulfat noch nachweisbar. Für die Bakterienbiozönose aus dem Grenzschichtbereich scheint Thiosulfat als Elektronendonator der Denitrifikation genutzt zu werden, wogegen im anoxischen Bereich die H_2S -Oxidation bevorzugt wurde. Die Nitrat-Abnahme bei den 180m-Proben war nach 4 Tagen bei Zusatz von Thiosulfat sogar etwas geringer, als nur bei Nitrat-zusatz. Auch dies deutet darauf hin, daß die denitrifizierende Bakterienbiozönose im anoxischen Tiefenwasser im Gegensatz zu der der Grenzschicht nicht in der Lage war, Thiosulfat als Elektronendonator zu verwenden.

3.1.4.2. Verwertung von partikulärem organischen Kohlenstoff (POC) im Bereich der Denitrifikationsschicht

Liu und Kaplan (1984) zeigten, daß die in marinen Wassersäulen angetroffenen Denitrifikationsraten eine gute Korrelation mit der Menge an organischem Material aufwies, die durch Partikelfluß aus der euphotischen Schicht den denitrifizierenden Teil der Wassersäule erreicht. Ausgehend von den Daten über die Primärproduktion errechneten sie, welche Menge an POC in die Schichten der Denitrifikation transportiert wurde. Für die Reduktion von 1 mol NO_3^- zu N_2 wurde bei ihren Berechnungen die Oxidation von $5/4$ mol organischem Kohlenstoff (Oxidationsstufe von C = 0) eingesetzt, für die Reduktion von NO_3^- zu NO_2^- $1/2$ mol C.

Ausgehend von dem in diesen Berechnungen aufgezeigten Zusammenhang zwischen Verfügbarkeit des POC in der Denitrifikationsschicht und den mit verschiedenen anderen Techniken ermittelten Denitrifikationsraten, sollte nun auch für die Wassersäule des Gotlandtiefs die Verteilung und die Verwertbarkeit des POC in Zusammenhang mit der Denitrifikation untersucht werden.

Untersuchungen zur Verwertbarkeit des POC:

1986 wie 1987 zeigte das Vertikalprofil des POC in der Wassersäule des Gotlandtief höhere Konzentrationen in der euphotischen Schicht und in der sedimentnahen Wasserschicht. Die niedrigsten POC-Konzentrationen wurden in der sauerstoffarmen Wasserschicht zwischen Halokline und Chemokline angetroffen (vgl. Abb.18d, 19d). In der H_2S -haltigen Wasserschicht erfolgte ein leichter Anstieg des POC-Gehalts.

Um die Verwertbarkeit des vorliegenden POC für die Denitrifikation zu erfassen, wurden die POC-Änderungen 1986 in Wasserproben von oberhalb und aus der Denitrifikationsschicht untersucht. Die Wasserproben stammten aus denselben Schöpfern, wie die Proben für die Denitrifikationsratenbestimmung. Die POC-Konzentration sowie NO_2^- , NO_3^- und NH_4^+ wurden vor und nach der Inkubation unter Zusatz von $500 \mu\text{mol/l}$ Nitrat gemessen. Inkubiert wurde 100 Tage lang bei in situ-Temperatur. Ziel der Untersuchung war, dem Verbrauch an POC die dabei reduzierte Nitratmenge gegenüberzustellen.

Zu Vergleichszwecken wurden parallel zu den 100-Tages-Inkubationen Wasserproben ohne Nitratzusatz 12 Tage lang inkubiert. Dieser Ansatz sollte der Abschätzung der Stickstoffumsetzungen ohne die Beeinflussung durch Nitratzusatz dienen.

Abbaubarkeit des POC und Denitrifikation:

Die POC-Konzentrationen in Wasserproben von oberhalb der Denitrifikationsschicht (120m: 75 ug/l; 130m: 83 ug/l) unterschieden sich nur geringfügig von der denitrifizierenden Wasserproben (140m: 85 ug/l). Nach 100 Tagen war der POC-Gehalt der Wasserproben von oberhalb der Denitrifikationsschicht um 39 (120m) bzw. 33 ug/l (130m) reduziert. Die denitrifizierende Wasserprobe wies hingegen einen Anstieg des POC-Gehalts um 43 ug/l auf (vgl. Abb.34 und Tab.2).

Die Änderungen der Nitratkonzentrationen während der 100-Tages-Inkubation waren so geringfügig, daß sie vor dem Hintergrund des zugesetzten Nitrat kaum quantifiziert werden konnten. Bei den Proben von oberhalb der Denitrifikationsschicht (130 m u.120 m) konnte keine Änderung der Nitrat- und Nitritkonzentration festgestellt werden. Die Proben aus der Denitrifikationsschicht wiesen eine Nitrat- und Nitritabnahme um etwa 5,9 umol/l, und einen Nitritanstieg um 3,2 umol/l auf. In allen Proben lagen die N_2O -Konzentrationen am Ende der Inkubation über der Konzentration, die dem Sättigungswert bei atmosphärischem N_2O -Partialdruck entsprochen hätte. H_2S wurde in keiner Probe nach der Inkubation angetroffen.

In Proben von oberhalb der eigentlichen Denitrifikationsschicht konnte selbst bei 100-tägiger Inkubation keine Denitrifikation nachgewiesen werden. In den Proben aus der Denitrifikationsschicht wurden in 100 Tagen 3,2 umol/l NO_3^- zu NO_2^- reduziert. Da bei dieser Probe eine Zunahme der POC-Konzentration erfolgte, ist es nicht möglich die Nitratreduktion einem POC-Verbrauch gegenüberzustellen. Nach den Berechnungen von Liu und Kaplan (s.o.) wären für die Reduktion von 3,2 umol/l NO_3^- zu NO_2^- 1,6 umol/l organischer Kohlenstoff erforderlich, was einer POC-Abnahme von 19,3 ug C/l entsprechen würde. Da die Nitratbestimmungen vor dem hohen Hintergrundwert relativ ungenau waren, und in den Proben selbst keine Denitrifikationsraten bestimmt werden konnten, da hier kein Azetylen zugesetzt war, läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, ob die noch fehlenden 2,7 umol/l NO_3^- denitrifiziert wurden. (Diese hätten bei Denitrifikation bis zu N_2 weitere 40,2 ug C/l POC verbraucht, wodurch der Gesamt-POC-Verbrauch auf 59,5 ug/l ansteigen würde.)

Da in der Probe zu Beginn der Inkubation H_2S vorhanden war, ist es sinnvoll die Reduktion der 3,2 umol/l NO_3^- auf die zur Reduktion notwendige H_2S -Menge zu beziehen. Für die Reduktion zu NO_2^- wären 0,8 umol/l H_2S (bei Oxidation des H_2S bis zu SO_4^{2-}) erforderlich gewesen.

Die Oxidation der 33,4 bzw. 39,0 ug/l POC in den Wasserproben von oberhalb der Denitrifikationsschicht würde 2,78 bzw. 3,25 umol/l O_2 benötigen. Bei einer Sauerstoffkonzentration zur Zeit der Probenahme von 31,7 umol/l (130m) bzw. 58,0 umol/l (120m), kann der POC-Abbau nur für eine geringfügige Sauerstoffzehrung um 9% bzw. 6% der Anfangskonzentration verantwortlich sein. Die innerhalb von 12 Tagen Inkubation

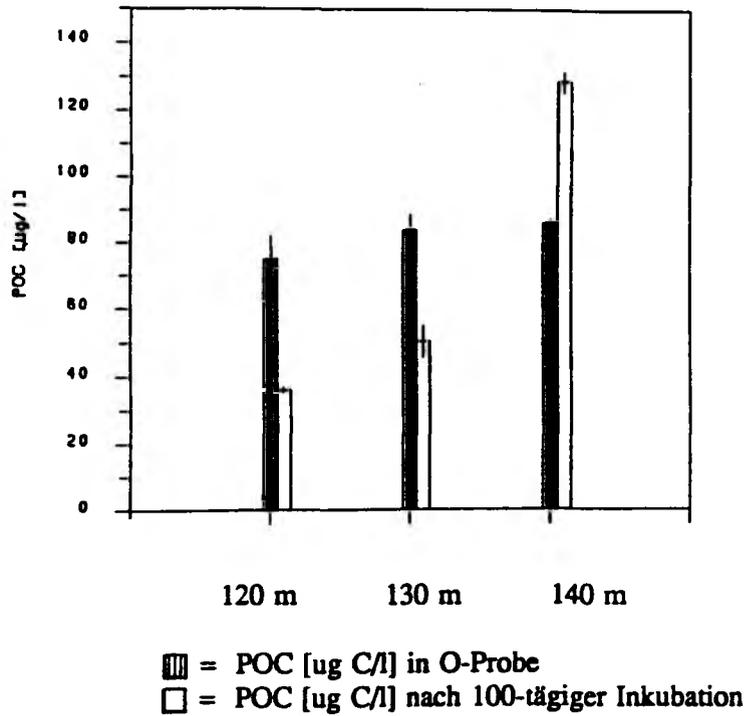


Abb.34:
Änderung des Gehaltes an partikulärem organischen Kohlenstoff (POC) in Proben aus 120 bis 140 m Tiefe des Gotlandtiefes (1986) während 100-tägiger Inkubation mit Nitratzusatz ($500 \mu\text{mol/l}$).

verzeichnete Nitratzunahme (unter Einbeziehung der Änderung der Nitritkonzentration) würde dagegen etwa 9 (130m) bzw. 10 $\mu\text{mol/l}$ (120m) O_2 -Zehrung bewirken. Nitrifikation plus POC-Abbau würden den Sauerstoffgehalt der 130m-Probe um 11,8 $\mu\text{mol/l}$ O_2 (0,27 ml/l) auf etwa 20 $\mu\text{mol/l}$ (= 0,45 ml/l) senken, den O_2 -Gehalt der 120m-Probe um 13,1 $\mu\text{mol/l}$ (= 0,29 ml/l) auf etwa 45 $\mu\text{mol/l}$ (= 1,01 ml/l). Bei der 130m-Probe liegt die berechnete Sauerstoffzehrung mit 11,8 $\mu\text{mol/l}$ niedriger als der Biologische Sauerstoffbedarf (BOD_7 bei ca. 20° C) mit 19,4 $\mu\text{mol/l}$ (= 0,434 ml/l).

Dies bedeutet, daß der Abbau des in 100 Tagen verwertbaren POC eine geringere Sauerstoffmenge zehrt, als die in 12 Tagen ablaufende Nitrifikation. Aufgrund der Tatsache, daß der Großteil der während 12 Tagen Inkubation abgelaufene Nitrifikation in den ersten beiden Inkubationstagen zu verzeichnen war, wird davon ausgegangen, daß auch bei der 100-tägigen Inkubation keine sehr viel höhere Nitrifikation als in den ersten 12 Tagen erzielt worden war (vgl. Kap.3.1.2. über Nitrifikation). Eine etwas geringere Sauerstoffzehrung durch die Nitrifikation würde man bei Verwendung der von Gundersen und Mountain (1973) erzielten Sauerstoffverbrauchsrate erhalten. Nach ihren Untersuchungen werden pro mol NO_3^- -Bildung aus NH_4^+ nur 1,82 mol O_2 benötigt. Der oben berechnete Sauerstoffverbrauch durch Nitrifikation übertrifft aber, auch mit dem Faktor 0,91 multipliziert, immer noch bei weitem den Sauerstoffverbrauch durch POC-Abbau.

Die 130m-Probe, die 10 m über der denitrifizierenden Probe entnommen wurde, erreicht sowohl bei Verwendung des BOD_7 -Wertes, als auch bei Berechnen der Sauerstoffzehrung aus POC-Abbau und Nitrifikation keine Sauerstoffkonzentrationen unter 12,3 $\mu\text{mol/l}$ (= 0,28 ml/l). Sieht man den POC als den für die Denitrifikation verwertbare organischen Kohlenstoff an, so würde das bedeuten, daß der verwertbare organische Kohlenstoff schon vor Absenken der Sauerstoffkonzentration auf Denitrifikation erlaubende Konzentrationen (< 0,2 ml/l) in dieser Schicht aufgebraucht war.

Der Vergleich von POC-Verfügbarkeit in den Schichten oberhalb der Denitrifikation zur Denitrifikationsleistung und Verfügbarkeit des H_2S in der Denitrifikationsschicht erhellt die Bedeutung des H_2S gegenüber dem POC als Elektronendonator der Denitrifikation in einem solchen Ökosystem: 1 mol H_2S kann ebenso viel Reduktionspotential für die Denitrifikation bereitstellen, wie 2 mol organischer Kohlenstoff (= 24 μg C). In denitrifizierenden Wasserproben wurden bis zu 6,4 $\mu\text{mol/l}$ H_2S (130m, 1987) angetroffen. Dies würde einem Elektronendonatorpotential von 154 $\mu\text{g/l}$ C gleichkommen. Diese Menge könnte durch den POC - bei Annahme, daß die POC-Verfügbarkeit in der Denitrifikationsschicht ähnlich der der darüberliegenden Wasserschicht war (33 - 39 $\mu\text{g/l}$ POC verwertbar) - bei weitem nicht zur Verfügung gestellt werden.

Tab.2.:

Rahmenparameter zum POC-Abbauversuch:

Konzentrationen in den Wasserproben direkt nach Probenahme (1) und nach 100-tägiger Inkubation mit Zusatz von 500 $\mu\text{mol/l}$ NO_2^- (2). Die Änderungen der Sauerstoffkonzentrationen (*) errechneten sich aus dem POC-Verbrauch und der Nitrifikation (nach Richards (1965) wurde pro mol mineralisierten organischen Kohlenstoffs der Verbrauch von 1 mol O_2 und pro Nitrifikation von 1 mol NH_3 zu NO_3^- der Verbrauch von 2 mol O_2 berechnet). Unter 3) sind die Konzentrationsänderungen für 12-tägige Inkubation ohne Nitratzusatz angegeben. Die hier ermittelten Änderungen der Nitrit- und Nitratkonzentration wurden zur Abschätzung der Nitrifikation verwendet (vgl. Kapitel 3.1.3.3.). In Klammern ist jeweils die Standardabweichung angegeben.

Tiefe (m)	Ink.zeit (Tage)	NO_2^-	NO_3^- ($\mu\text{mol/l}$)	NH_4^+	O_2 (ml/l)	POC ($\mu\text{g/l}$)	Zellzahl (x 105/ml)	Zellzahl(%) GF/F-Filtrat
1)120 m	0	0.07	7.0	0.2	1.30	74.7 (14.6)	2.42	29.8%*
2) "	100	+ 0.01 (0.00)	+ 0.0 (5.3)	+ 0.7 (0.0)	- 0.29*	- 39.0 (1.2)	1.63 -	3.5% -
3) "	12	+ 0.04 (0.00)	+ 4.9 (0.4)	+ 0.6 (0.0)			3.54 -	35% -
1)130 m	0	0.08	6.2	0.3	0.71	82.7 (9.90)	3.49	28.8%*
2) "	100	+ 0.00 (0.00)	- 0.2 (3.5)	+ 0.6 (0.1)	- 0.27*	- 33.4 (10.9)	4.05 (2.98)	4.5% (4.0)
3) "	12	+ 0.03 (0.04)	+ 4.5 (0.3)	+ 0.3 (0.4)			3.48 (1.52)	38.6% (13.9)
1)140 m	0	0.18	0.7	2.0	0.13	84.9 (1.30)	9.32	10.5%*
2) "	100	+ 3.22 (0.14)	- 5.9 (12.4)	- 1.0 (0.5)		+ 42.6 (7.7)	6.01 (0.92)	4.2% (1.9)
3) "	12	- 0.10 (0.00)	- 0.0 (0.4)	+ 0.5 (0.4)			7.97 (3.53)	18.5% (0.3)

* diese Werte wurden bei den Untersuchungen 1987 ermittelt. Da die Proben sehr vergleichbar waren, dürften die Werte für 1986 auch Gültigkeit haben.

Bei der POC-Bestimmung mit den hier angewandten GF/F-Glasfaserfiltern (Whatman), wurde nur ein geringer Anteil des bakteriellen Kohlenstoffes nicht erfaßt. Bei der Filtration der 1987 frisch entnommenen Wasserproben von oberhalb und aus der Denitrifikationsschicht (Proben von 110, 120 und 130m Tiefe, 1987, s. Tabelle 2., Angaben mit "s") passierten 10 - 30 % der Bakterienzellen den Filter. Die im Filtrat enthaltenen Bakterien wiesen ein sehr geringes mittleres Zellvolumen von $0,0256 - 0,0295 \mu\text{m}^3$ auf. Die Anzahl der Zellen im Filtrat war bei diesen Proben fast identisch: etwa 1×10^5 Zellen ($x = 0,993 \times 10^5$, $s = 0,025 \times 10^5$). Die im Filtrat enthaltene bakterielle Biomasse lag zwischen $2,61$ und $2,90 \mu\text{m}^3$. Bei Verwendung von volumenabhängigen Umrechnungsfaktoren (Simon und Azam, 1989) entspricht die bakterielle Biomasse im Filtrat $1 \mu\text{g/l C}$.

Nach 100-tägiger Inkubation verringert sich der Anteil an bakteriellem Kohlenstoff, der bei der Filtration nicht erfaßt wurde, noch weiter. Hier passierten nur noch 1,7 bis 7,3 % (ungemittelte Werte) der Bakterien, im Mittel 3,5 bis 4,5 %, den Filter. Nur $0,06$ bis $0,25 \times 10^5$ Zellen lagen im Filtrat vor. Bei Annahme desselben mittleren Zellvolumens wie bei den 0-Proben würde dies einer bakteriellen Kohlenstoffmenge im Filtrat von $0,06 - 0,25 \mu\text{g/l C}$ gleichkommen.

Dies bedeutet, daß die POC-Änderungen in diesen Versuchsansätzen nicht sehr stark durch unterschiedliche Erfassung der bakteriellen Biomasse beeinträchtigt worden waren. Die Verlusten an bakteriellem Kohlenstoff dürften sich zwischen $1 \mu\text{g/l C}$ (0-Probe) und annähernd $0 \mu\text{g/l C}$ (100-Tages-Wert) bewegt haben, wesentlich niedrigere Werte als die erhaltenen POC-Änderungen (max. 3% der erzielten POC-Abnahme) zwischen 0-Probe und 100-Tages-Wert.

3.2. N₂O-Produktion durch die Denitrifikation nach Zusatz verschiedener Elektronendonatoren

Der Untersuchung der N₂O-Produktion liegen die in Kapitel 3.1.4. beschriebenen Versuche zur Verwertbarkeit verschiedener Elektronendonatoren für die Denitrifikation im Gotlandtief im Sommer 1987 zugrunde. Weiterhin wurden die Versuche zur Denitrifikation mit Glucose- und Acetatzusatz mit Wasserproben aus Station T zu Vergleichszwecken herangezogen (vgl. Kap.3.4.4.). Die untersuchten Proben stammten aus dem O₂-armen (Station T: 0,14 ml/l O₂), bzw. O₂-freien, H₂S-haltigen Teil der Wassersäule (Gotlandtief: 140 m: 9-12 umol/l H₂S, 180 m: 61 umol/l H₂S). Zu Beginn der Inkubation bei in situ-Temperatur wurde den Proben 100 umol/l NO₃⁻ und Elektronendonatoren zugesetzt. Als Elektronendonatoren wurden H₂S, Thiosulfat, Acetat, sowie H₂S und Acetat gleichzeitig zugesetzt. In Tabelle 3. sind Herkunft der Proben, sowie der Zusatz der verschiedenen Elektronendonatoren aufgeführt. Die Proben wurden parallel mit und ohne Azetylenzusatz inkubiert.

Als N₂O-Produktion unter denitrifizierenden Bedingungen wurde die Produktion der Menge N₂O angesehen, die auftrat, ohne daß den Proben Azetylen zugesetzt worden war. Die so produzierte N₂O-Menge betrug zwischen 0 - 25,8 umol N/l. Bei Zusatz von Acetat trat in Proben ohne H₂S überhaupt keine N₂O-Bildung auf. In der Wasserprobe von Station T vorhandenes N₂O (0,1 umol) wurde bei Acetatzusatz quantitativ aufgebraucht. Die größte N₂O-Produktion erfolgte bei gleichzeitigem Vorliegen von H₂S und Acetat in der Probe: 25,8 umol/l bei Proben aus 140 m des Gotlandtiefs (ca. 5 m von unterhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht), 10,2 umol/l bei Proben aus 180 m Tiefe.

Um die N₂O-Produktion auf die Gesamtaktivität der Nitratreduktion zu beziehen, ist in der Tabelle 3. die N₂O-Produktion prozentual zur Nitrat-Abnahme angegeben (= (N₂O / Nitrat-Abnahme(-NO₃⁻)) x 100), im folgenden wird diese Angabe als "relative N₂O-Produktion" bezeichnet. N₂O-Produktion und Nitrat-Abnahme beziehen sich hier auf die Versuchsansätze ohne Azetylenzusatz. Auch die relative N₂O-Produktion zeigte die höchsten Werte bei H₂S+Acetat-Zusatz (29,8%), und war am niedrigsten bei Acetatzusatz (0,0%).

Als Vergleichskriterium der N₂O-Produktion zur Denitrifikationsrate wurde die relative N₂O-Produktion ohne Azetylenzusatz prozentual zur relativen N₂O-Produktion mit Azetylenzusatz (= Denitrifikationsrate) dargestellt. Der Vergleich der relativen Raten wurde wegen des zum Teil vorhandenen, hemmenden Einflusses des Azetylens auf die Nitratreduktion (vgl. Kap. 2.9.) gewählt. Dadurch wird in Ansätzen mit und ohne Azetylen die N₂O-Produktion auf die Nitratreduktion bezogen, und damit der Fehler, der durch die unterschiedlich schnelle Nitratreduktion bei Ansätzen mit und ohne Azetylen auftrat, kompensiert. Entsprechend dieser Normierung des Anteils der N₂O-Produktion an der Gesamt-denitrifikation wurden die maximale N₂O-Produktion von 66 % bei Vorliegen von H₂S + Acetat in Proben aus 140 m (Gotlandtief) festgestellt. Bei Zusatz anderer Elektronendonatoren lag der Anteil des N₂O an der Gesamt-denitrifikation zwischen 0 und 9.5 % (vgl. Tab. 3.).

Tabelle 3:

Einfluß der Elektronendonatoren auf die N_2O -Produktion:
 Den Proben waren verschiedene Elektronendonatoren und Nitrat (100 $\mu\text{mol/l}$) zugesetzt. Die Proben wurden aus 140 m und 180 m Tiefe des Gotlandtiefs (1987) und 120 m Tiefe von Station T (1986) entnommen. Dargestellt sind die N_2O -Produktion bei Proben ohne Azetylenzusatz (=1), das prozentuale Verhältnis von N_2O -Produktion zu Nitratabnahme ohne Azetylenzusatz $((N_2O/-NO_3^-)^{OAc} \times 100)$ (= "relative N_2O -Produktion" bzgl. der Nitratabnahme) (=2) und das prozentuale Verhältnis der relativen N_2O -Produktion bei Proben ohne Azetylenzusatz zur relativen N_2O -Produktion bei Azetylenzusatz $((N_2O/-NO_3^-)^{OAc}/(N_2O/-NO_3^-)^{+Ac}) \times 100$ (=3).

Tiefe (m)	e^- -donatoren ($\mu\text{mol/l}$)	Ink.zeit (Tage)	N_2O^{OAc} (1) ($\mu\text{mol N/l}$)	$N_2O/-NO_3^{-OAc}$ (2) (%)	rel. N_2O^{OAc} (3) /rel. N_2O^{+Ac} (%)
-----------	--	-----------------	--	-----------------------------	--

a) Gotlandtief 1987:

Proben aus 140 m: H_2S : 0.0 (bei Substratzusatz), O_2 :0.0, $NO_3^- + NO_2^-$:0.0, (H_2S : 9-12 $\mu\text{mol/l}$ bei Probenahme)

140	--	2	n.e.	n.e.	n.e.
	--	4	0.14	5.4	18.7
140	H_2S (50)	2	0.9	2.3	3.6
	"	4	2.9	5.5	7.6
140	H_2S (25) + Acetat (50)	2	1.4	4.3	11.8
	"	4	25.8	29.8	66.1
140	Acetat (100)	2	n.e.	n.e.	n.e.
	"	4	0.0	0.0	0.0
140	$S_2O_3^{2-}$ (50)	2	0.8	1.3	1.9
	"	4	n.e.	n.e.	n.e.

Proben aus 180 m: H_2S :61.2; O_2 :0.0; $NO_3^-+NO_2^-$:0.0

180	--	2	n.e.	n.e.	n.e.
	"	4	3.4	5.4	9.5
180	Acetat (100)	2	2.8	8.5	31.0
	"	4	10.2	13.2	21.2
180	$S_2O_3^{2-}$ (50)	2	n.e.	n.e.	n.e.
	"	4	0.9	1.6	2.6

Proben aus Nitrifikationsschicht von Station T aus 120 m Tiefe: (H_2S :0.0; NO_3^- :8.7; NO_2^- :1.4; O_2 :0.14 ml/l)

120	Glucose (50)	8	0.277	0.3	2.6
120	Acetat (150)	8	0.000	0.0	0.0

zum Vergleich denitrifizierende Proben aus oxisch-anoxischer Grenzschicht 1987 ohne Zusatz von Elektronendonator, Nitratzugabe nur, wenn angegeben. (H_2S :6.4; O_2 :0.0, NO_3^- :0.7, NO_2^- :0.3;)

130	--	2	0.014	2.6	18.1
		4	0.004	0.8	2.3
130	NO_3^- (50)	4	0.040	1.6	21.3

n.e. = nicht ermittelter Wert

Vergleicht man die relative N_2O -Produktion (bei Ansätzen ohne Azetylen) verschiedener Proben bei Zusatz derselben Elektronendonatoren, so erhält man sehr ähnliche Werte (vgl. Tab.3a). Bei Acetat wurde kein N_2O detektiert, bei Zusatz von Thiosulfat lag die relative N_2O -Produktion zwischen 1,3 und 1,6 %, bei Vorliegen von H_2S zwischen 2,3 und 5,5 %. Am breitesten ist die Streuung bei gleichzeitigem Vorliegen von H_2S und Acetat - dies ist auch bei Acetatzusatz zu den 180m-Proben der Fall - : hier lagen die Werte zwischen 4,3 und 29,8 %.

Tab.3a:

Relative N_2O -Produktion (%) bei Vorlage verschiedener Elektronendonatoren bei Proben aus dem Gotlandtief (G) und von Station T (T)

N_2O -Produktion (%) bei folgenden Elektronendonatoren:

	H_2S +Acetat	H_2S	$S_2O_3^{2-}$	Acetat	Glucose
Probe :					
G 140 m	4.3/29.8	2.3/5.5	1.3	0.0	
G 180 m	8.5/13.2	5.4	1.6		
T 120 m				0.0	0.2
x	14.0	4.4	1.5	0.0	0.2
(s)	(11.2)	(1.8)	(0.2)	(0.0)	
Werte- bereich	4.3-29.8	2.3-5.5	1.3-1.6	0.0	

Ein wesentlich engeres Wertespektrum wird erzielt, wenn nur die Werte der 4-Tagesinkubation verglichen werden. Sowohl bei den Proben aus 180 m, als auch bei den 140 m-Proben läßt sich die relative N_2O -Produktion nach ihrer Höhe hinsichtlich der Elektronendonatoren in derselben Reihenfolge staffeln:

Relative N_2O -Produktion (%) nach 4 Tagen Inkubation (Gotlandtief 1987):



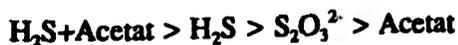
Probe :

G 140 m	29.8	> 5.5	> 1.3*	> 0.0
G 180 m	13.2	> 5.4	> 1.6	

*: hier wurde der Wert für die 2-Tagesinkubation eingesetzt

In derselben Reihenfolge läßt sich auch das Verhältnis der relativen N_2O -Produktion zur relativen Denitrifikationsrate staffeln:

rel. N_2O^{Ac} /rel. N_2O^{+Ac} (%) nach 4 Tagen Inkubation (Gotlandtief 1987):



Probe :

G140 m	66.1	> 7.6	> 1.9*	> 0.0
G180 m	21.2	> 9.5	> 2.6	

*: hier wurde der Wert für die 2-Tagesinkubation eingesetzt

Die relative N_2O -Produktion stimmte bei Vergleich der verschiedenen Proben besser überein, als das Verhältnis von relativer N_2O -Bildung zu relativer Denitrifikationsrate.

Jedem Elektronendonator ließ sich ein Wertebereich für die relativen N_2O -Produktion zuteilen. Überschneidungen der Bereiche traten nur bei dem 2-Tageswert der 140 m-Probe mit Acetat+ H_2S auf. Dieser Wert lag in dem Bereich, der für die H_2S -Verwertung ermittelt wurde.

Zum Vergleich wurden in Tab.3 die relative N_2O -Produktionen ohne Elektronendonatorzusatz bei der 140 m-Probe und denitrifizierenden Wasserproben mit und ohne Nitratzusatz (50 $\mu\text{mol/l}$) aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht des Gotlandtiefs 1987 aufgeführt. Nach der Zuordnung der relativen N_2O -Produktion zu verschiedenen Elektronendonatoren, würde die 140 m-Probe in den Bereich der H_2S -Verwertung fallen. Die denitrifizierenden Wasserproben (130 m) wären bei der 2-Tagesinkubation ebenfalls der H_2S -Verwertung, bei den 4-Tages-Inkubationen mit und ohne Nitrat eher der Thiosulfatverwertung zuzuordnen. Ob diese Zuordnung zulässig ist, wäre allerdings erst noch in weiteren Versuchen zu klären.

3.3. Bakteriologische Parameter im Gotlandtief 1986 und 1987

In diesem Kapitel werden die Anzahl der nitratreduzierenden und denitrifizierenden Bakterien, die mit unterschiedlichen Medien und Methoden quantifiziert wurden, untereinander verglichen. Als Bezugsgröße für diese Bakterien, wurde die Gesamtbakterienzahl und die Saprophytenzahl (aerob, auf ZB) gewählt. Das Verhältnis der Bakterienzahl, die auf Medien ermittelt wurde, zur Gesamtbakterienzahl soll als Parameter für die Aktivität der jeweiligen physiologischen Gruppe gewertet werden (Rasimov-Koeffizient). Der Bezug zur Saprophytenzahl soll in erster Linie zur Orientierung an einem klassischen Parameter dienen, für den insbesondere für die vorliegenden Untersuchungsbereich eine langjährige und gut dokumentierte Datenbasis vorliegt (Rheinheimer 1984, Rheinheimer et al. 1989).

3.3.1. Gesamtbakterienzahl

Der Verlauf der Gesamtbakterienzahl in der Wassersäule zeigte 1986 wie 1987 ähnliche Ausprägung: Die Gesamtbakterienzahl wies einen Konzentrationsbereich von $0,12 \times 10^6$ bis $4,4 \times 10^6$ Bakterien/ml auf. Die höchste Bakteriendichte wurde in der euphotischen Schicht (1986 10m: $4,4 \times 10^6$, 1987 10m: $3,0 \times 10^6$) angetroffen. Zwei weitere Maxima lagen im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht (1986 130m: $1,4 \times 10^6$, 1987 130m: $1,1 \times 10^6$) und in der sedimentnahen Wasserschicht (1986 2 m über Grund: $1,4 \times 10^6$; 1987 235m: 1,7

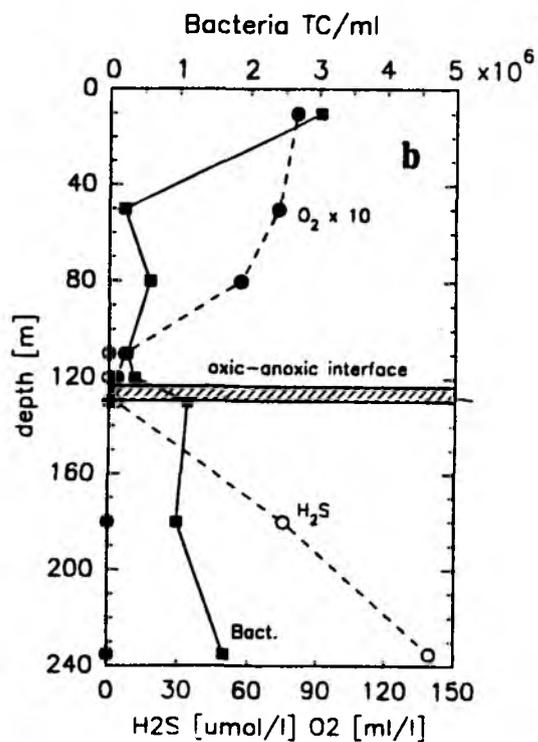
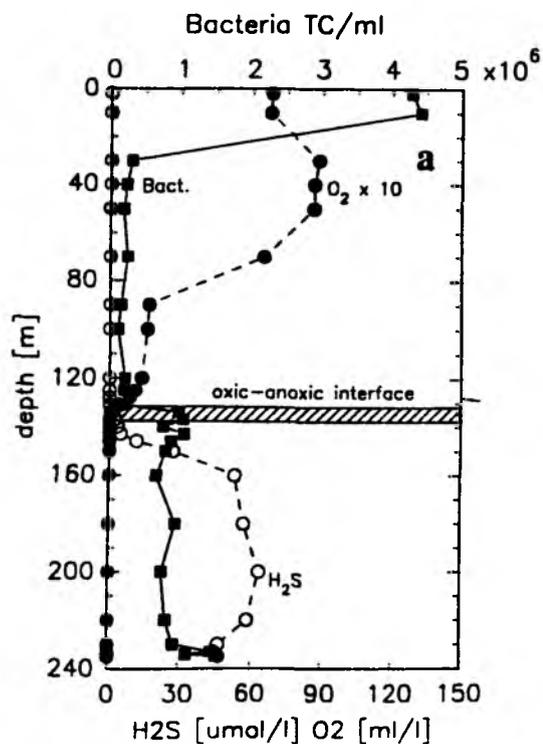


Abb.35a,b:
Gesamtbakterienzahl (DC) im Gotlandtief
a = 1986, b = 1987

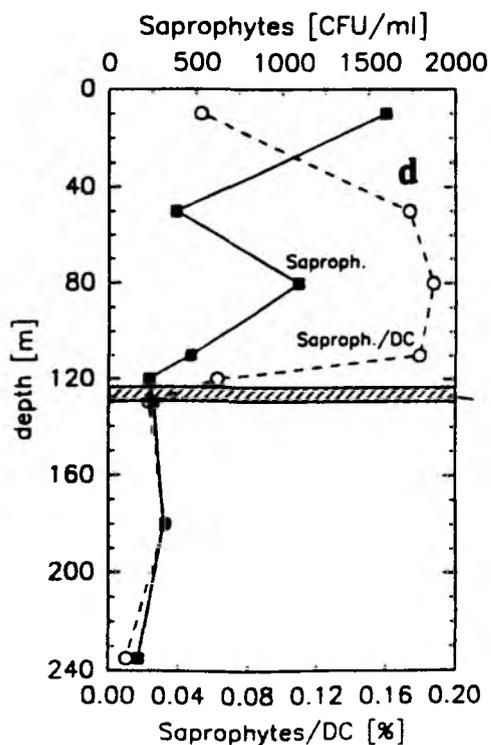
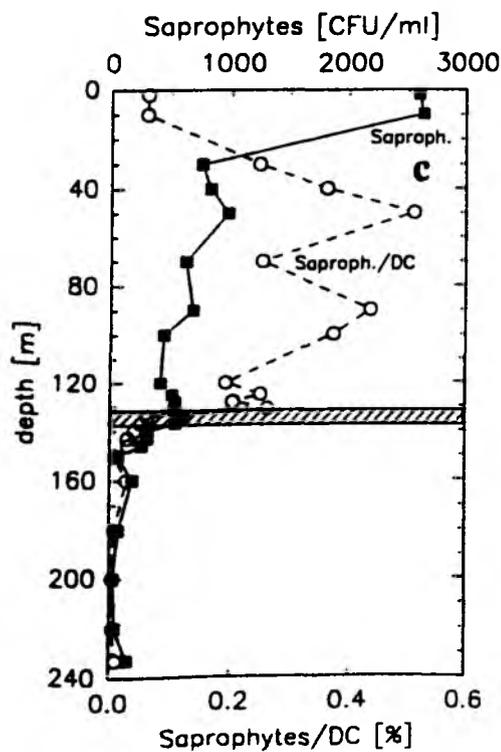


Abb.35c,d:
Saprophytenzahl (aerob auf ZB bebrütet), und prozentuales Verhältnis von Saprophytenzahl zur Gesamtbakterienzahl (Sapr./DC).
c = 1986, d = 1987

$\times 10^6$). Die niedrigsten Bakteriendichten wurden stets in der oxischen Wasserschicht zwischen euphotischer Schicht und oxisch-anoxischer Grenzschicht angetroffen (vgl. Abb.35a,b). Die Halokline bildete zeitweise hier eine Ausnahme. 1987 war am Unterrand der Halokline (80m) ein leichter Anstieg der Bakteriendichte zu verzeichnen.

Vergleicht man oxische und anoxische Wasserschicht, unter Nichtberücksichtigung der Maxima in der euphotischen Schicht, der oxisch-anoxischen Grenzschicht und der sedimentnahen Wasserschicht, so wird deutlich, daß die Bakteriendichte in der oxischen Wasserschicht wesentlich niedriger lag, als in der anoxischen. Die oxische Wasserschicht wies 1986 im Mittel $2,1 \times 10^5$ Bakterien/ml ($s = 24 \%$) auf, eine um den Faktor 3,8 geringere Dichte, als die anoxische Wasserschicht mit $8,0 \times 10^5$ Bakterien/ml ($s = 14 \%$). Ähnlich waren auch die Bakteriendichten 1987. Oxische und anoxische Wasserschicht unterschieden sich hier um den Faktor 3,4.

3.3.2. Saprophytenzahlen auf Zobell-Brackwasser-Agar (ZB)

a) aerob bebrütete Saprophyten

1986 wurden die Saprophytenzahlen mit dem Koch'schen Plattenverfahren ermittelt. 1987 wurden die Proben auf demselben Agarmedium ausgespatelt. Beide Ansätze waren gut miteinander vergleichbar, wie ein Vergleich, der 1986 durchgeführt wurde, zeigte. Eine lineare Regression für die Werte, die mit beiden Verfahren ermittelt wurde, ergab eine gute Korrelation ($r = 0,944$).

1986 wurden Saprophytenzahlen zwischen 29 und 2627 CFU (colony forming units)/ml ermittelt, 1987 zwischen 170 und 1600 CFU/ml. Die Saprophytenzahlen zeigten 1986 und 1987 im oxischen Teil der Wassersäule einen ähnlichen Verlauf wie die Gesamtbakterienzahlen, mit deutlich ausgeprägtem Maximum in der euphotischen Schicht (vgl. Abb. 35c,d). 1986 korrespondierte auch der deutliche Anstieg in der oxisch-anoxischen Grenzschicht. 1987 lag ein Anstieg bei Proben vom Unterrand der Halokline bei beiden Parametern vor.

Diesen Zusammenhang zwischen Gesamtbakterienzahl und Saprophytenzahl spiegelt auch die lineare Regression wider. Bei Betrachtung der Werte für den aeroben Teil der Wassersäule ergibt sich eine gute Korrelation ($r = 0,980$) (s. Abb.35e). Bei Einbeziehung der Werte für den anaeroben Teil der Wassersäule tritt eine zweite Punktelwolke unterhalb der Regressionsgerade auf, die die Korrelation verschlechtert ($r = 0.811$).

Der prozentuale Anteil der Saprophyten an der Gesamtbakterienzahl lag 1986 zwischen 0,004 und 0,51%, 1987 zwischen 0,010 und 0,19%. Der Anteil der Saprophyten war stets am höchsten im Bereich zwischen euphotischer Schicht und oxisch-anoxischer Grenzschicht. 1986 erreichten die Saprophytenzahlen in dieser Schicht 0,18 bis 0,51% der Gesamtbakterienzahlen, 1987 wurden hier 0,17 - 0,19% erreicht. Wesentlich niedriger lagen die Werte der 10 m-Proben (1986: 0,060%, 1987: 0,053%). Der prozentuale Anteil war am geringsten bei den Proben aus dem anoxischen Teil der Wassersäule. Hier lag der Anteil stets unter 0,04%. (vgl. Abb.34a,b).

b) anaerob bebrütete Saprophyten:

Die Anzahl der unter anaeroben Bedingungen wachsenden Saprophyten lag bei den

Wasserproben von 1986 zwischen 5 und 168 CFU/ml, und damit um eine Größenordnung niedriger, als die aeroben Saprophyten. Die höchste Anzahl wurde im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht angetroffen (vgl. Abb.36a). Außerhalb davon wurden Konzentrationen von 5 bis 50 CFU/ml ermittelt.

Der Anteil der anaeroben Saprophyten an der Gesamtbakterienzahl lag im oxischen Teil der Wassersäule zwischen 0,0006 und 0,0026%, und erreichte damit höhere Werte als im anoxischen; hier lag der Anteil stets unter 0,004% (vgl. Abb.36b).

Das Verhältnis von anaeroben Saprophyten zu aeroben lag im anoxischen Teil der Wassersäule wesentlich höher als im oxischen Teil. Die Anzahl der aeroben erreichte nur 5% der der anaeroben im oxischen Teil der Wassersäule; im anoxischen Teil lagen die Werte meist höher als 10%, mit einem Maximum von 43% in 200 m Tiefe (vgl. Abb.36b).

3.3.3. Nitratreduzierende und denitrifizierende Bakterien

a) Nitratreduzierer auf Nutrient-Broth-Nitrat-Platten, anaerob bebrütet (nur 1987 ermittelt)

Die Anzahl der Bakterien, die auf diesem Medium anaerob wuchsen, lag zwischen 43 und 1130 CFU/ml. Dabei dürfte es sich in der überwiegenden Mehrheit um Nitratreduzierer handeln, da, wie oben gezeigt, die Anzahl der Bakterien, die in der Lage waren, anaerob ohne Nitratzusatz zu wachsen (anaerob auf ZB), eine Größenordnung niedriger lag (vgl. Abb.37a u. 36a).

Die Anzahl der Nitratreduzierer, die auf diesem Medium erfaßt wurden, hatte ein ausgeprägtes Maximum am Unterrand der Halokline (80 m). In der euphotischen Schicht (10 m) und im anoxischen wurden die niedrigsten Werte ermittelt (43 - 90 CFU/ml). Ein deutlicher Anstieg im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht konnte nicht festgestellt werden.

Im Bereich der Halokline (50 m und 80 m) wurde eine fast identische Anzahl von Nitratreduzierern und Saprophyten (ZB) ermittelt. Ansonsten lag die Anzahl der Nitratreduzierer stets niedriger als die der Saprophyten. Besonders ausgeprägt war dieser Unterschied im Bereich der euphotischen Schicht (vgl. Abb.37a und 35b).

Der Anteil der auf diesem Medium erfaßten Bakterien an der Gesamtbakterienzahl lag zwischen 0,003 und 0,19%. Den höchsten Anteil hatten die Nitratreduzierer in der oxischen Wasserschicht zwischen euphotischer Schicht und Chemokline, mit Maximum im Bereich der Halokline (50-80m). Den geringsten Anteil in der euphotischen Zone und dem anoxischen Tiefenwasser. Dieses Verteilungsmuster entspricht in etwa dem Vorkommen von Nitrat in der Wassersäule (vgl. Abb.37b).

Anmerkung zu den nun folgenden MPN-Methoden mit Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmedium (NB + NO₃): 1986 wurde die MPN-Methode mit nur 3 Parallelen durchgeführt, 1987 mit 5 Parallelen, d.h. die Werte von 1987 besitzen eine höhere Präzision, als die von 1986. Die Messungen von Sauerstoff und Kohlendioxid waren 1987 empfindlicher gestaltet worden, als die von 1986. Aufgrund der besseren Datensätze von 1987 werden daher die Ergebnisse von 1987 stärker gewichtet, als die von 1986.

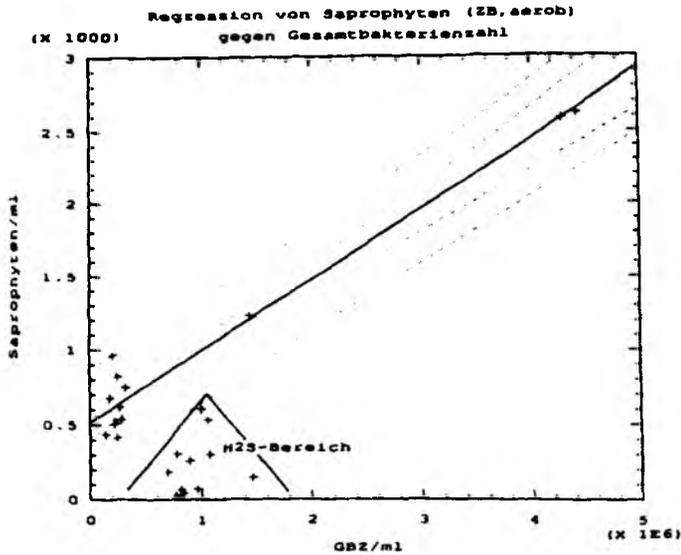


Abb.35e:

Lineare Regression der Saprophytenzahl gegen die Gesamtbakterienzahl (GBZ) des Gotlandtiefs 1986. Werte aus dem H_2S -Bereich liegen außerhalb des 90%-igen Vertrauensbereiches der Regression. Sie wurden nicht in die Berechnung miteinbezogen.

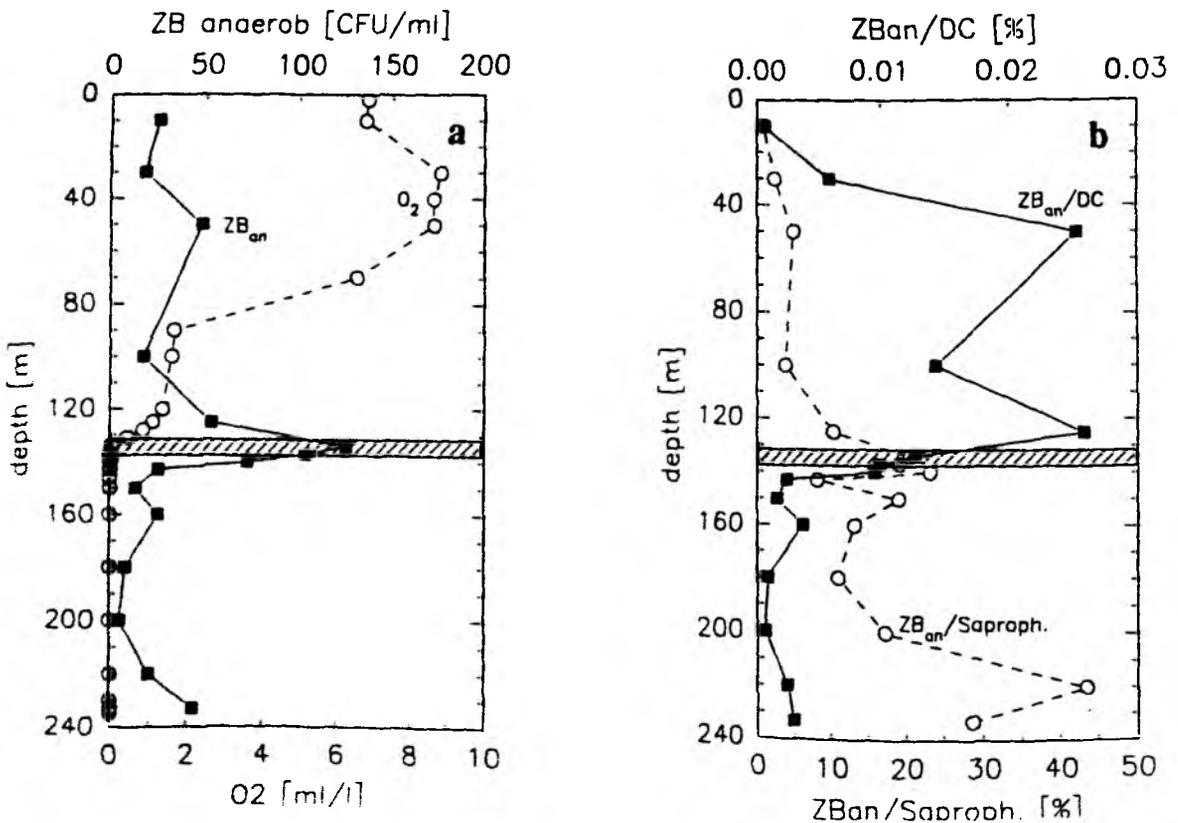


Abb.36a,b:

Verteilung der anaeroben Saprophyten (ZB_{an}) in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1986 (= a). Prozentuales Verhältnis der anaeroben Saprophyten zur Gesamtbakterienzahl (ZB_{an}/DC) und zur Anzahl der aeroben Saprophyten (ZB_{an}/Saproph.) (= b).

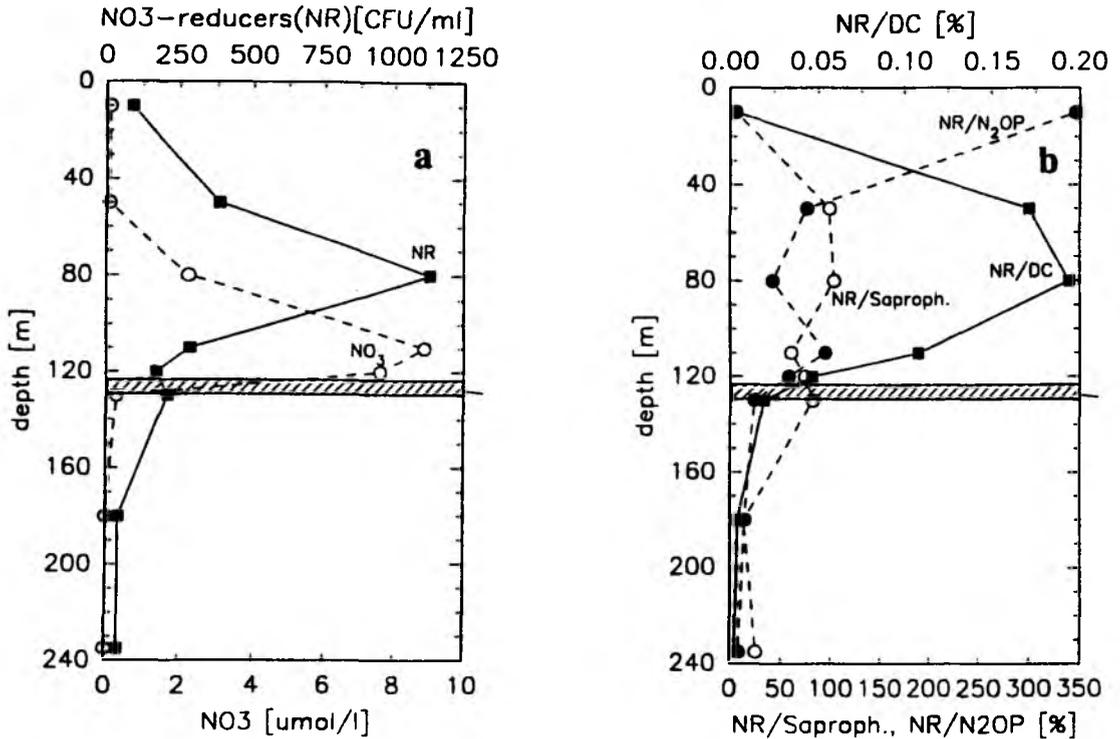


Abb.37a,b:

Verteilung der nitratreduzierenden Bakterien (NR) in der Wassersäule des Gotlandtief 1987 (= a). Zum Vergleich wurde die Nitratkonzentration miteingetragen. Prozentuales Verhältnis der Nitratreduzierer zur Gesamtbakterienzahl (NR/DC) und zur Anzahl der N_2O -bildenden Bakterien (NR/ N_2OP).

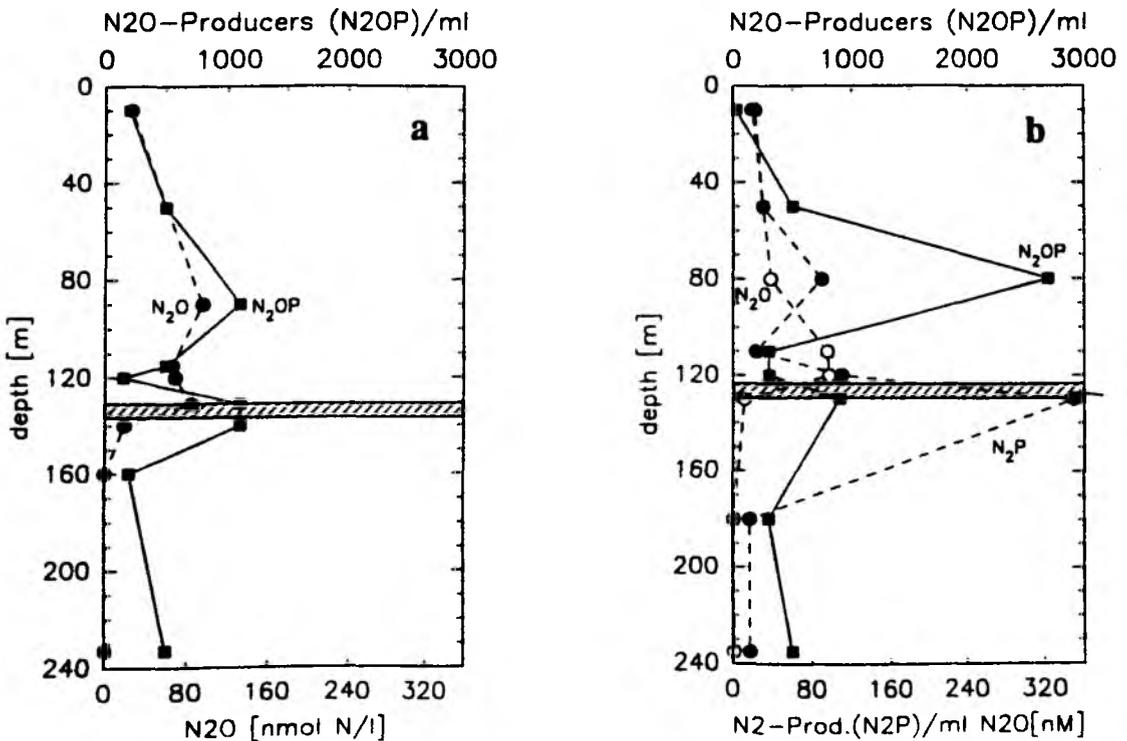


Abb.38a,b:

Verteilung der N_2O - (N_2OP) und N_2 -produzierenden Bakterien (N_2P) in der Wassersäule des Gotlandtiefs (1986 nur N_2OP). Zum Vergleich wurden die N_2O -Konzentrationen eingetragen. a = 1986, b = 1987

1987 traten bei Proben aus einer Tiefe (80 m) bei den N_2O -bildenden Bakterien und in zwei Tiefen (80 m u. 130 m) bei den sauerstoffverbrauchenden und kohlendioxidproduzierenden Bakterien ein positives Ergebnis bei allen 5 Röhrcchen der obersten Verdünnungsstufe (0,001 ml Probe eingesetzt) auf. In diesen Fällen wurde ein Wert von 2700 Bakterien/ml für die Grafiken eingesetzt. Dieses ist der Mittelwert für den Fall, daß in der nächsthöheren Verdünnungsstufe eines (MPN-Wert = 3000 Bakterien/ml) oder kein Röhrcchen (MPN-Wert = 2400 Bakt./ml) bewachsen wäre. Im Text wird in diesen Fällen immer von einer Mindestzahl von 2400 Bakterien pro ml gesprochen.

b) Luftstickstoff(N_2)-bildende Bakterien in Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmedium (1986 und 1987 ermittelt)

Die Bildung von Gasblasen in Durhamröhrcchen in diesem nitrathaltigen Medium ist meist auf Bildung von N_2 durch Denitrifikation zurückzuführen. Da die Löslichkeit von N_2 sehr viel geringer ist, als die von N_2O und CO_2 , kommt es schon bei relativ geringen Konzentrationen zu Gasblasenbildung durch N_2 , allerdings erst bei sehr hohen Konzentrationen zur Bildung von Gasblasen durch N_2O und CO_2 (vgl. Kap. 2.5.4.).

Die nach der MPN-Methode (de Man, 1975) ermittelten Anzahl der Gasbildner lag 1987 zwischen 17 und 350 Bakterien/ml. 1986 wurden zwischen 0 und 500 Bakt./ml geschätzt. Aufgrund der Tatsache, daß die Gasbildung 1986 im Gegensatz zu 1987 ein sehr unzuverlässiges Merkmal war - es erfolgte keine kontinuierliche Gasbildung durch die verschiedenen Verdünnungsstufen bis zur höchst verdünnten mit Gasbildung sollen die Werte von 1986 nur tendenzmäßig beurteilt werden.

Die höchste Anzahl an gasbildenden Mikroorganismen trat 1987 in der eigentlichen Denitrifikationsschicht bei 130 m auf. Ein weiterer leichter Anstieg war bei den Proben vom Unterrand der Halokline (80 m) zu erkennen. Die niedrigsten Werte wurden in der euphotischen Schicht und in der anoxischen Wassersäule ermittelt (17-22 Bakt./ml) (vgl. Abb.38b). 1986 lag das Maximum der Gasbildner in und über der oxisch-anoxischen Grenzschicht.

Der Anteil der erfaßten Gasbildner an der Gesamtbakterienzahl betrug 1987 zwischen 0,0007 und 0,031%. Der höchste Anteil lag im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht vor (0,030-0,031%), minimale Werte wurden in der euphotischen Schicht und im anaeroben Tiefenwasser verzeichnet (vgl. Abb.39).

c) N_2O -bildende Bakterien in Nährbouillon- NO_3^- -Flüssigmedium

Die Anzahl der erfaßten N_2O -produzierenden Bakterien lag 1986 zwischen 150 und 1100 Bakt./ml. 1987 wurden 26 bis mindestens 2400/ml ermittelt. 1986 lagen die Maxima etwas unterhalb der Halokline (90 m) und im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht. Beide Maxima erreichten die gleiche Höhe (je 1100 Bakt./ml). 1987 war das Maximum am Unterrand der Halokline (80 m: mindestens 2400 Bakt./ml) wesentlich ausgeprägter, als das in der oxisch-anoxischen Grenzschicht (130 m: 900 Bakterien/ml). Die niedrigste Anzahl wurde 1987 in der euphotischen Schicht ermittelt (10 m: 26 Bakt./ml), ein Rückgang der N_2O -Bildner wurde in beiden Jahren in den Wasserschichten oberhalb und unterhalb der Chemokline verzeichnet (vgl. Abb.38a,b).

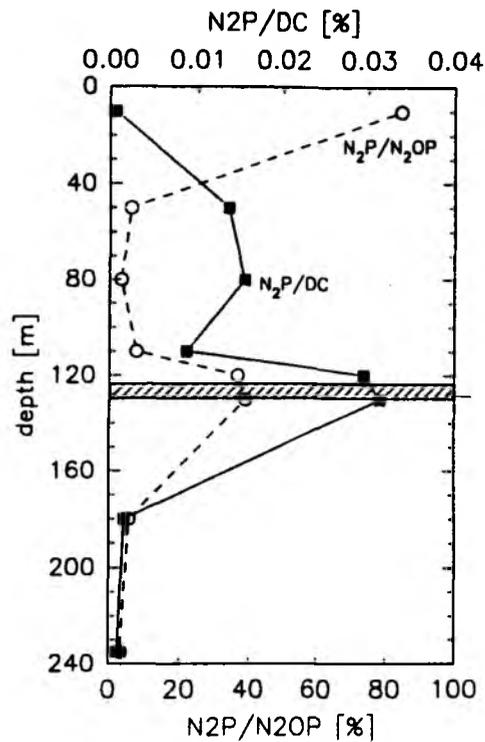


Abb.39:

Verhältnis der N_2 -bildenden Bakterien zur Gesamtbakterienzahl (N_2P/DC) und zur Anzahl der N_2O -produzierenden Bakterien (N_2P/N_2OP) in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1987.

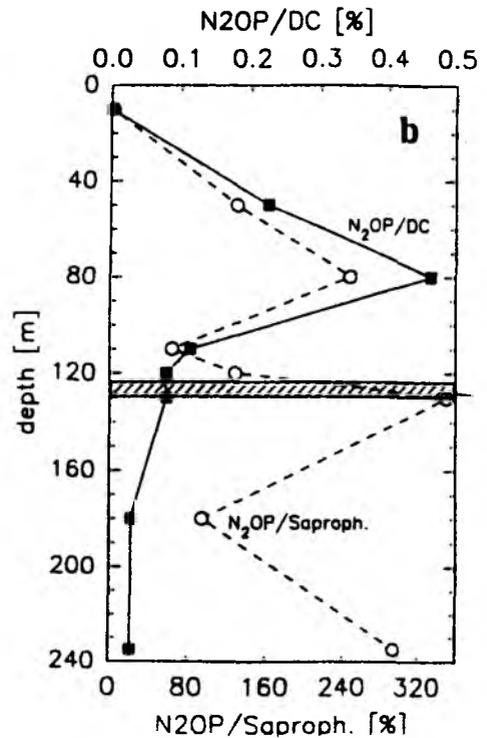
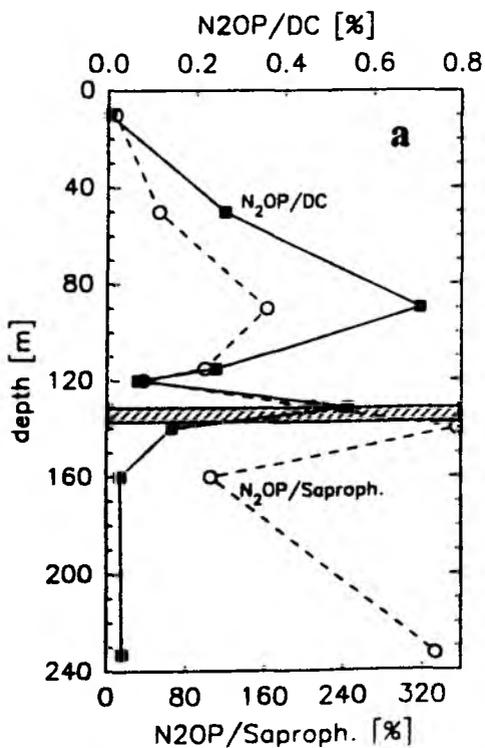


Abb.40a,b:

Prozentuales Verhältnis der N_2O -produzierenden Bakterien zur Gesamtbakterienzahl (N_2OP/DC) und zur Saprophytenzahl ($N_2OP/Saproph.$).

a = 1986, b = 1987

Der Anteil der N_2O -Bildner an der Gesamtbakterienzahl belief sich 1986 auf 0,005 bis 0,70%, 1987 auf 0,0009 bis mindestens 0,41% (bei Verwendung des Minimalwerts von 2400 Bakt./ml). Der niedrigste Anteil wurde jeweils in der euphotischen Schicht (10m) festgestellt. Die Maxima lagen 1987 am Unterrand der Halokline (80m), 1986 etwas unterhalb der Halokline (90 m). 1986 wurde noch ein zweites Maximum im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht ermittelt (130 m: 0,54%), das 1987 nicht auftrat (vgl. Abb.40a,b).

Ein Vergleich der N_2O -Bildner mit den Saprophyten (aerob auf ZB), zeigt starke Unterschiede bezüglich Verteilungsstruktur und Anzahl. In der euphotischen Schicht und in der oxisch-anoxischen Grenzschicht sind die Unterschiede am deutlichsten ausgeprägt. Während die Saprophytenzahlen in der euphotischen Schicht ein Maximum erreichen, wiesen die N_2O -Bildner hier ihren niedrigsten Wert auf. In der oxisch-anoxischen Grenzschicht war besonders 1987 kein signifikanter Anstieg der Saprophytenzahlen zu verzeichnen. Dieselbe Probe wies allerdings ein deutliches Maximum bei den N_2O -Bildnern auf. Gemeinsam war 1987 Saprophyten und N_2O -Bildnern ein Maximum am Unterrand der Halokline (80m). Dabei war die Anzahl der N_2O -Bildnern mindestens doppelt so hoch wie die der Saprophyten (vgl. Abb.40a,b).

Die auf Platten erfaßten Nitratreduzierer zeigten eine ähnliche Verteilung wie die N_2O -Bildner, mit dem Unterschied, daß bei den Nitratreduzierern der Anstieg im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht nur sehr schwach ausgebildet war. Das Maximum im Bereich der Halokline zeigte eine mindestens doppelt so hohe Anzahl bei den N_2O -Bildnern als bei den auf Platte erfaßten Nitratreduzierern (vgl. Abb.37b).

Die Anzahl der N_2O -Bildner lag 1987 1,2 bis mindestens 30 mal so hoch wie die der Gasbildner. Am höchsten war das Verhältnis N_2O -Bildner zu Gasbildner am Unterrand der Halokline (80 m) und in der anoxischen Wassersäule, am niedrigsten in der euphotischen Schicht und der oxisch-anoxischen Grenzschicht. Umgekehrt erreichte das Verhältnis von Gasbildnern zu N_2O -Bildnern ein Maximum von 0,4 in der oxisch-anoxischen Grenzschicht. (vgl. Abb.39).

1986 entsprach das Verteilungsmuster der N_2O -Bildner sehr gut der Konzentration des N_2O in der oxischen Wassersäule des Gotlandtiefs. Dies gilt sowohl für die absolute Anzahl, als auch für den relativen Anteil an der Gesamtbakterienzahl (vgl. Abb.38b und 40b). 1987 traten in dem Bereich von hohen Dichten an N_2O -Produzierern keine erhöhten N_2O -Konzentrationen auf (vgl. Abb.38a und 40a).

c1) Bakterien, die in $NB+NO_3^-$ -Flüssigmedium größere Mengen N_2O produzieren

Da bei der Untersuchung der Röhren die N_2O -Mengen quantitativ gaschromatographisch bestimmt wurden, konnte die Anzahl der Bakterien bestimmt werden, die in der Lage waren, größere Mengen an N_2O zu produzieren. Als Unterscheidungslevel wurden willkürlich 100, 400, 1000 und 5000 ppm N_2O gewählt. Während bei den Bakterien, die mehr als 100, 400 und 1000 ppm N_2O produzierten, sich ähnliche Verteilungsmuster ergaben, wie bei denjenigen, die überhaupt N_2O produzierten, war das Vorkommen derjenigen, die mehr als 5000 ppm produzierten, auf die Denitrifikationsschicht beschränkt (vgl. Abb.47a,b). 1986 wurden im Bereich der Denitrifikationsschicht 3 (130 m), 1987 2 Bakterien/ml (130 m) detektiert, die mehr als 5000 ppm N_2O produzierten. Nachgewiesen wurden diese Bakterien ausschließlich im denitrifizierenden Teil der Wassersäule. Dies galt ebenso für die

Denitrifikationsschicht von Station T (157 m: 0,3 Bakterien/ml, vgl. Kap. 3.4.5.3).

3.3.4. Nachweis heterotropher Bakterien durch CO₂-Produktion und O₂-Verbrauch in Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmedium

In dem Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmedium wurden neben der Gasbildung und der N₂O-Produktion auch Sauerstoffzehrung und Kohlendioxidproduktion gaschromatographisch erfaßt. Die Anzahl der Bakterien, die in der Lage waren in diesem Medium CO₂ zu produzieren und/oder O₂ zu verbrauchen, wurde auch hier nach der MPN-Methode bestimmt.

a) O₂-verbrauchende Bakterien:

O₂-verbrauchende Bakterien wurden 1987 in einer Dichte von 500 bis (mindestens) 2400 Bakterien/ml in der Wassersäule angetroffen. Die Maxima, bei denen die höchsten Verdünnungstufen in allen Parallelen ein positives Ergebnis lieferten, lagen am Unterrand der Halokline (80 m) und in der Chemokline (vgl. Abb.41).

Der Anteil der O₂-Verbraucher an der Gesamtbakterienzahl erstreckte sich von 0,030 bis 0,721%, mit Minima in der euphotischen und der anoxischen Wasserschicht und einem Maximalwert in 50 m Tiefe. Bei Einsetzen von einem Wert von 2700 Bakt./ml für die Maximalwerte, kann man ausgehend von 50 m Tiefe eine Abnahme der O₂-Verbraucher parallel zu der abnehmenden Sauerstoffkonzentration in der Wassersäule verfolgen (vgl. Abb.42). Dieser Zusammenhang läßt sich mit einer linearen Regression darstellen, bei Einsetzen der Daten von unterhalb der euphotischen Schicht ($r = 0,903$). Bei Anhebung der Schätzwerte von 80 und 130 m auf 4000 Bakterien/ml würde der lineare Zusammenhang immer noch erhalten bleiben. Der Wert der euphotischen Schicht (10 m) liegt außerhalb dieser Regression.

Die Anzahl der mit diesem Medium erfaßten O₂-zehrenden Bakterien lag, außer in der euphotischen Schicht (10 m), deutlich höher als die auf ZB-Agar erfaßten Saprophyten. Am ausgeprägtesten waren die Unterschiede im Bereich der Chemokline. Hier lag die Anzahl der O₂-Verbraucher mindestens 9,3-mal so hoch, wie die der Saprophyten (vgl. Abb.42).

b) CO₂-produzierende Bakterien

Die Anzahl der CO₂-Produzenten 1987 belief sich auf Werte zwischen 22 und mindestens 2400 Bakt./ml. Die Lage und Ausprägung der Maxima war identisch mit denen der O₂-Verbraucher (vgl. Abb.41).

Der Anteil der CO₂-Produzenten an der Gesamtbakterienzahl lag zwischen 0,0007 und mindestens 0,41%. Die auf die Gesamtbakterienzahl genormte Abundanz zeigt zwei Maxima: eines am Unterrand der Halokline (80m) und eines in der oxisch-anoxischen Grenzschicht (vgl. Abb.43).

Außerhalb der Maxima waren die Anzahl von CO₂-Produzenten und Saprophyten (aerob auf ZB) fast identisch. Abweichungen traten stets im Bereich der Maxima von Saprophyten und CO₂-Produzenten auf. Das Verhältnis der CO₂-Produzenten zu Saprophyten im Bereich der Maxima der CO₂-Produzenten entsprach dem der O₂-Verbraucher.

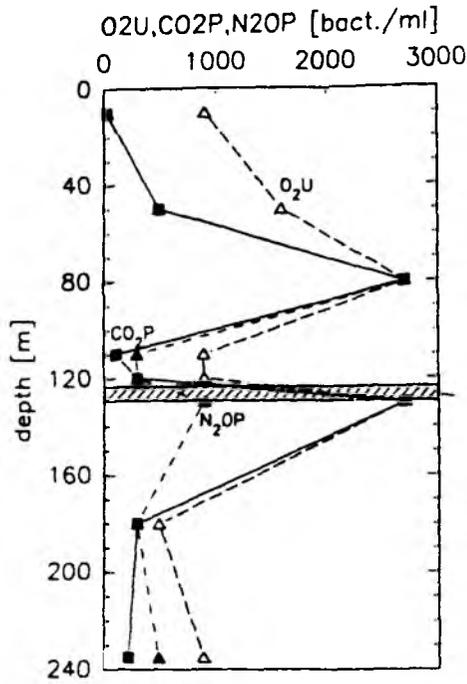


Abb.41: Verteilung der O₂-verbrauchenden (O₂U), CO₂- (CO₂P) und N₂O-produzierenden (N₂OP) Bakterien in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1987.

Abb.42

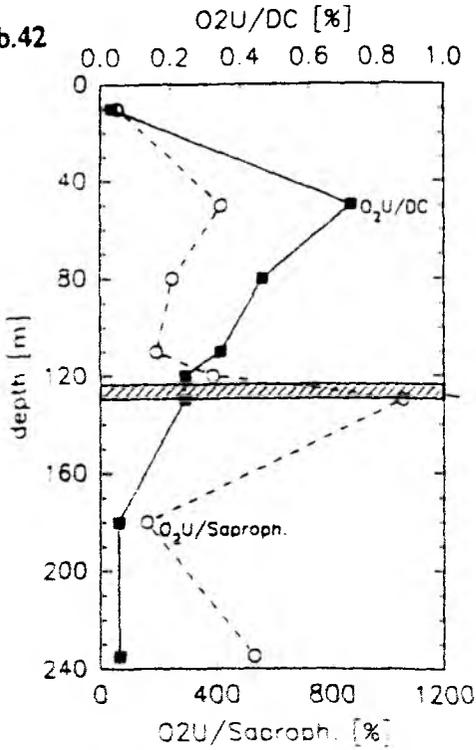


Abb.42: Verhältnis der O₂-verbrauchenden Bakterien zur Gesamtbakterienzahl (O₂U/DC) und zur Saprophytenzahl (O₂U/Saproph.) in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1987.

Abb.43

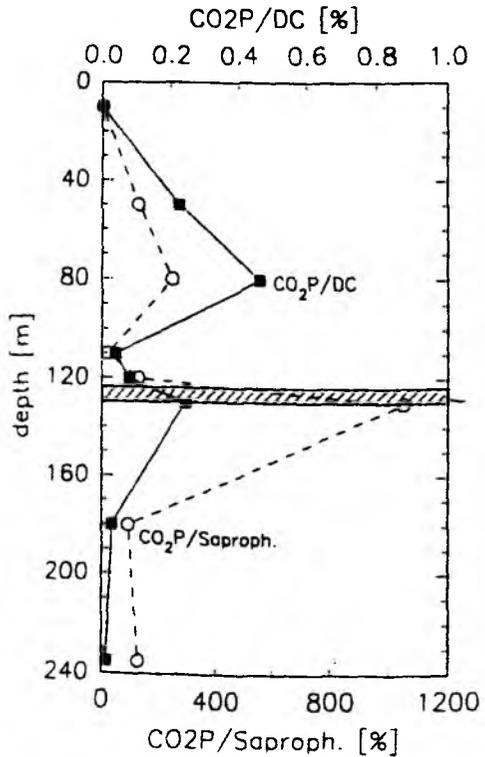


Abb.43: Verhältnis der CO₂-bildenden Bakterien zur Gesamtbakterienzahl (CO₂P/DC) und zur Saprophytenzahl (CO₂P/Saproph.) in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1987.

Die Anzahl der erfaßten O_2 -Verbraucher dürfte generell größer gewesen sein, als die der CO_2 -Produzenten. Außerhalb der Maxima lag die Anzahl immer deutlich höher. Diese Spanne reichte vom 35-fachen Wert in der euphotischen Schicht (10 m) bis zum 1,7-fachen im anoxischen Tiefenwasser (180 m). Im Bereich der Maxima konnten keine unterschiedlichen Werte mehr differenziert werden, da die höchste Verdünnungsstufe nur positive Ergebnisse lieferte. Das Verteilungsmuster der O_2 -Verbraucher veranlaßte zu der Annahme, daß auch im Bereich der Maxima, insbesondere am Unterrand der Halokline wesentlich höhere Werte bei den O_2 -Verbrauchern, als bei den CO_2 -Produzenten zu erwarten gewesen wären (vgl. Abb.41).

Das Verteilungsmuster der CO_2 -Produzenten deckt sich am ehesten mit dem der N_2O -Bildner. Die größten Unterschiede lagen hier im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht. Hier übertraf die Anzahl der CO_2 -Produzenten die der N_2O -Bildner mindestens um den Faktor 2,7. Dies prägt sich auch in der Ausbildung der Maxima des Verhältnisses zur Gesamtbakterienzahl aus: während die CO_2 -Produzenten noch einen deutlichen Anstieg im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht aufzeigten, kann dies bei den N_2O -Bildnern nicht mehr verzeichnet werden (vgl. Abb.41).

Die mit dem $NB+NO_3^-$ -Flüssigmedium erfaßten N_2 -, N_2O - und CO_2 -Produzenten und O_2 -Verbraucher lassen sich hinsichtlich ihrer Anzahl pro Volumeneinheit folgendermaßen staffeln:

O_2 Verbr. > CO_2 -Prod. > N_2O -Prod. > N_2 -Prod. > $N_2O(>5000ppm)$ -Prod.

3.3. Thiosulfat-oxidierende Bakterien

Da die Hypothese aufgestellt wurde, daß bei der Denitrifikation an der oxisch-anoxischen Grenzschicht Bakterien beteiligt waren, die reduzierte Schwefelverbindungen oxidieren, sollte versucht werden, mit den folgenden Medien diese Bakterien zu erfassen. Mit den aeroben Thiosulfat-Platten sollten aerobe Thiosulfatoxidierer erfaßt werden, mit dem Flüssigmedium mit Nitratzusatz denitrifizierende Thiosulfatoxidierer. Diese Untersuchungen wurden nur 1987 durchgeführt.

a) Aerobe Thiosulfatoxidierer

Bei den auf Thiosulfatagar wachsenden Bakterien kann es sich sowohl um solche gehandelt haben, die in der Lage waren Thiosulfat zu verwerten, als auch um solche, die mit sehr geringen Mengen an verwertbarem organischen Kohlenstoff (wie sie in Agarmedien bei Verwendung von ungewaschenem Agar vorhanden sind) wachsen konnten.

Die Anzahl der auf Thiosulfatagar wachsenden Bakterien lag 1987 zwischen 23 und 393 CFU/ml. Die maximale Anzahl lag in den Proben vom Unterrand der Halokline vor. Minima wurden in der euphotischen Schicht ermittelt; ein leichter Abfall der Anzahl lag auch im Bereich oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht (120 m) und in der sedimentnahen Wasserschicht vor (vgl. Abb.44). In der oxisch-anoxischen Grenzschicht wurde kein Anstieg verzeichnet.

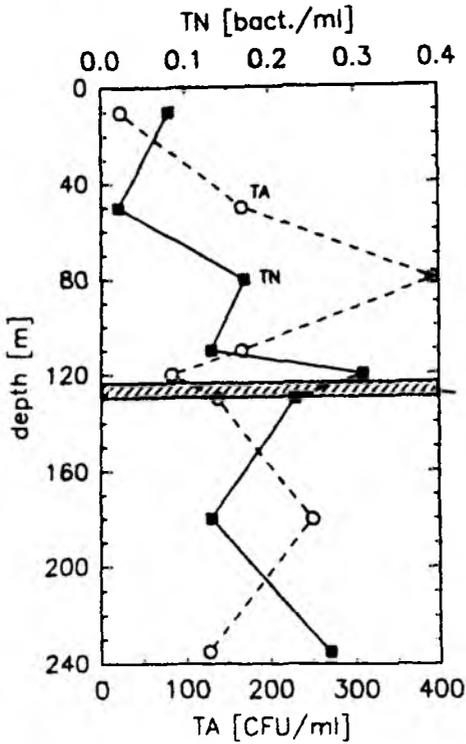


Abb.44:
Anzahl der aeroben Thiosulfatoxidierer (TA) und der denitrifizierenden Thiosulfatoxidierer (TN) in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1987.

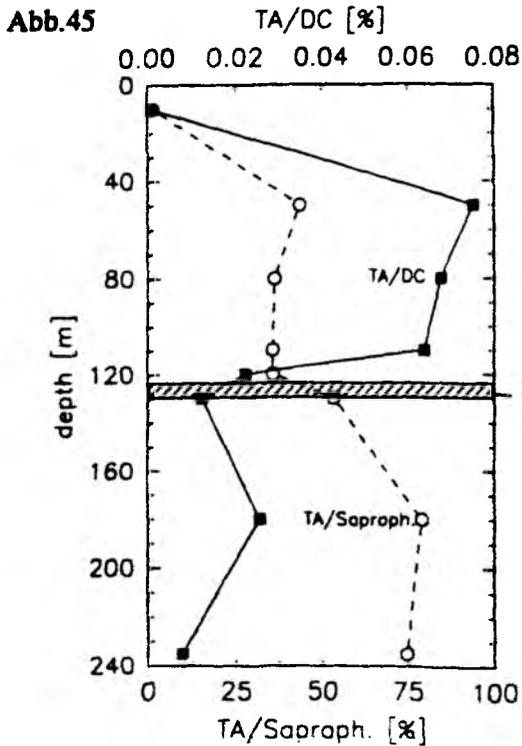


Abb.45:
Verhältnis der aeroben Thiosulfatoxidierer zur Gesamtbakterienzahl (TA/DC) und zur Saprophytenzahl (TA/Saproph.) in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1987.

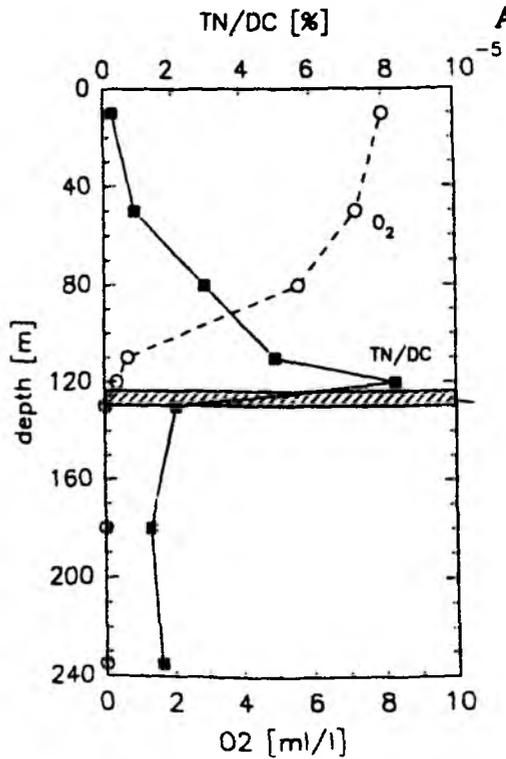


Abb.46:
Verhältnis der denitrifizierenden Thiosulfatoxidierer zur Gesamtbakterienzahl (TN/DC) in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1987. Auffällig ist hier der deutliche Anstieg mit abnehmender Sauerstoffkonzentration zur oxisch-anoxischen Grenzschicht hin.

Der Anteil dieser Bakterien an der Gesamtbakterienzahl betrug zwischen 0,0008 und 0,075%. Maxima lagen dabei in der oxischen Wasserschicht zwischen 50 und 110 m, der niedrigste Wert wurde in der euphotischen Schicht erzielt. In der oxisch-anoxischen Grenzschicht war der Anteil an der Gesamtbakterienzahl relativ gering (130 m: 0,012%, vgl. Abb.45).

Die Anzahl der Bakterien, die auf dem Thiosulfatagar wuchsen, war stets geringer, als die der Saprophyten (aerob auf ZB). Abgesehen von dem Saprophytenmaximum in der euphotischen Schicht, das bei den Bakterien auf Thiosulfatagar nicht ausgeprägt war, folgt die Verteilung der auf Thiosulfatagar wachsenden Bakterien dem der Saprophyten. Dabei ist die Anzahl, besonders in der oxischen Wasserschicht, deutlich geringer. In der oxischen Wasserschicht zwischen 50 und 120 m lag die Anzahl verglichen mit den Saprophyten zwischen 43 und 35% (vgl. Abb.45).

b) Denitrifizierende Thiosulfatoxidierer

In diesem Medium konnte nur bei Einsatz hoher Probenvolumina (10 und 1 ml) Wachstum mit Hilfe der Messung von N_2O festgestellt werden. Da das sterile Medium eine leichte Trübung aufwies, konnte Bewuchs nicht optisch detektiert werden. Gasbildung in den eingebrachten Durhamröhrchen trat nie auf. Nitrit konnte aufgrund der Reaktion mit Thiosulfat nicht bestimmt werden. Die gaschromatographische Messung der N_2O -Bildung erwies sich als die empfindlichste und reproduzierbarste Nachweismethode für die Detektion von Denitrifikation bei diesem Medium.

Die Anzahl der in Thiosulfatmedium denitrifizierenden Bakterien lag zwischen 0,02 und 0,31 Bakterien/ml. Ein Anstieg wurde im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht verzeichnet. Am niedrigsten waren die Werte in den Proben aus 50 m (vgl. Abb.44).

Der Anteil dieser Bakterien an der Gesamtbakterienzahl betrug $2,7 \times 10^{-6}$ bis $8,3 \times 10^{-5}\%$. Das Minimum lag in der euphotischen Schicht, das Maximum kurz oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht (120 m). Die relative Zunahme der Bakterien lief parallel zur Abnahme der Sauerstoffkonzentration in der Wassersäule (vgl. Abb.46).

Die Anzahl der in dem Flüssigmedium denitrifizierenden Bakterien lag in etwa um den Faktor 1000 niedriger, als die auf Thiosulfat-Platten wachsenden Bakterien.

3.3.6. Vergleich der Abundanz der mit den verschiedenen Methoden erfaßten Bakterienzahlen

Die logarithmische Auftragung der mit den verschiedenen Methoden ermittelten Bakterienzahlen erlaubt einen Vergleich der erfaßten Größenordnungen an Bakterien in der Wassersäule des Gotlandtiefs (s. Abb. 47a,b). Die Gesamtbakterienzahl rangiert als oberste Linie in der Größenordnung von 10^6 /ml. In der Größenordnung zwischen 1000 und 100 war die Mehrheit der Bakterien anzutreffen, die auf Komplexmedien erfaßt wurden. Eine Größenordnung tiefer (etwa 10-100) lag die Anzahl der Bakterien, die bei anaerober Bebrütung auf ZB erfaßt wurden, sowie die gasbildenden Bakterien. Im Bereich um 0,1 bewegten sich die N_2O -Bildner, die in der Lage waren größere Mengen an N_2O zu produzieren, sowie diejenigen, die in Thiosulfatmedium N_2O bildeten.

Als für die Denitrifikation möglicherweise relevant werden die heterotrophen N_2O -Produzenten, die heterotrophen Gas(N_2)-Produzenten (beides in Nährbouillon-Nitrat-

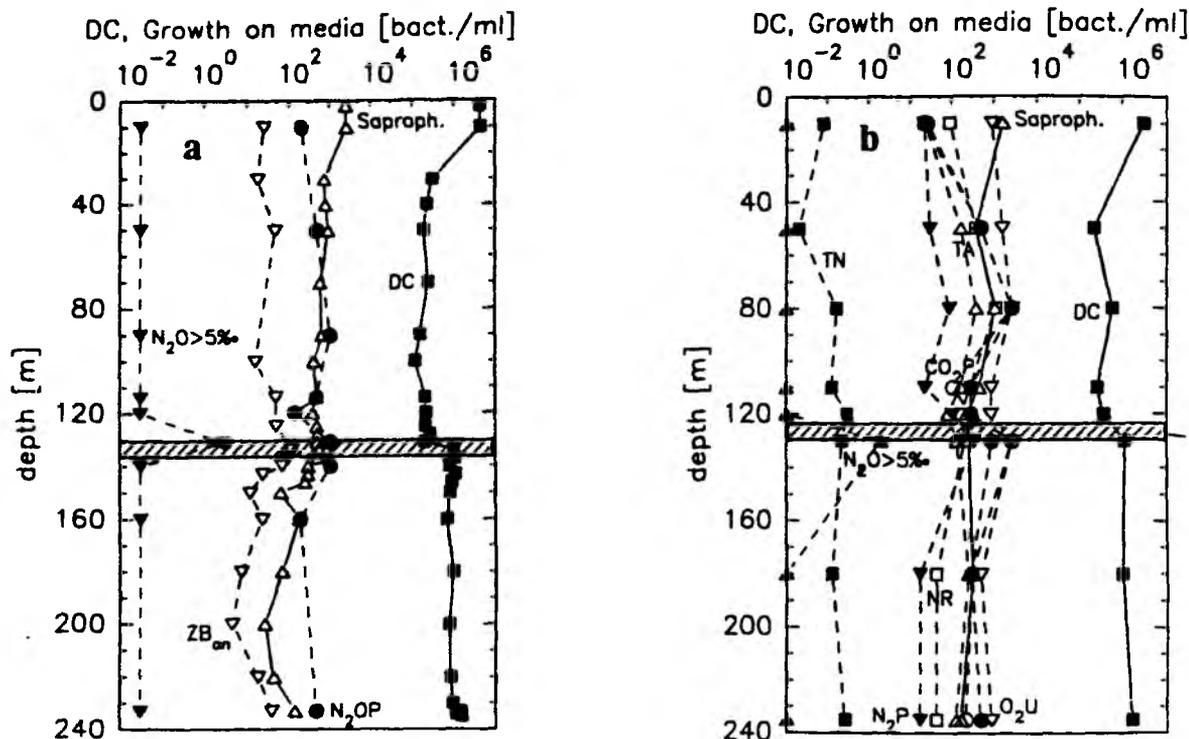


Abb.47a,b:

Vergleichende Darstellung der Gesamtbakterienzahl (DC) und der mit verschiedenen Medien erzielten Bakterienzahlen.

a = 1986, b = 1987

Sapr. = Saprophyten auf ZB, aerob,

N_2OP = N_2O -prod. Bakterien

$N_2O > 5\%$ = " " (mehr als 5% N_2O in Gasphase)

N_2P = N_2 - " "

CO₂P = CO₂- " "

O₂P = O₂-verbr. "

NR = Nitratreduzierer

ZB_{an} = anaerob auf ZB wachsende Bakterien

TA = aerobe Thiosulfatoxidierer

TN = denitrifizierende "

Medium), sowie die Thiosulfat-oxidierenden N_2O -Bildner angesehen. Den vorliegenden Ergebnissen zufolge würden die heterotrophen N_2O -Bildner etwa 0,1% der Gesamtbakterienzahl (Maximalwert: 0,7%) ausmachen, die heterotrophen N_2 -Produzenten etwa 0,01% (Maximalwert: 0,03%), die Thiosulfat-oxidierenden N_2 -Bildner $1 \times 10^{-5}\%$ (Maximalwert: $8 \times 10^{-3}\%$), ebenso diejenigen Bakterien, die in der Lage waren größere Mengen N_2O zu produzieren ($N_2O > 5000$ ppm) (Maximalwert: $2 \times 10^{-4}\%$).

3.3.7. Taxonomie der isolierten Denitrifikanten

Aus verschiedenen Verdünnungsstufen des Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmediums und von Zobellagar-Platten wurden Bakterien isoliert und hinsichtlich ihrer Denitrifikationsleistung nach 5-wöchiger Bebrütung in dem oben erwähnten Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmedium gaschromatographisch untersucht. Die Isolate konnten anhand ihrer Produktion von N_2O , CO_2 und ihres O_2 -Verbrauchs in verschiedene Gruppen eingeteilt. 127 dieser Isolate wurden von M. Höfle mit Hilfe der RNA-Chemotaxonomie einklassifiziert (Höfle 1988). Es zeigte sich eine gute Übereinstimmung zwischen der phänotypischen Charakterisierung (= Gasbildung und -verbrauch) und der chemotaxonomischen Einklassifizierung. Die denitrifizierenden Isolate wurden als *Shewanella putrefaciens* und ein den Vibrionen nahestehendes Bakterium bestimmt (Höfle 1990). *S. putrefaciens* erwies sich dabei als der quantitativ bedeutendste Denitrifikant (vgl. Höfle und Brettar 1990). Zur Taxonomie von *S. putrefaciens*, früher als *Alteromonas putrefaciens*, und davor als *Pseudomonas putrefaciens* bezeichnet, gibt MacDonell und Colwell (1985) einen Überblick.

Über diese Arbeiten wird im Detail noch berichtet werden.

3.4. Denitrifikation, Stickstoffumsetzungen und bakterielle Parameter in der Wassersäule von Station T im Sommer 1986

3.4.1. Beschreibung der abiotischen Faktoren

Station T ist eine kleinflächige Vertiefung von 163 m Tiefe, etwa 200 km südwestlich der Südspitze Finnlands gelegen. Die Hydrographie bzgl. Thermokline in der Sommerzeit (in ca. 20 m Tiefe) und der permanenten Halokline (60-80 m) entspricht den Verhältnissen im Gotlandtief (vgl. Abb.48a mit 18a,19a). Unterhalb der Halokline lagen auch hier sehr geringe Sauerstoffkonzentrationen (1,53 - 0,09 ml/l O_2) vor. Der wesentliche Unterschied zwischen Gotlandtief und Station T, war die Abwesenheit von H_2S -haltigem Tiefenwasser bei Station T. Zwischen 100 m und 158 m wurden Sauerstoffkonzentrationen von 0,22 bis 0,09 ml/l ermittelt. Diese Wasserschicht wird im folgenden als suboxische Wasserschicht bezeichnet werden. H_2S wurde nur sehr dicht über dem Sediment in sehr geringen Mengen angetroffen (25 cm über dem Sediment: 0,18 $\mu\text{mol/l } H_2S$) (Abb.48a).

NO_3^- und NH_4^+ waren in der gesamten Wassersäule vorhanden. NO_3^- hatte ein Minimum von 0,81 $\mu\text{mol/l}$ in 20 m Tiefe. Die höchsten Nitratwerte (6,85 - 10,25 $\mu\text{mol/l}$) wurden in der sauerstoffarmen Wasserschicht zwischen 100 und 158 m Tiefe angetroffen (vgl. Abb.48b). NH_4^+ hatte ein Maximum in der oxischen Wasserschicht (50 m: 4,50 $\mu\text{mol/l } NH_4^+$) und zeigte eine deutliche Zunahme von 150 m zum Sediment hin (4,89 $\mu\text{mol/l}$ 1 m über dem Sediment). NO_2^- lag bis in 100 m Tiefe in nur sehr geringen Konzentrationen bis 0,1 $\mu\text{mol/l}$ vor, mit Ausnahme eines Anstiegs auf 0,30 $\mu\text{mol/l}$ im Bereich des Ammoniumpeaks in 50 m Tiefe.

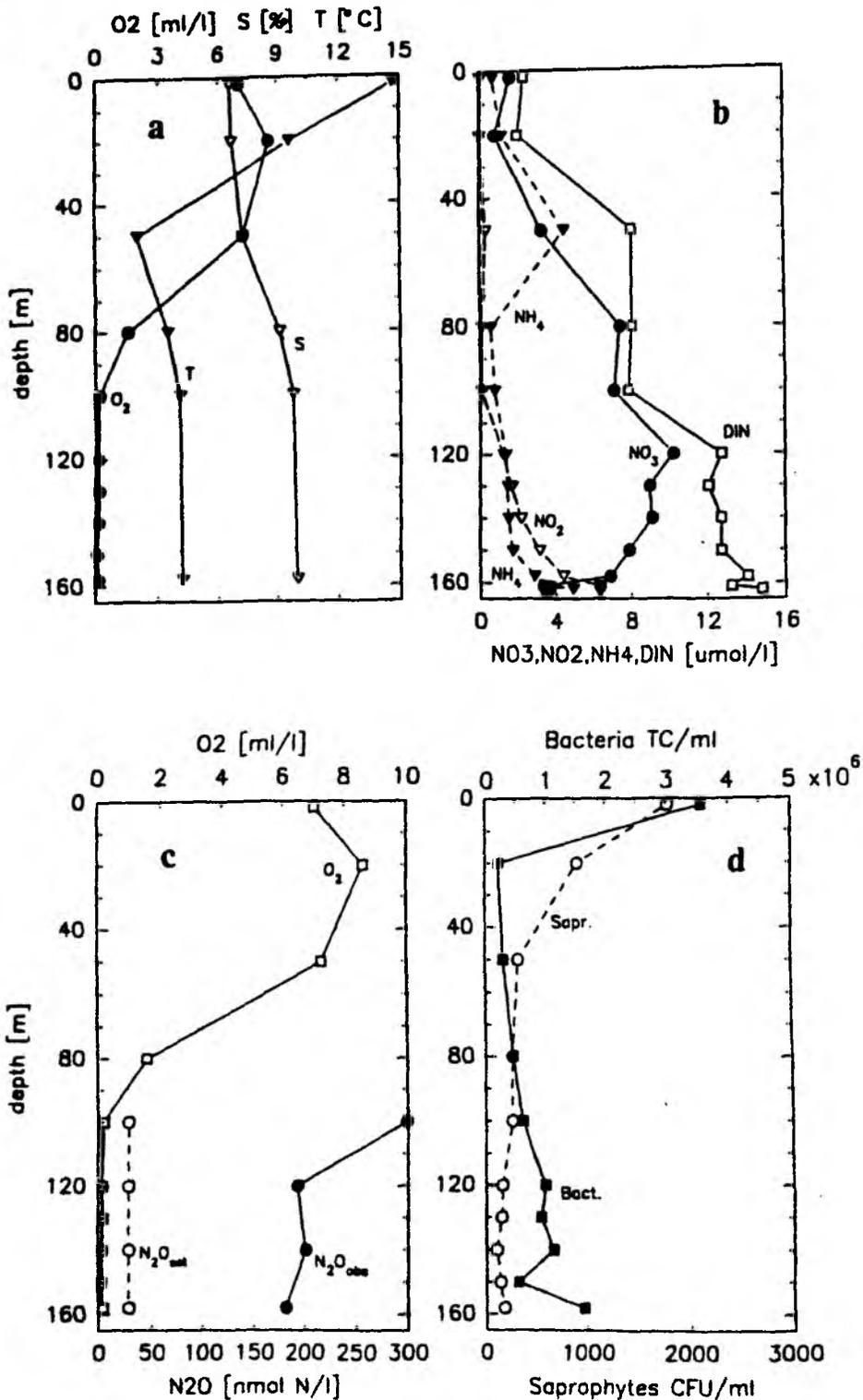


Abb.48:

Tiefenprofil von Station T 19.8.1986

48a: Verlauf von Salinität (S), Temperatur (T) und Sauerstoff (O₂)48b: Verlauf der Stickstoffkomponenten NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺ und des gelösten anorganischen Stickstoffs (= DIN = Summe NO₃⁻+NO₂⁻+NH₄⁺)48c: Gemessene N₂O-Konzentration (N₂O_{obs}) und berechneter Sättigungswert (N₂O_{sat})

48d: Gesamtbakterienzahl (TC) und Saprophytenzahl (Sapr.)

In der suboxischen Wasserschicht stiegen die Nitritwerte unterhalb von 100 m zum Sediment hin an (158 m: 4,40 $\mu\text{mol/l}$, 25 cm über Sediment: 6,28 $\mu\text{mol/l}$).

Die N_2O -Konzentrationen zeigten eine ausgeprägte Übersättigung von 640 - 1050% in der suboxischen Wassersäule, was einer Konzentration von 182 - 299 nmol N/l entsprach. Für den oxischen Teil der Wassersäule oberhalb von 100 m liegen keine Messungen vor (Abb.48c).

Der Gehalt an partikulärem organischen Kohlenstoff wurde nur bei Wasserproben aus der suboxischen Wassersäule bestimmt: 95 $\mu\text{g/l}$ wurden für die 100 m-Probe, 61 $\mu\text{g/l}$ für die 120 m-Probe und 121 $\mu\text{g/l}$ POC für die 157 m-Probe ermittelt.

3.4.2. Lokalisation und Rate der Denitrifikation

Denitrifikationsraten wurden im suboxischen Teil der Wassersäule von 100 m bis 157 m Tiefe gemessen. Die einzige Probe mit nachweisbarer Denitrifikation war diejenige aus 157 m (vgl. Abb.49). Die pro Tag denitrifizierte Stickstoffmenge betrug 13,8 nmol N/l . Dieser Wert errechnete sich aus der 4-tägigen Inkubationszeit. Bei 12-tägiger Inkubationszeit betrug die Tagesrate nur mehr 8,0 nmol N/l (vgl. Abb.50). Geht man davon aus, daß ohne Azetylenzusatz dieselbe Menge an Elektronen auf NO_3^- übertragen worden wäre, so würde sich die Tagesrate (nach der 4-tägigen Inkubationszeit) auf 4/5 des Wertes, d.h. 11,0 nmol N/l erniedrigen.

Geringfügige N_2O -Zunahmen unter 1 $\text{nmol N/l} \times \text{d}$ bei Azetylenzusatz in den Wasserproben aus 100 bis 140 m Tiefe wurden tendenzmäßig erfaßt, konnten allerdings nicht quantifiziert werden.

3.4.3. Sonstige Stickstoffumsetzungen in der Wassersäule

3.4.3.1. Stickstoffmineralisation in der Wassersäule

Betrachtet man Ammonium als primäres Mineralisationsprodukt des organischen Stickstoffs, so dürfte der Ammoniumpeak in 50 m Tiefe ein Hinweis auf starke Mineralisation im Bereich der Halokline sein. Eine weitere wichtige Remineralisationszone schien das Sediment bzw. die Grenzschicht Sediment-Wasser zu sein. Die erhöhten NH_4^+ -Konzentrationen, in der suboxischen Wassersäule, besonders in Sedimentnähe könnten als Hinweis darauf gewertet werden.

Die Summe von NO_3^- , NO_2^- und NH_4^+ , als wichtigste Komponenten des mineralisierten Stickstoffs, verdeutlichen diesen Trend. Der remineralisierte Stickstoff wies im wesentlichen vier Konzentrationsbereiche im Tiefenprofil auf: die niedrigste Konzentrationsstufe lag im euphotischen Bereich (bis 2,4 $\mu\text{mol/l}$) vor, die zweite reichte vom Oberrand der Halokline (50 m) bis 100 m Tiefe (bis 8,1 $\mu\text{mol/l}$); die dritte im suboxischen Bereich der Wassersäule unterhalb von 100 m bewegte sich um 12,7 $\mu\text{mol/l}$, die vierte erreichte 14,8 $\mu\text{mol/l}$ im bodennahen Wasser unterhalb von 150 m (vgl. Abb.48b).

Die Konzentrationserhöhung von der ersten zur zweiten Konzentrationsstufe könnte somit der erhöhten Mineralisation in der Halokline, die dritte und vierte Stufe könnten der erhöhten Mineralisation am Sediment und nachfolgendem Transport des freigesetzten NH_4^+ in die

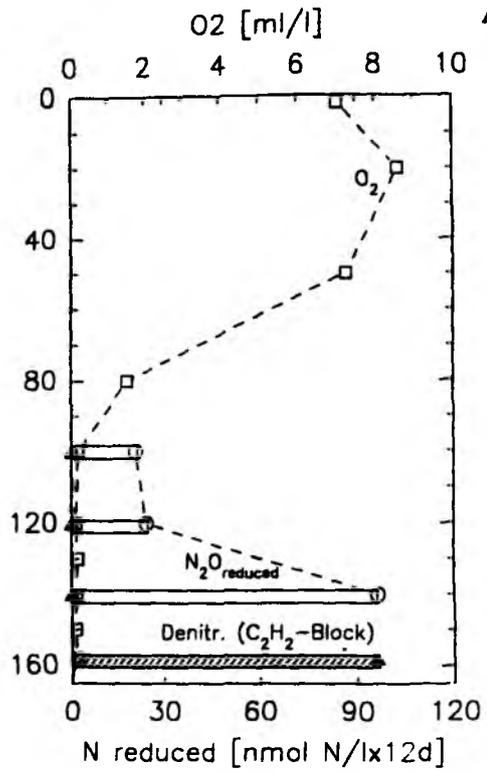
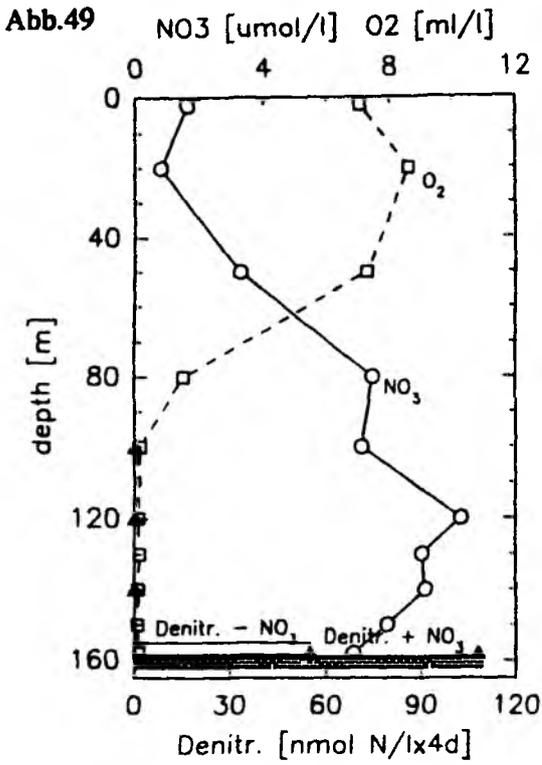


Abb.49: In situ-Denitrifikation und Denitrifikationspotential nach Nitratzugabe (50 $\mu\text{mol/l}$) in der Wassersäule von Station T.

Abb.53: N_2O -Reduktion in Proben aus der suboxischen Wassersäule von Station T ohne Azetylenzusatz im Vergleich zur N_2O -Produktion bei Azetylenzusatz nach 12-tägiger Inkubation.

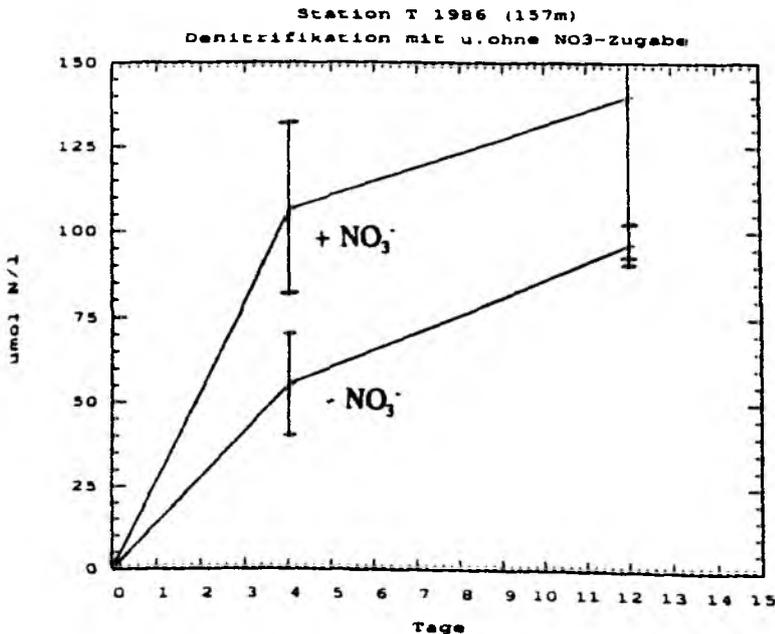


Abb.50: Vergleich des Verlaufs der in situ-Denitrifikation mit Denitrifikation nach Nitratzugabe in Proben aus der sedimentnahen (157 m) denitrifizierenden Wasserschicht.

Wassersäule zugeschrieben werden.

3.4.3.2. Nitrifikation

Nach dem Vorkommen von Nitrat zu schließen, dürfte Nitrifikation in der ganzen Wassersäule mit Ausnahme der euphotischen Schicht stattgefunden haben. Die höchsten Nitratwerte wurden dabei in der sauerstoffarmen Wasserschicht unterhalb der Halokline erreicht. Dies verdeutlicht auch der negative Korrelationskoeffizient von $r = -0,944$ der linearen Regression der Nitrat- gegen die Sauerstoffkonzentration. Eine noch bessere Korrelation erreicht man, bei Einbeziehung der Nitritkonzentration. Da bei der Ammoniumoxidation zu NO_2^- nur das 0,75-fache der O_2 -Menge der Oxidation zu NO_3^- verbraucht wird, wurde die Nitritkonzentration mit dem Faktor 0,75 multipliziert. Die lineare Regression zwischen der Summe von $(\text{NO}_3^- + 0,75 \times \text{NO}_2^-)$ gegen die Sauerstoffkonzentration wies eine gute Korrelation mit $r = -0,953$ auf. Der Abnahme von $1,05 \text{ ml/l O}_2$ (= $46,9 \text{ umol/l}$) entsprach dabei die Zunahme von 1 umol/l NO_3^- , bzw. $1,33$ (= $1/0,75$) umol/l NO_2^- (vgl. Abb.51).

In der suboxischen Wassersäule zwischen 100 und 157 m Tiefe wurden die Nitrat- und Nitritänderungen bei Wasserproben mit und ohne Azetylenzusatz während einer 12-tägigen Inkubationszeit verfolgt (Abb.52a,b). Bei den Proben aus 157 m, in denen gleichzeitig Denitrifikation nachgewiesen werden konnte, wurde die Inkubation nur mit Azetylenzusatz durchgeführt. Alle Proben zeigten Zunahme der Nitrat- und Abnahme der Nitritkonzentration. Ohne Azetylenzusatz erhöhte sich die Nitratkonzentration in den Proben um 1,7 bis 2,8 umol/l . Bei Azetylenzusatz lagen vergleichbare Zunahmen um 1,7 bis 3,0 umol/l NO_3^- vor. Bei der denitrifizierenden 157 m-Probe erhöhte sich die Konzentration um 2,8 umol/l . Parallel zur Nitratzunahme war stets eine Abnahme der Nitritkonzentration zu verzeichnen, die zum Sediment hin zunahm. Bei Proben ohne Azetylenzusatz nahmen die Nitritkonzentrationen um 0,17 bis 1,33 umol/l ab, bei denselben Proben mit Azetylenzusatz um 0,17 bis 1,93 umol/l .

Da Denitrifikation nur in der 157 m-Probe stattfand, und auch hier nur die geringe Menge von 96 nmol N/l innerhalb des 12-tägigen Inkubationszeitraumes denitrifiziert wurde, dürfte die Nitritabnahme in den Proben tatsächlich der Oxidation zu Nitrat zuzuschreiben sein. Mit zunehmender Tiefe wurde ein höherer Anteil des gebildeten Nitrat aus dem zuvor vorliegenden NO_2^- gebildet. Interpretiert man den Anstieg der Nitritkonzentration zum Sediment hin, als Hinweis darauf, daß das Sediment als Quelle des Nitrit fungierte, so könnte die verstärkte Versorgung mit Nitrit in Sedimentnähe als Ursache der erhöhten Nitritoxidation angesehen werden.

Bei Berechnung des Sauerstoffverbrauchs durch die Nitrifikation wurde die bei der Inkubation verzeichnete Nitritabnahme als Oxidation des Nitrit zu Nitrat, und die verbleibende Nitratzunahme als Ammoniumoxidation zu Nitrat berechnet. Für die Nitrifikation von NH_4^+ zu NO_3^- wird ein Verbrauch von 2 mol O_2 pro mol NH_4^+ berechnet, für die Oxidation von NO_2^- zu NO_3^- 0,5 mol O_2 . Bei Verwendung der Faktoren nach Gundersen und Mountain (1973) erniedrigen sich die errechneten Sauerstoffverbrauchsraten um den Faktor 0,91. Die Nitrifikation in der Wasserschicht zwischen 100 und 157 m hätte danach eine O_2 -Zehrung um 2,2 bis 3,6 umol/l bedingt. Dies würde die bei der Probenahme vorhandenen O_2 -Konzentrationen zwischen 5,3 und 9,8 umol/l auf Werte zwischen 2,2 und 6,9 umol/l nach Inkubation mit Azetylenzusatz, und auf Werte zwischen 2,6 und 6,2 umol/l

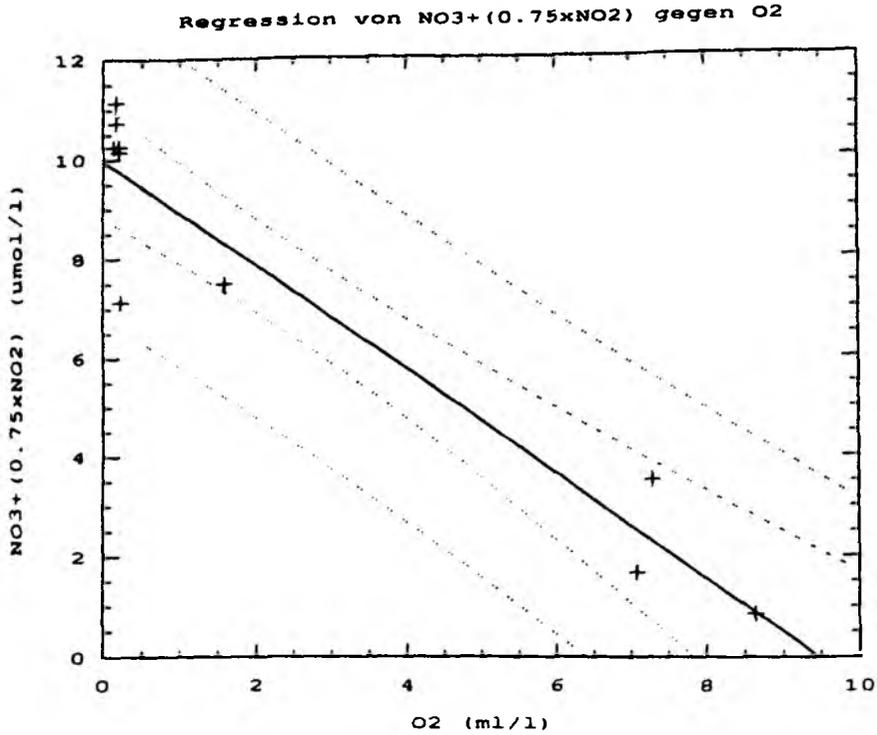


Abb.51:

Lineare Regression der Summe von $\text{NO}_3^- + 0.75 \times \text{NO}_2^-$ gegen die Sauerstoffkonzentration ($r = -0.953$, $a = 9.97$, $b = -1.05$). Die höchsten $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ Konzentrationen wurden stets im sauerstoffarmen Wasser angetroffen.

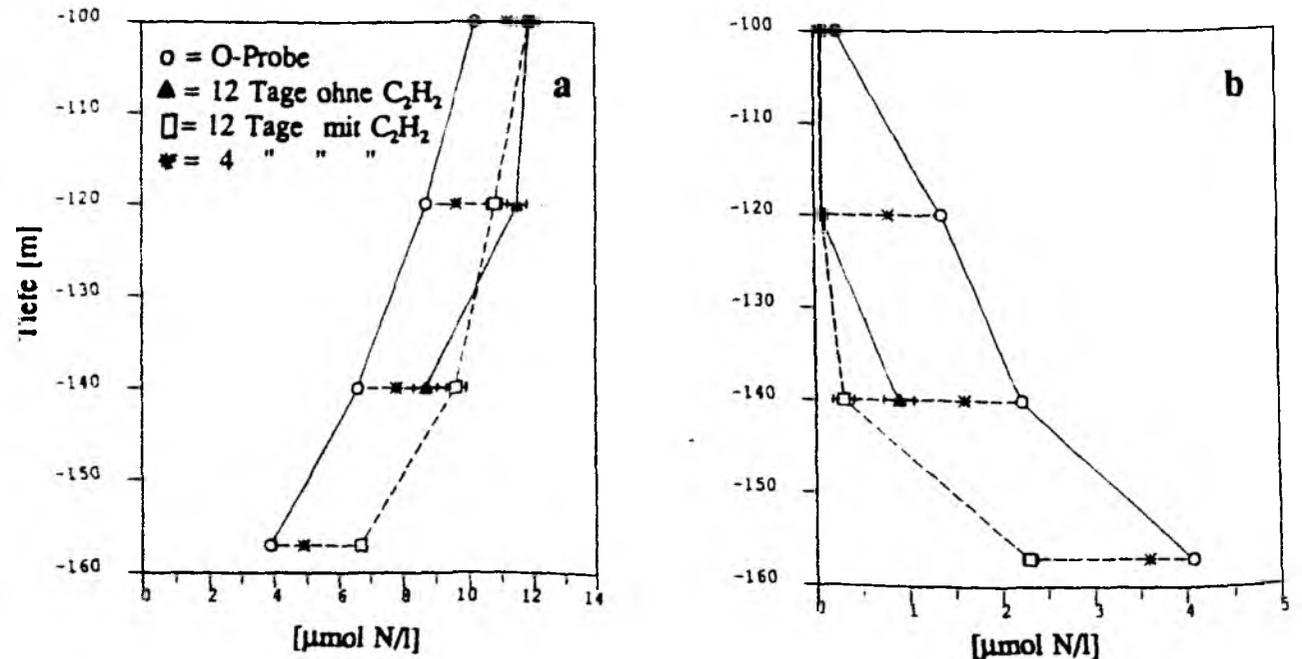


Abb.52a,b:

Änderungen der Nitrat(= a) und Nitritkonzentration(= b) bei Inkubation von Proben aus dem suboxischen Teil der Wassersäule von Station T. Die Inkubation erfolgte vergleichsweise mit und ohne Azetylen.

bei Inkubation ohne Azetylenzusatz senken.

Wie an dem Nitratvorkommen und der Nitratzunahme bei Inkubation der Wasserproben deutlich wurde, dürfte Nitrifikation in der gesamten Wassersäule unterhalb der euphotischen Schicht erfolgt sein, mit Schwerpunkt in der sauerstoffarmen Schicht unterhalb der Halokline. Im unteren Abschnitt der suboxischen Wasserschicht war dabei die Nitritoxidation bedeutsamer, als die Ammoniumoxidation. In Sedimentnähe (157 m) lief gleichzeitig Nitrifikation und Denitrifikation ab.

3.4.3.3. N_2O -Produktion und Zehrung

In der suboxischen Wasserschicht lagen sehr hohe N_2O -Konzentrationen zwischen 299 nmol N/l und 182 nmol N/l vor, wobei die höchsten in 100 m Tiefe, die niedrigsten in 157 m Tiefe aufgezeichnet wurden. Bezogen auf die N_2O -Konzentration, die sich bei Sättigung der Wasserprobe bei atmosphärischem N_2O -Partialdruck einstellt, lagen die hier verzeichneten Konzentrationen 6,4- bis 10,5-mal so hoch (vgl. Abb.48c).

Nach 12-tägiger Inkubation der Wasserproben ohne Azetylenzusatz wurde stets eine Abnahme der N_2O -Konzentration in der Wasserprobe beobachtet. Diese war bei den Proben aus 100 und 120 m noch sehr gering (2 nmol/l x d), steigerte sich aber bei der 140 m-Probe auf 8,0 nmol N/l x d (vgl. Abb.53). Obwohl in der 140 m-Probe keine Denitrifikation nachweisbar war, konnte hier N_2O -Zehrung gemessen werden. Bei der denitrifizierenden 157 m-Probe war kein Versuchsansatz ohne Azetylen durchgeführt worden. Es wird davon ausgegangen, daß die N_2O -Zehrungsrate annähernd der hier gemessenen Denitrifikationsrate entsprach (Abb.53, 157 m). Bei der N_2O -Zehrungsrate in Wasserproben ohne Azetylenzusatz handelt es sich um einen Summenparameter aus N_2O -Zehrung und N_2O -Produktion. Wenn man davon ausgeht, daß die N_2O -produzierenden Prozesse wie Denitrifikation und Nitrifikation keine starke Beeinflussung durch den Zusatz von Azetylen erleiden (vgl. Kap.2.9.), N_2O -zehrende Prozesse allerdings durch Azetylenzusatz gestoppt werden, so kann die N_2O -Produktion bei Azetylenzusatz als Obergrenze der möglichen N_2O -Produktion angesehen werden. Dies bedeutet, daß die N_2O -Produktion zwischen 100 und 140 m Tiefe nicht größer gewesen wäre, als die unter Azetylenzusatz konstatierte bis zu etwa 1 nmol N/l x d.

Bei 12-tägiger Inkubation der Wasserproben überwogen die N_2O -zehrenden Prozesse gegenüber den N_2O -produzierenden. Diese Tendenz konnte in der 140 m-Probe am deutlichsten dargestellt werden. Aufgrund der langen Inkubationszeit kann allerdings nicht abgeschätzt werden, ob dies auch für in situ-Verhältnisse in der Wassersäule zutrifft.

3.4.4. Regulierende Faktoren der Denitrifikation an Station T

3.4.4.1. Untersuchung der Limitierung durch den Elektronenakzeptor

Die Bestimmung der Denitrifikationsraten an Station T wurden vergleichsweise mit und ohne Zugabe von 50 $\mu\text{mol/l NO}_3^-$ durchgeführt. Dies sollte Aufschlüsse darüber geben, inwiefern die Denitrifikation durch den Elektronenakzeptor limitiert war. Mit und ohne Nitratzugabe konnte Denitrifikation nur in der bodennahen Wasserschicht (157 m) gemessen werden. Durch Nitratzugabe erhöhte sich die in situ-Denitrifikationsrate (ohne Nitratzusatz berechnet nach der 4-Tagesinkubation) von 13,8 nmol N/l x d auf 27,0 nmol N/l x d. Auch die Menge des denitrifizierten Stickstoff nach 12-tägiger Inkubation steigerte sich von 48,2 nmol N/l auf

78,3 nmol N/l (vgl. Abb.50). Diese Erhöhung der Denitrifikationsraten durch Nitratzusatz erfolgte, obwohl auch in der Probe ohne Nitratzusatz noch ausreichend Nitrat vorhanden war (nach 4 Tagen: 3,6 umol/l NO_2^- ; 4,9 umol/l NO_3^- ; nach 12 Tagen: 2,3 umol/l NO_2^- ; 6,7 umol/l NO_3^-). Die Denitrifikation war in dieser Schicht nicht durch Nitrat limitiert. Die Nitratkonzentration schien allerdings Auswirkung auf die Umsatzgeschwindigkeit zu haben. Dies kann als kinetische Kontrolle der Denitrifikation durch die Nitratkonzentration angesehen werden.

3.4.4.2. Untersuchung der Limitierung durch den Elektronendonator

In der suboxischen Wasserschicht an Station T lagen unterhalb von 100 m Sauerstoff- (< 0,22 ml/l) und Nitratkonzentrationen vor, bei denen Denitrifikation zu erwarten gewesen wäre. Eine weitere Reduktion der O_2 -Konzentration müßte zusätzlich durch Nitrifikation während der bis zu 12-tägigen Inkubationszeit erfolgt sein. Wie oben ausgeführt, dürfte die Nitrifikation bei den Proben aus 100 bis 140 m eine Reduktion der Sauerstoffkonzentration um 0,05 bis 0,08 ml/l herbeigeführt haben. Dennoch war Denitrifikation nur in den Proben aus 157 m nachweisbar, nicht jedoch bei denen aus 100 bis 140 m, die ebenfalls adäquate Sauerstoffkonzentrationen aufwiesen.

Um die Limitierung auf der Elektronendonatoreseite zu testen, wurde die Denitrifikation in Wasserproben aus der suboxischen Wasserschicht vergleichsweise mit und ohne Elektronendonatorzugabe verfolgt. Die Wasserproben stammten aus demselben Schöpfer wie die Proben, bei denen in situ-Denitrifikationsraten gemessen wurden. Die Sauerstoffkonzentration zur Zeit der Probenahme betrug 0,14 ml/l. Die Proben wurden 3 Tage vorinkubiert. Während dieser Vorinkubation war wie bei den in situ-Messungen nur Nitrifikation zu verzeichnen gewesen. Die Proben wurden vergleichsweise mit 50 umol/l Glukose und 100 umol/l Nitrat, 150 umol/l Acetat (= C-äquimolar zu Glukose) und Nitrat bzw. nur Nitratzusatz inkubiert. Je zwei Parallelen erhielten Azetylenzusatz, je ein Ansatz wurde als Kontrolle ohne Azetylen inkubiert. Die Inkubationszeiten nach dem Zusatz der Substrate betragen 2, 4 und 8 Tage.

Nach 2 und 4 Tagen Inkubation zeigte sich in allen Versuchsansätzen noch keine Änderung der Stickstoffkomponenten. Nach 8 Tagen war in den Ansätzen mit Acetat- und Glukosezusatz Denitrifikation erfolgt, bei Zugabe von ausschließlich Nitrat konnte weiterhin keine Denitrifikation detektiert werden (vgl. Abb.54).

Bei den Ansätzen mit Acetatzusatz war das gesamte Nitrat verbraucht. 53,8 bis 57,0 umol N/l konnten bei Azetylenzusatz als N_2O detektiert werden, Nitrit war nur mehr in Konzentrationen unter 0,2 umol/l vorhanden. Die Ansätze mit und ohne Azetylenzusatz zeigten beide gleichen NO_2^- und NO_3^- -Verbrauch. Ammonium war nur in geringen Konzentrationen von 1,5 umol/l bei den Ansätzen mit Azetylen vorhanden, 2,5 umol/l NH_4^+ lag in dem Ansatz ohne Azetylen vor. N_2O war in dem Ansatz ohne Azetylen vollkommen aufgezehrt worden. Die Ansätze (mit und ohne Azetylen) zeigten hier einen fast quantitativen Verbrauch des Nitrit und Nitrat. Die Ammoniumkonzentration hatte sich nur geringfügig um 1 umol/l bei Azetylenanwesenheit, und um 2 umol/l bei Abwesenheit von Azetylen erhöht (Abb.55). Denitrifikation und Nitratassimilation dürften daher die dominierenden Prozesse beim Nitratverbrauch gewesen sein; dissimilatorische Nitratammonifikation dürfte keine Rolle gespielt haben.

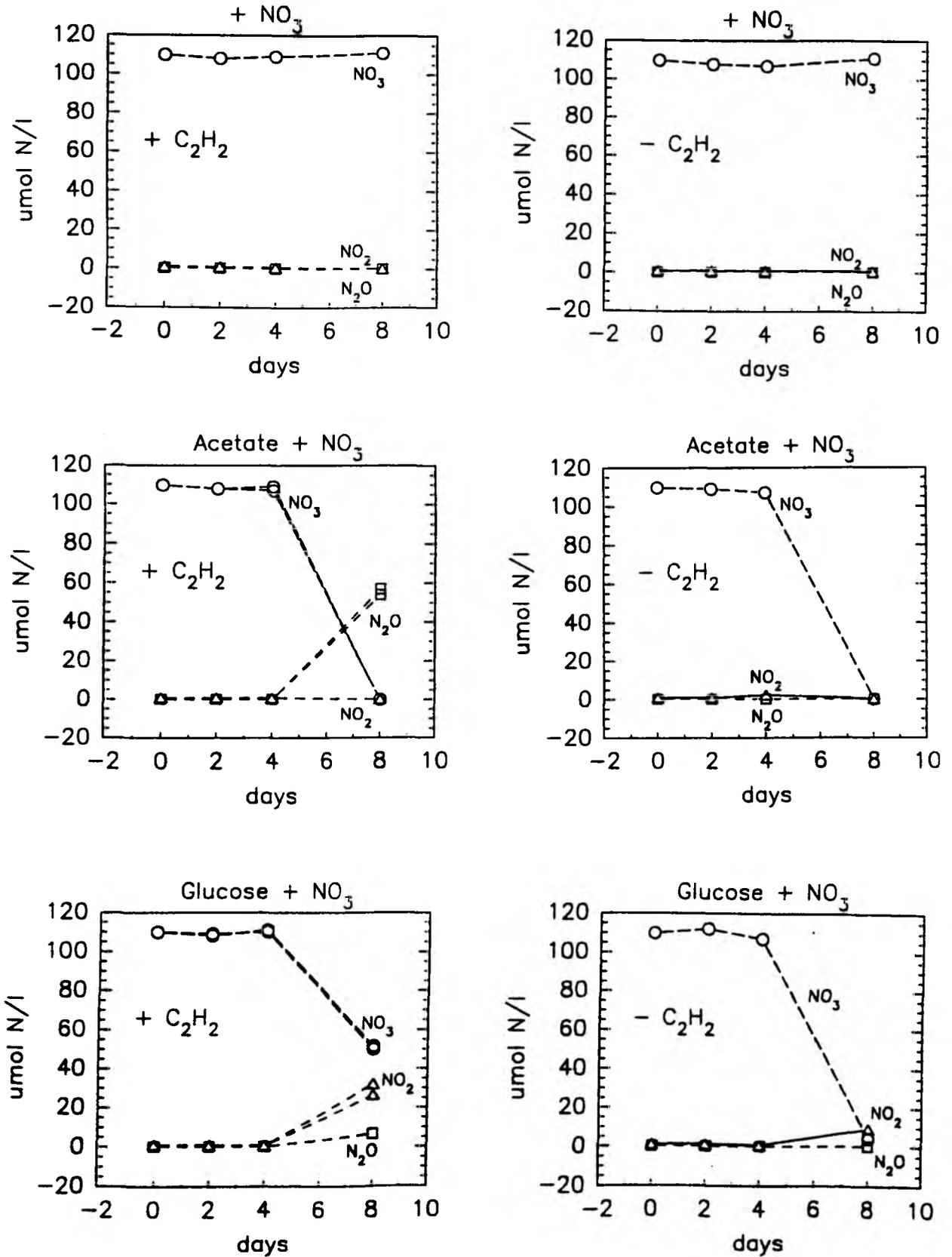


Abb.54:

Denitrifikation in Wasserproben aus der sedimentfernen, suboxischen Wassersäule (120 m) von Station T nach Zugabe von Nitrat (100 umol/l) und Glucose (50 umol/l) oder Acetat (150 umol/l). Auf der linken Seite sind jeweils die Proben mit Azetylenzusatz dargestellt, auf der rechten diejenigen ohne Azetylen. Nur unter Zugabe von Acetat oder Glucose konnte Denitrifikation verzeichnet werden.

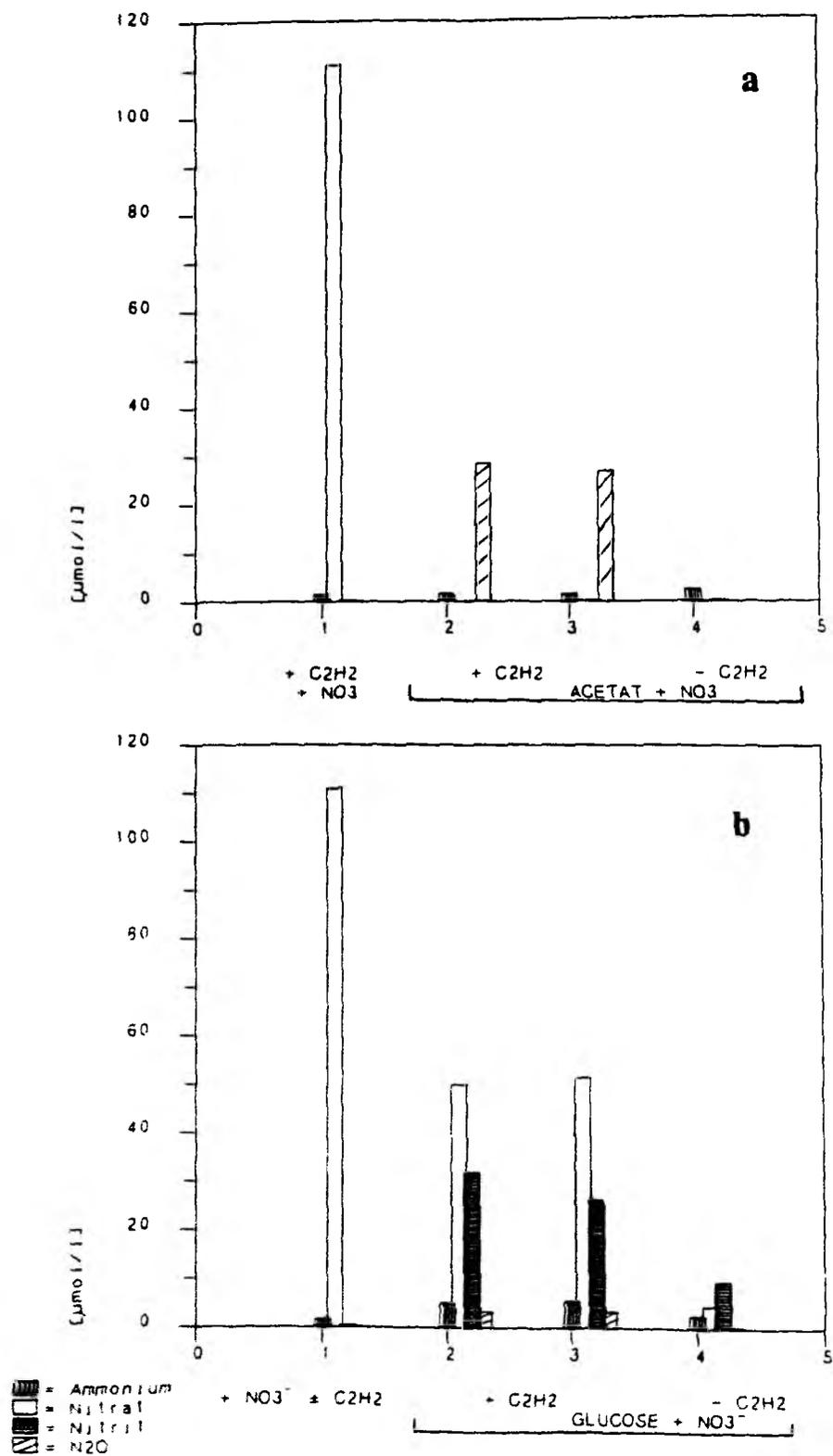


Abb.55a,b:

Darstellung der Stickstoffkomponenten nach 8-tägiger Inkubation der Wasserproben aus 120 m mit Nitrat (= jeweils linkes Säulendiagramm als Vergleich), Nitrat + Acetat (= a) und Nitrat + Glucose (= b).

Bei den Proben mit Glukosezugabe war das zugesetzte Nitrat noch nicht quantitativ aufgebraucht worden. Dabei zeigten die Ansätze mit und ohne Azetylenzusatz einen etwas unterschiedlichen Stand der Denitrifikation. Bei den Proben ohne Azetylenzusatz war nach 8 Tagen wesentlich mehr Nitrat reduziert worden, als mit Azetylenzusatz. Etwa 51 $\mu\text{mol/l}$ NO_3^- und etwa 29 $\mu\text{mol/l}$ NO_2^- waren bei Azetylenzusatz noch vorhanden, im Gegensatz zu 4,5 $\mu\text{mol/l}$ NO_3^- und 9,5 $\mu\text{mol/l}$ NO_2^- in der Probe ohne Azetylenzusatz. Bei Azetylenzusatz wurden im Mittel 6,64 $\mu\text{mol N/l}$ als N_2O detektiert, ohne Azetylenzusatz nur 0,55 $\mu\text{mol N/l}$. In den Ansätzen mit Azetylen traten etwas höhere NH_4^+ -Konzentrationen (5,3 $\mu\text{mol/l}$) auf, als in den Ansätzen ohne Azetylenzusatz (2,5 $\mu\text{mol/l}$). Durch den Azetylenzusatz war die Denitrifikation mit Glukose als Elektronendonator anscheinend gehemmt worden. Die Konzentration der Stickstoffkomponenten bei der Inkubation ohne Azetylen deutet darauf hin, daß auch bei Glukosezugabe das zugesetzte Nitrat in erster Linie zur Denitrifikation und Assimilation, und nicht zur dissimilatorischen Nitratammonifikation verwendet wurde.

Die Denitrifikation mit Acetat als Elektronendonator hatte nach 8-tägiger Inkubation mehr Nitrat aufgebraucht, als diejenige mit Glukose. Der zugegebene organische Kohlenstoff war nach einer Inkubationszeit von mehr als 4 Tagen in der Lage, Denitrifikation in den suboxischen Wasserproben zu induzieren. Bei alleiniger Zugabe von Nitrat konnte keine Denitrifikation festgestellt werden. Dies traf ebenso zu für Wasserproben ohne Zusätze oder mit Zusatz von 50 $\mu\text{mol/l}$ NO_3^- bei bis zu 12-tägiger Inkubation, die direkt nach der Probenahme begonnen wurde.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Denitrifikation in der suboxischen, nitrathaltigen Wassersäule von Station T elektronendonatorlimitiert waren. Die lange Zeitspanne bis zum Einsetzen der Denitrifikation läßt vermuten, daß die vorliegende Bakterienbiozönose nicht sehr gut an Denitrifikation und die Verfügbarkeit von höheren Konzentrationen von organischem Material angepaßt war.

3.4.4.3. Verwertbarer partikulärer organischer Kohlenstoff

Bei der 120 m-Probe (vgl. 5.4.2.) wurde der POC-Gehalt vor- und nach 100-tägiger Inkubation mit Nitratzusatz (500 $\mu\text{mol/l}$ NO_3^-) bestimmt. Der Anfangswert von 60,6 $\mu\text{g/l}$ POC ($s = 1,0$; $n = 2$) senkte sich auf 56,5 $\mu\text{g C/l}$ ($s = 9,5$; $n = 2$). Dies entspricht einer POC-Abnahme um 4,1 $\mu\text{g C/l}$ bzw. 0,34 $\mu\text{mol C/l}$. Es wurde eine Nitritabnahme um 1,10 $\mu\text{mol/l}$ und eine geringfügige Nitratzunahme verzeichnet, die vor dem Hintergrund des Nitratzusatzes jedoch nicht genau quantifiziert werden konnte. Geht man davon aus, daß der Großteil der Nitrifikation in den ersten 12 Tagen der Inkubation stattgefunden hat, so könnte hier die in Parallelansätzen ohne Nitratzusatz erfolgte Nitrifikation herangezogen werden. In diesen Ansätzen erfolgte in 12 Tagen eine Nitritabnahme um 1,12 $\mu\text{mol/l}$ und eine Nitratzunahme um 1,7 $\mu\text{mol/l}$. Nimmt man an, daß die Nitritverluste auf Nitrifikation zu Nitrat zurückzuführen sind, so verbliebe noch 0,58 $\mu\text{mol/l}$ NO_3^- , das durch Ammoniumoxidation entstanden wäre. Der Sauerstoffverbrauch für die gesamte in 12 Tagen verzeichnete Nitrifikation entspricht 1,72 $\mu\text{mol/l}$ O_2 (nach Gundersen und Mountain (1973) $\times 0,91$), der Abbau des POC in 100 Tagen 0,34 $\mu\text{mol/l}$ O_2 . Der ursprüngliche Sauerstoffgehalt der Probe von 0,14 ml/l (= 6,25 $\mu\text{mol/l}$) würde sich dadurch auf 0,09 ml/l (= 4,19 $\mu\text{mol/l}$) reduzieren. Der Beitrag des POC-Abbaus zur O_2 -Zehrung würde sich danach auf nur 16,5 % belaufen (bei Verwendung des Faktors nach Gundersen und Mountain (1973) 17,8 %).

3.4.5. Bakteriologische Parameter

3.4.5.1. Gesamtbakterienzahl

Die Skala der Gesamtbakterienzahl in der Wassersäule von Station T reichte von $0,21 \times 10^6$ bis $3,56 \times 10^6$ Zellen pro ml. Das Maximum lag in der euphotischen Schicht (2 m), der niedrigste Wert wurde in 20 m Tiefe ermittelt. Ein zweiter Anstieg war weiterhin zum Sediment hin zu verzeichnen. Außerhalb der Maxima in der euphotischen Schicht und in Sedimentnähe, waren in der suboxischen Wasserschicht von 100 m bis 150 m Tiefe deutlich höhere Werte ($x = 8,3 \times 10^5$ Zellen/ml, $s = 2,5 \times 10^5$), als in der oxischen Wasserschicht zwischen 20 m und 80 m Tiefe ($x = 3,2 \times 10^5$ Zellen/ml, $s = 1,2 \times 10^5$) zu verzeichnen (vgl. Abb.48d).

3.4.5.2. Saprophytenzahlen auf Zobell-Brackwasser-Agar (ZB)

a) aerob bebrütet

Die aeroben Saprophytenzahlen wurden mit dem Koch'schen Plattenverfahren ermittelt. Die Saprophytenzahlen lagen nach 14-tägiger Bebrütung zwischen 107 und 1813 CFU/ml. Das Maximum lag in der euphotischen Schicht, die niedrigsten Werte wurden in der suboxischen Wasserschicht (weniger als 200 CFU/ml) ermittelt (vgl. Abb. 48d). Das Verhältnis der Saprophyten an der Gesamtbakterienzahl lag im Bereich von 0,435 bis 0,010%. Der maximale Anteil wurde in der 20 m-Probe erreicht, der geringste Anteil wurde in der suboxischen Wasserschicht (> 0,027%) erzielt.

b) anaerob bebrütet

Die Anzahl der anaeroben Saprophyten lag mit 32 bis 72 CFU/ml eine Größenordnung niedriger als die der aeroben. Die anaeroben Saprophyten zeigten einen gleichbleibend niedrigen Level in der ganzen Wassersäule (Abb.56). Der Anteil der anaeroben Saprophyten an der Gesamtbakterienzahl lag zwischen 0,0009 und 0,0248%. Der Minimalwert wurde in der euphotischen Schicht verzeichnet, der Maximalwert in 50 m Tiefe. Das Verhältnis von anaeroben Saprophyten zu aeroben war mit 1,8% am niedrigsten in der euphotischen Schicht, und stieg in der suboxischen Wasserschicht auf 59% (140 m) an (Abb.56).

3.4.5.3. Nitratreduzierende und denitrifizierende Bakterien

In Nährbouillon-Nitrat-Flüssigmedium wurde die Gasbildung in Durhamröhrchen registriert und die N_2O -Produktion gaschromatographisch quantifiziert. Die Keimzahl wurde nach der MPN-Methode ermittelt. Das Detektionslimit für diese Keimzahlbestimmung lag bei 0,03 Bakterien/ml. Diese Untersuchungen wurden an Station T nur mit Wasserproben aus der suboxischen Wasserschicht zwischen 120 und 157 m durchgeführt.

a) N_2O -bildende Bakterien

Die Anzahl der N_2O -bildenden Bakterien in der suboxischen Schicht belief sich auf 20 bis 90 Bakterien pro ml (Abb.57). Dies entsprach 12 bis 84% der Anzahl der aeroben Saprophyten. Der Anteil der N_2O -Bildnern an der Gesamtbakterienzahl lag zwischen 0,002 und 0,008%.

Abb.56

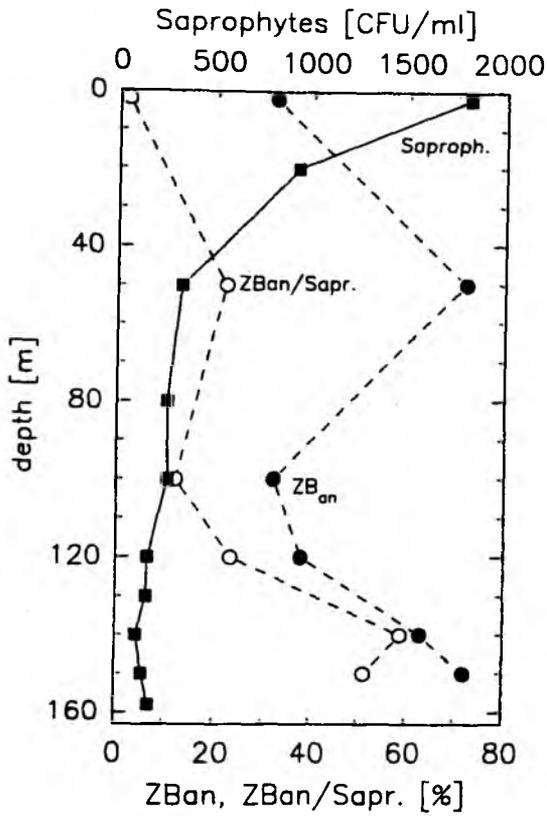


Abb.57

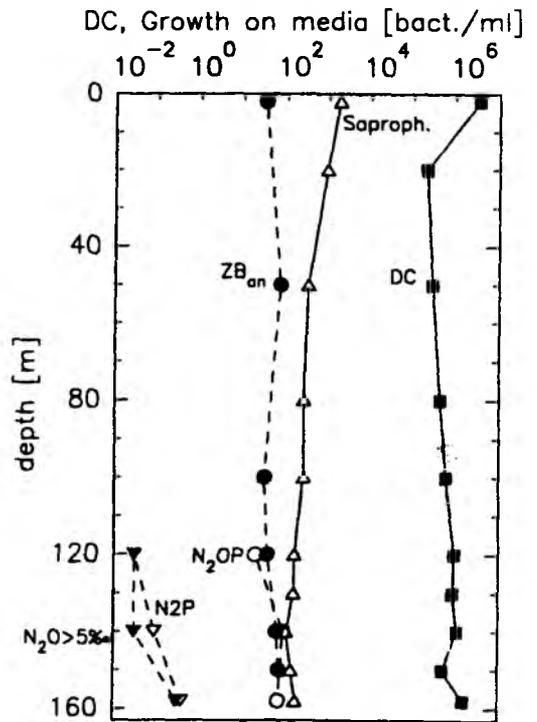


Abb.56:

Aerobe (Sapr.) und anaerobe Saprophyten (ZBan) auf ZB und das Verhältnis der anaeroben zu den aeroben (ZBan/Sapr.) in der Wassersäule von Station T.

Abb.57:

Vergleichende Darstellung der Gesamtbakterienzahl (DC) und der auf verschiedenen Medien erfaßten Bakterien in der Wassersäule von Station T.

Sapr. = aerob wachsende Bakterien auf ZB

ZBan = anaerob " " " "

N₂OP = N₂O-prod. Bakterien in NB+NO₃-Flüssigmedium

N₂P = N₂ - " " " "

N₂O > 5‰ = " " " " > 5‰ N₂O

b) Bakterien, die größere Mengen an N_2O ($> 5 \text{ ‰}$ (= 5000 ppmv) in Gasphase) produzieren

Diese Bakterien konnten, wie schon im Gotlandtief, nur in der Denitrifikationsschicht (157 m) detektiert werden. Hier wurde eine Dichte von 3 Bakterien pro 10 ml ermittelt (Abb.57).

c) Gasbildende Bakterien

In der suboxischen Wasserschicht wurden keine ($> 0,03$) bis 4 gasbildende Bakterien pro 10 ml detektiert. Das Maximum lag in der bodennahen Wasserschicht (157 m, ca. 5 m über Sediment), in der auch Denitrifikationsraten gemessen werden konnte. Der Anteil der Gasbildner an der Gesamtbakterienzahl lag sehr niedrig mit $2,5 \times 10^{-6}$ bis $8,1 \times 10^{-6} \%$. Auch das Verhältnis zu den N_2O -Bildnern lag nur bei 0,10 (140 m) bis 0,57% (157 m). Verglichen mit den aeroben Saprophyten, lagen die Konzentrationen bei 0,08 bis 0,2% der aeroben Saprophyten (vgl. Abb.57).

3.4.6. Vergleich der Keimzahlbestimmungen an Station T

Wie aus Abb.57 hervorgeht rangieren die verschiedenen Keimzahlen, sowie die Gesamtbakterienzahl über ein breites Spektrum von Größenklassen (von 3×10^6 bis 0.03 Bakterien/ml). Die Gesamtbakterienzahl bildet hier mit etwa 10^6 Zellen/ml im Mittel die Obergrenze. Die nächste Stufe wird im Bereich von 1000 bis 100 Zellen von den aeroben Saprophyten dargestellt. Im Bereich zwischen 10 und 100 bewegt sich dann die Anzahl der anaeroben Saprophyten und die der N_2O -Produzierer. Um den Wert von 0,1 Bakt./ml liegen dann die gasbildenden, sowie diejenigen Bakterien, die größere Mengen an N_2O ($>5\%$ in Gasphase) bildeten.

3.5. Vergleich von Gotlandtief und Station T

3.5.1. Vergleich der abiotischen Faktoren

Bei ähnlicher Hydrographie (Thermokline, Halokline) unterscheiden sich Gotlandtief und Station T in erster Linie durch Tiefe und Morphometrie der Vertiefungen. Das Gotlandtief weist die größere Tiefe (240 m) und die Form eines großflächigen Beckens auf. Station T stellt eine kleinflächige Vertiefung von maximal 163 m dar.

Bis in eine Tiefe von 120 m zeigten O_2 , NO_2^- , NO_3^- und NH_4^+ prinzipiell gleiche Verläufe und ähnliche Konzentrationen in der Wassersäule beider Stationen. Unterhalb von 120 (1987) bzw. 130 m (1986) lag im Gotlandbecken anoxisches, H_2S -haltiges Tiefenwasser vor. An Station T lag ab 100 m Tiefe sauerstoffarmes Wasser in einem Konzentrationsbereich von 0,22 bis 0,09 ml/l O_2 vor. Solche niedrigen Sauerstoffkonzentrationen wie an Station T wurden ohne die Anwesenheit von H_2S im Gotlandtief nie angetroffen. Die niedrigste O_2 -Konzentration oberhalb der H_2S -Schicht wurde 1987 in 120 m Tiefe mit 0,36 ml/l O_2 ermittelt. Im Mittel lagen die O_2 -Konzentrationen, die oberhalb der H_2S -Schicht (Abstand zur H_2S -Schicht < 10 m) angetroffen wurden bei 0,66 ml/l O_2 ($s = 0,20$; $n = 5$).

Die Stationen unterschieden sich im wesentlichen hinsichtlich der Redoxverhältnisse im Tiefenwasser. Eine ausgeprägte suboxische Wasserschicht wurde im Gotlandtief nie angetroffen, auch nicht als schmale Schicht oberhalb der H_2S -Schicht. An Station T fehlte hingegen eine anoxische, H_2S -haltige Wasserschicht (vgl. Abb.18,19,48).

3.5.2. Lokalisation und Rate der Denitrifikation

Denitrifikation konnte in der Wassersäule des Gotlandtiefs 1986 wie 1987 nur im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht nachgewiesen werden. Die denitrifizierenden Wasserproben enthielten H_2S und NO_3^- . An Station T wurde Denitrifikation nur in der sedimentnahen Wasserprobe (ca. 5 m oberhalb des Sediments) nachgewiesen. Die Denitrifikationsraten im Gotlandtief lagen mit 110 nmol/l und 44 nmol N/l etwas höher, als die an Station T ermittelten Raten von 14 nmol N/l (vgl. Abb.58).

3.5.3.. Stickstoffmineralisation

Schwerpunkte der Stickstoffmineralisation dürfte für beide Stationen die euphotische Schicht bis in den Bereich der Thermokline, die Halokline und der sedimentnahe Bereich gewesen sein. Für die Versorgung der Denitrifikation dürfte die Mineralisation im sedimentnahen Bereich von übergeordneter Bedeutung gewesen sein.

3.5.4. Nitrifikation

Nitrifikation wurde in Wasserproben aus der O_2 -haltigen Schicht unterhalb der euphotischen Schicht beider Stationen festgestellt. Dabei schienen die sauerstoffärmeren Wasserschichten unterhalb der Halokline die Hauptstandorte der Nitrifikation zu sein (vgl. Abb.26,52). Dies wird besonders deutlich in der linearen Regression der Nitrat- plus Nitritkonzentrationen (x 0.75) gegen die Sauerstoffkonzentrationen (vgl. Abb.59). Unter Einbeziehung der Daten vom



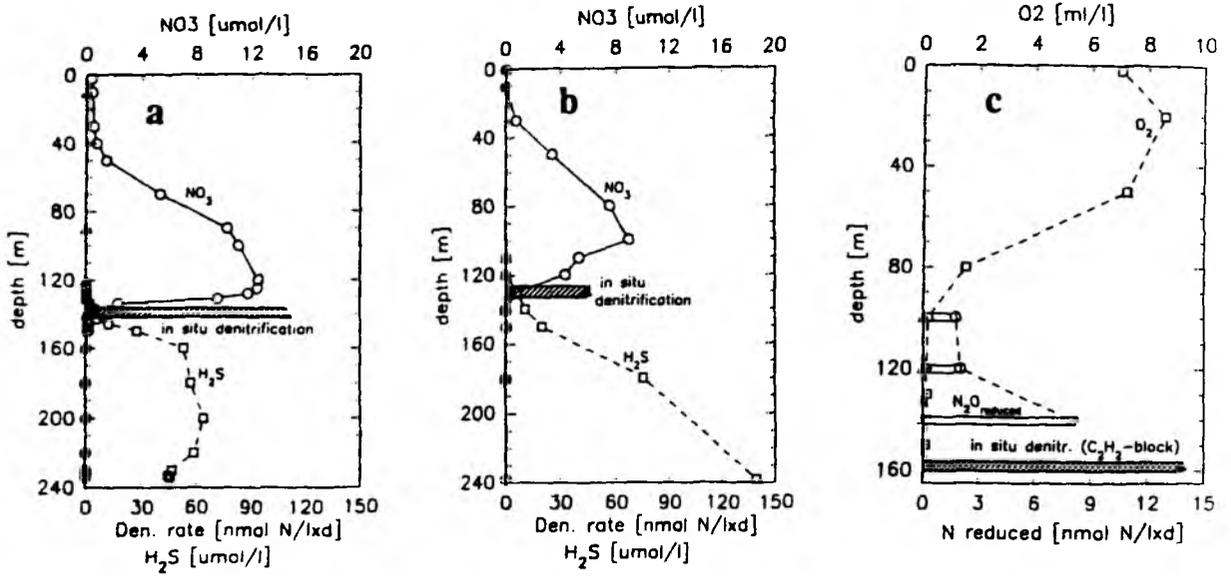


Abb.58: Vergleich der Denitrifikationszonen und in situ-Raten im Gotlandtief 1986 (= a) und 1987 (= b) und an Station T 1986 (= c)

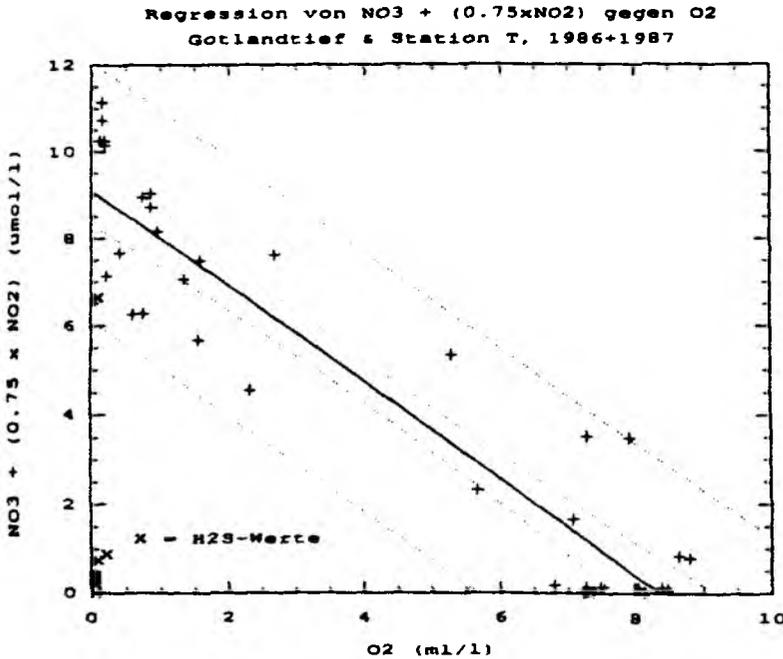


Abb.59: Lineare Regression der Summe von NO₃⁻ + 0.75 x NO₂⁻ gegen die Sauerstoffkonzentration für die Daten des Gotlandtiefs 1986 und 1987 und Station T (r = -0.937, a = 9.09, b = 1.086) Die höchsten NO₃⁻ + NO₂⁻-Konzentrationen wurden stets im sauerstoffarmen Wasser angetroffen. Die Werte im H₂S-Bereich lagen stets außerhalb des 90%-Vertrauensbereiches und wurden nicht bei der Berechnung der Regression miteinbezogen.

Gotlandtief 1986 und 1987 und von Station T 1986 ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von $r = -0,937$. Nach dieser Regression entsprach einer Sauerstoffabnahme von $1,09 \text{ ml/l}$ ($= 48,5 \text{ umol/l}$) eine Nitratzunahme von 1 umol/l , bzw. eine Nitritzunahme von $1,3$ ($= 1/0,75$) umol/l . Da bei gleichzeitigem Vorliegen von NO_3^- und H_2S Denitrifikation stattfand, wurden nur Werte aus dem H_2S -freien Teil der Wassersäule hier verwendet. Aufgrund des steilen Sauerstoffgradienten in der Halokline einerseits, und der nur in größeren Abständen erfolgten Probenahme andererseits, befindet sich die Mehrzahl der Punkte bei dieser Regression in Bereichen hoher oder niedriger Sauerstoffkonzentrationen. Eine dichte Probenabnahmesequenz im Bereich des Sauerstoffabfalls in der Halokline könnte diese Datenlücke schließen.

In Anwesenheit von H_2S lagen die Nitratwerte nicht mehr im 90 %-Vertrauensbereich der Regression. Dies gilt auch für Nitratwerte aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht. Während denitrifizierende Wasserproben von Station T ohne H_2S noch im 90 %-Vertrauensbereich der Regression lagen, war das bei Werten mit H_2S nicht mehr der Fall. Inwiefern dies ein Hinweis auf die Effizienz der " H_2S -Denitrifikation" ist, oder nur eine Hemmung der Nitrifikation hier vorlag, soll später im Hinblick auf die Verteilung des mineralisierten Stickstoffs in der Wassersäule diskutiert werden.

3.5.5. N_2O -Produktion und Zehrung

Erhöhte N_2O -Konzentrationen wurden stets in der sauerstoffarmen Wassersäule unterhalb der Halokline angetroffen. Von der Oberfläche bis zur Halokline lagen die Werte im Bereich der atmosphärischen Sättigung. Im anoxischen, H_2S -haltigen Tiefenwasser trat immer eine vollkommene Zehrung des N_2O auf. An Station T wurden wesentlich höhere N_2O -Konzentrationen registriert als im Gotlandtief (vgl. Abb.18,19,48).

Bei Betrachtung des gesamten Datensatzes beider Stationen fällt auf, daß erhöhte N_2O -Konzentrationen immer im Bereich erhöhter NO_3^- - und, bei Station T außerdem, erhöhter NO_2^- -Konzentrationen vorlagen. Die lineare Regression der NO_3^- gegen die N_2O -Konzentrationen zeigt eine positive Korrelation von $r = 0,873$. Eine noch bessere Korrelation tritt bei Verwendung der Summe von NO_3^- und NO_2^- gegen O_2 auf ($r = 0,923$). Dabei entspricht einer Konzentrationserhöhung von 1 umol/l ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) eine Zunahme von $20,1 \text{ nmol/l}$ $\text{N}_2\text{O-N}$ (vgl. Abb.60).

Ein Vergleich aller N_2O - mit den Sauerstoffkonzentrationen zeigte bei linearer Regression sehr schlechte Übereinstimmung ($r = -0,283$). Wurden alle Werte aus dem H_2S -haltigen Bereich der Wassersäule eliminiert, so verdeutlichte sich dieser Zusammenhang (bei linearer Regression $r = -0,735$). Mit einer reziproken Regression ließ sich der Zusammenhang zwischen O_2 -Gehalt und N_2O -Konzentration am besten darstellen ($r = 0,962$). Ein reziproker Zusammenhang ergab sich auch, wenn statt der absoluten N_2O -Konzentration der Differenzbetrag ($= d\text{N}_2\text{O}$ -Wert) zwischen Meßwert ($\text{N}_2\text{O obs}$) und Sättigungswert ($\text{N}_2\text{O sat}$, berechnet für 300 ppbv, nach Rönner (1983)) eingesetzt wurde. Um keine negativen Werte in der reziproken Darstellung vorliegen zu haben, wurden zu dem $d\text{N}_2\text{O}$ -Wert 27 nmol N/l N_2O addiert. Der Additionswert von 27 nmol/l entstammt einer linearen Regression zwischen der absoluten N_2O -Konzentration und den $d\text{N}_2\text{O}$ -Werten ($r = 0,9995$, $a = 26,9$ $b = 1,009$). Die reziproke Regression der aufgestockten $d\text{N}_2\text{O}$ -Werte gegen die Sauerstoffkonzentration in der Wassersäule zeigte einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,978$ ($n = 16$, s. Abb.61). Auch hier bei waren Werte aus dem H_2S -haltigen Teil der Wassersäule nicht in die Berechnung integriert worden.

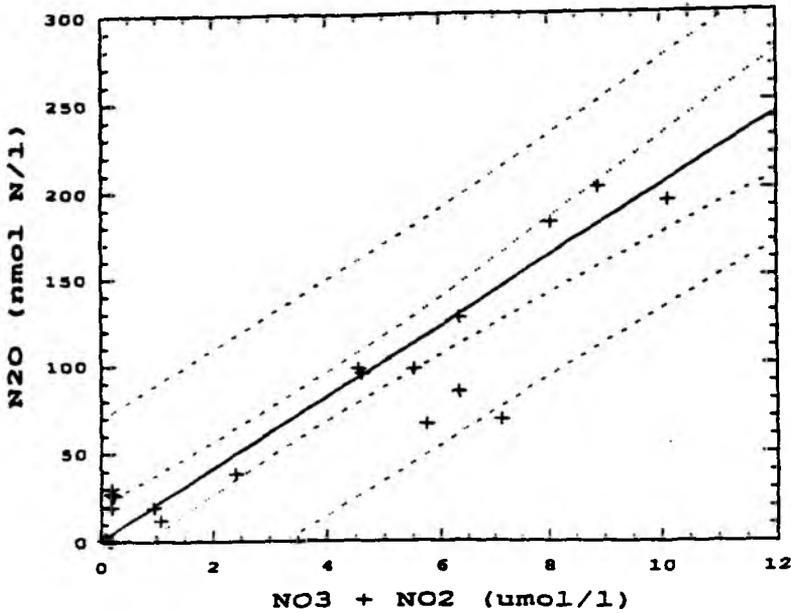


Abb.60:

Lineare Regression der N_2O -Konzentration gegen die Summe von $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ für die Daten des Gotlandtiefs 1986 und 1987 und Station T ($r = 0.923$, $a = 1.19$, $b = 20.16$). Die höchsten N_2O -Konzentrationen wurden stets im Bereich hoher $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ -Konzentrationen angetroffen.

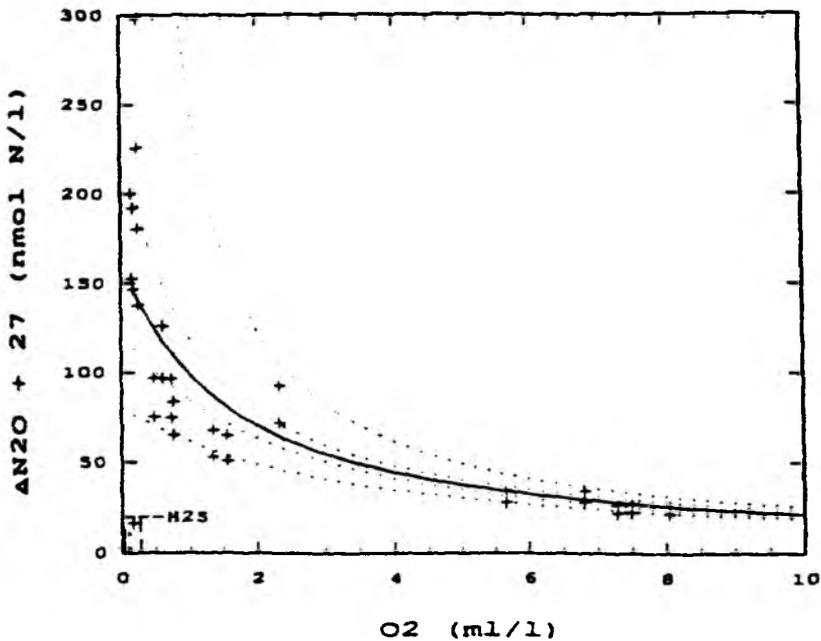


Abb.61:

Regression der N_2O -Werte + 27 nmol N_2O -N/l gegen die Sauerstoffkonzentration. Das reziproke Modell lieferte die beste Beschreibung für den Zusammenhang zwischen ansteigendem N_2O -Überschuß und sinkender Sauerstoffkonzentration in der Wassersäule beider Stationen. ($r = 0.962$, $a = 5.45 \times 10^{-3}$, $b = 4.59 \times 10^{-3}$)

Da bekannt ist, daß die Ammoniumoxidierer bei geringeren Sauerstoffkonzentrationen einen größeren Prozentsatz von N_2O im Verhältnis zu der Menge an gebildetem NO_2^- produzieren (Goreau et al. 1980, Poth und Focht 1985), wurde das Verhältnis von dN_2O zu den Nitrifikationsprodukten NO_2^- und NO_3^- bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen verglichen. In diesen Vergleich wurden nur Werte der Wasserproben tiefer als 70 m einbezogen. Oberhalb von 70 m waren die NO_3^- - und N_2O -Konzentrationen so niedrig, daß sie z.T. nahe an der Nachweisgrenze lagen, und daher sehr ungenaue Quotienten lieferten.

Der Zusammenhang zwischen dem Quotienten dN_2O / Nitrifikationsprodukten und der Sauerstoffkonzentration läßt sich ebenfalls am besten in einer reziproken Regression darstellen (Abb.62a, $r = 0,888$). Dabei zeichnet sich bei einem Rückgang der Sauerstoffkonzentration von 6 auf 0,1 ml/l ein Anstieg des N_2O -Anteils an den Nitrifikationsprodukten von etwa 0,3 bis 2,0% ab. Der Hauptanstieg der N_2O -Produktion lag dabei bei O_2 -Konzentrationen unter 2 ml/l. Wurden nur die Werte von Sauerstoffkonzentrationen unter 2 ml/l eingesetzt, so lag zwischen 1,6 und 0,1 ml/l O_2 ein Anstieg von 0,6 auf 2,5% vor ($r = 0,937$, s. Abb.62b).

Dies bedeutet, daß mit sinkenden Sauerstoffkonzentrationen die Menge an N_2O verglichen mit der Menge an oxidiertem Ammonium, hier als Summe von NO_2^- und NO_3^- eingesetzt, zunahm.

3.5.6. Vergleich der regulierenden Faktoren der Denitrifikation

An Station T wie im Gotlandtief lag in der Wassersäule eine Limitierung der Denitrifikation durch den Elektronendonator vor.

An Station T lagen in der Wasserschicht von 100 m Tiefe bis zum Sediment in 163 m Tiefe Sauerstoff- und Nitratkonzentrationen vor, die den Ablauf der Denitrifikation erlaubt hätten. Denitrifikation fand in nachweisbaren Mengen allerdings nur in der sedimentnahen Wasserprobe aus 157 m Tiefe statt. Versuche mit Wasserproben aus 120 m Tiefe zeigten, daß die Zugabe von Acetat und auch Glucose die Denitrifikation nach einer lag-Phase von mindestens 4 Tagen zum Einsetzen brachte. In der sedimentferneren Wassersäule lag also eine Limitierung durch den Elektronendonator vor, in der sedimentnahen Wasserschicht mag organischer Kohlenstoff vom Sediment her eingetragen worden sein.

Die Denitrifikation in der Wassersäule des Gotlandtief direkt oberhalb sowie in der obersten Zone der oxisch-anoxischen Grenzschicht war ebenfalls durch den Elektronendonator limitiert. In Wasserproben ohne die Anwesenheit von H_2S konnte auch bei bis zu 12-tägiger Bebrütung keine Denitrifikation nachgewiesen werden. Da die nitrathaltige Wasserzone hier nicht in Sedimentnähe lag, konnte eine Versorgung durch sedimentierten organischen Kohlenstoff nicht erfolgen. Hier wurde anstatt organischen Kohlenstoffs wahrscheinlich in erster Linie die Oxidation reduzierter Schwefelverbindungen zur Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten für die Denitrifikation genutzt.

Die Denitrifikationsmechanismen von Station T und dem Gotlandtief beruhen beide auf einer Kohlenstofflimitierung in der sedimentfernen Wassersäule. Dies bedingt, daß es nicht zur Denitrifikation in der freien Wassersäule, sondern nur in unmittelbarer Nähe von "energiereichen" Grenzschichten kam. Diese Grenzschicht war bei Station T die sedimentnahe

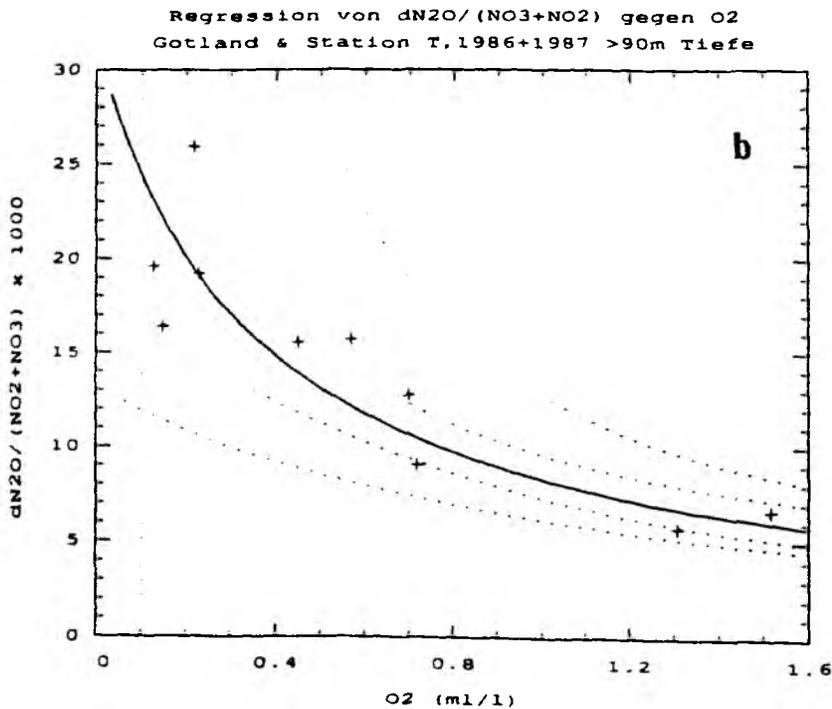
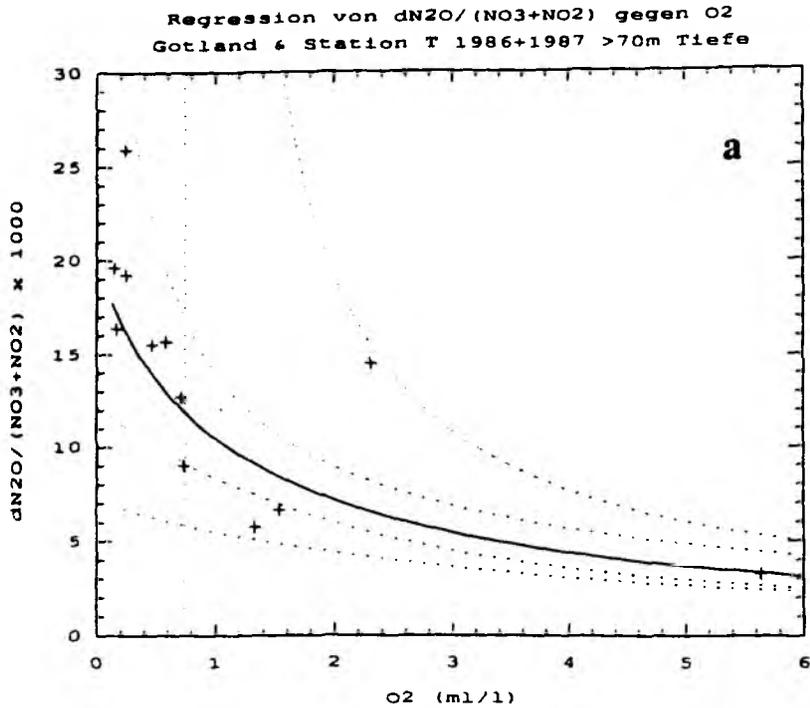


Abb.62a,b:

Regression des Quotienten von N_2O zur Summe der Nitrifikationsprodukte $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ gegen die Sauerstoffkonzentration. Auch hierfür lieferte das reziproke Modell die beste Beschreibung. In a) wurden nur Daten von unterhalb 70 m Tiefe und geringeren Sauerstoffkonzentrationen als 6.0 ml/l verwendet, bei b) war die Ausschlußgrenze 90 m Tiefe und $\text{O}_2 < 1.6$ ml/l.

(zu a) $r = 0.888$, $a = 0.051$, $b = 0.044$; zu b) $r = 0.937$, $a = 0.032$, $b = 0.089$)

Wasserschicht und wahrscheinlich insbesondere die Sedimentoberfläche, im Gotlandtief die oxisch-anoxische Grenzschicht. Die Situation an Station T würde in die des Gotlandtiefs umschwenken, sobald sich in der sedimentnahen Wasserschicht H_2S anreichern würde. Eine solche Situation wurde im Juli 1985 an Station Teili I nahe der Station T angetroffen (vgl. Abb.63b). Hier waren kein Nitrit und Nitrat mehr in der sedimentnahen Wasserschicht vorhanden. Die Nitratkonzentration sank oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht stark ab. Vergleicht man die Nitrat- und Nitritkonzentrationen an Station T und an Station Teili I, so kann man sich die zweite Situation aus der ersten durch eine Anreicherung von H_2S im Bodenwasser und nachfolgender Denitrifikation des zuvor vorhandenen Nitrats herleiten.

3.5.7. Vergleich der bakteriellen Parameter

Die für beide Stationen ermittelten bakteriologischen Parameter wurden in Tabelle 4 gegenübergestellt.

3.5.7.1. Gesamtbakterienzahl

Die Gesamtbakterienzahl an Station T und im Gotlandtief lag in derselben Größenordnung von etwa 2×10^5 bis 4×10^6 Zellen/ml. Gemeinsam war beiden Stationen auch das Maximum in der euphotischen Schicht, sowie der Anstieg in Sedimentnähe. Im Gotlandtief war noch zusätzlich ein Anstieg im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht verzeichnet worden. An beiden Stationen lagen in der oxischen Wasserschicht geringere Gesamtbakterienzahlen vor, als in der anoxischen im Gotlandtief, bzw. der suboxischen an Station T. Auch die Anzahl, die im Mittel für die oxischen und anoxischen, bzw. suboxischen Teile der Wassersäule ermittelt wurde, war hier sehr gut vergleichbar: In der oxischen Wassersäule kamen bei Station T $3,2 \times 10^5$ Zellen/ml vor, im Gotlandtief 1986 $2,1 \times 10^5$ Zellen/ml und 1987 $2,9 \times 10^5$ Zellen/ml. Im suboxischen Teil der Wassersäule von Station T wurden $8,3 \times 10^5$ Zellen/ml ermittelt, im anoxischen Bereich des Gotlandtiefs 1986 $8,0 \times 10^5$ Zellen/ml, 1987 $9,8 \times 10^5$ Zellen/ml (vgl.Tab.4 und Abb.64a-c)

3.5.7.2. Aerobe Saprophyten auf Zobell-Brackwassermedium (ZB)

Die Anzahl der aeroben Saprophyten lag bei beiden Stationen im Bereich von etwa 100 bis 2000 CFU/ml. Die Maxima lagen stets in der euphotischen Schicht, die niedrigste Dichte kam in der anoxischen Wasserschicht des Gotlandtiefs, sowie der suboxischen Wasserschicht von Station T vor. Im Gotlandtief wurden weitere Anstiege 1986 in der oxisch-anoxischen Grenzschicht und 1987 am Unterrand der Halokline verzeichnet. Im Gegensatz zum Gotlandtief erfolgte an Station T nur ein gleichmäßiger Abfall von der euphotischen zur suboxischen Schicht hin.

Auch der Anteil der Saprophyten an der Gesamtbakterienzahl lag in derselben Größenordnung von etwa 0,01 bis 0,5 %. Der maximale Anteil wurde in der oxischen Wassersäule ermittelt, der minimale mit Werten unter 0,04% im anoxischen, bzw. suboxischen Teil der Wassersäule. Im Gotlandtief war der Bereich mit einem hohen Anteil mit einer Ausdehnung von unterhalb der euphotischen bis zur oxisch-anoxischen Grenzschicht (0,15%) viel größer, als an Station T, bei der nur zwischen 20 und 50 m Tiefe größere Anteile (0,11%) erreicht wurden.

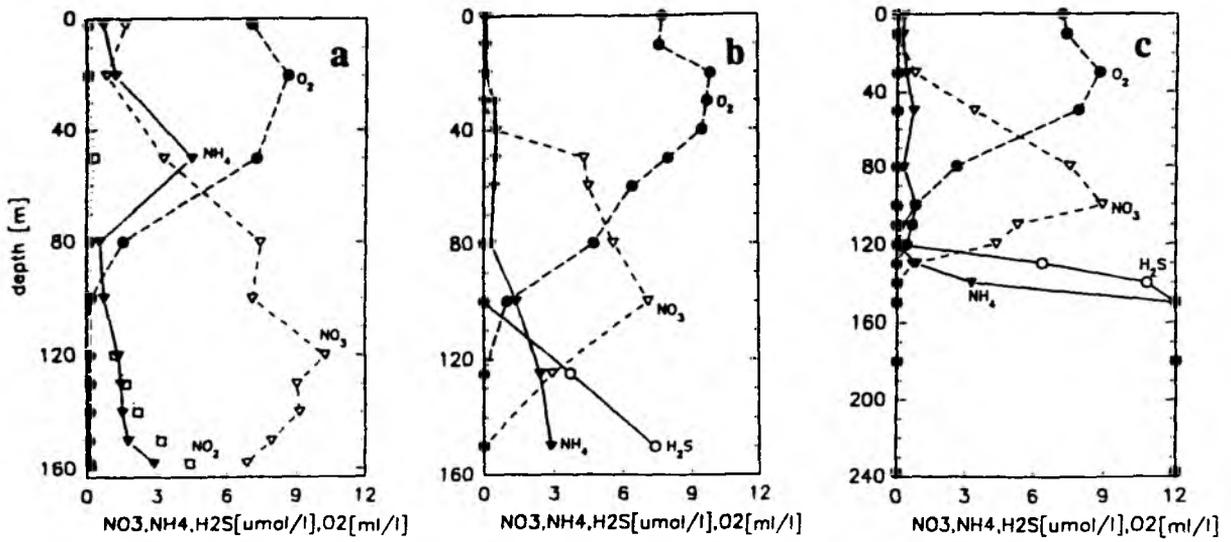


Abb.63a-c:

Aufzeigen des Übergangs von suboxischer zu H₂S-haltiger, anoxischer Wassersäule.

a = suboxische Wassersäule von Station T (19.8.86)

b = anoxisches Tiefenwasser mit geringen H₂S-Konzentrationen an Station Teili (1.8.85)

c = mächtige, anoxische Wasserschicht mit hohen H₂S-Konzentrationen im Gotlandtief (31.7.87)

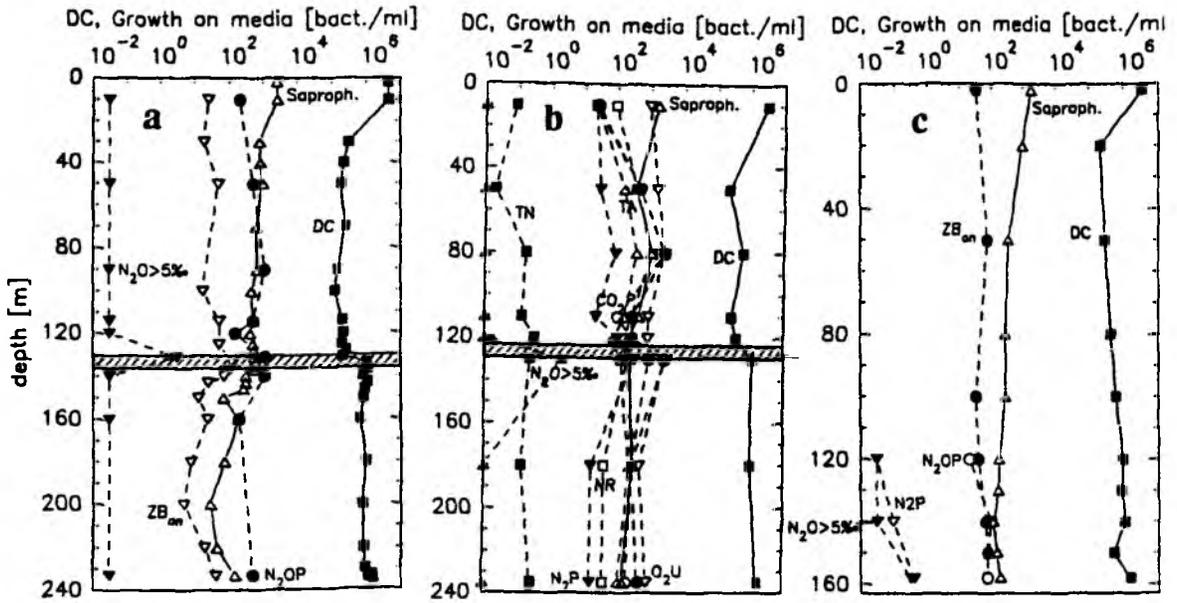


Abb.64a-c:

Vergleichende Darstellung der Gesamtbakterienzahlen (DC) und Wachstum auf verschiedenen Medien im Tiefenprofil des Godlandtiefs 1986 (a) und 1987 (b) und von Station T 1986 (c).

Saproph. = Saprophyten auf ZB, aerob,

N_2OP = N_2O -prod. Bakterien

$N_2O > 5\%$ = " " (mehr als 5% N_2O in Gasphase)

N_2P = N_2 - " "

CO_2P = CO_2 - " "

O_2P = O_2 -verbr. " "

NR = Nitratreduzierer

ZBan = anaerob auf ZB wachsende Bakterien

TA = aerobe Thiosulfatoxidierer

TN = denitrifizierende " "

3.5.7.3. Anaerobe Saprophyten auf Zobell-Brackwassermedium

Die Anzahl der anaeroben Saprophyten lag bei beiden Stationen in derselben Größenordnung. An Station T lagen 32 bis 72, im Gotlandtief 5 bis 168 CFU/ml vor. Im Gotlandtief lag ein Maximum in der oxisch-anoxischen Grenzschicht vor. An Station T hingegen lag annähernd die gleiche Anzahl in der ganzen Wassersäule vor.

Der Anteil der anaeroben Saprophyten an der Gesamtbakterienzahl war fast identisch und lag zwischen 0,0006 bis 0,026%. Der maximale Anteil wurde jeweils in 50 m Tiefe erreicht. Im Gotlandtief erfolgte ein weiterer Anstieg oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht.

Das Verhältnis der anaeroben Saprophyten zu den aeroben war im anoxischen Bereich stets höher als im oxischen. In der euphotischen Schicht war dieser Anteil minimal mit 1,0% im Gotlandtief und 1,8% an Station T. Das Maximum in der anoxischen Schicht erreichte im Gotlandtief 43,5%, an Station T in der suboxischen Schicht 59%.

3.5.7.4. Vergleich der N₂O-bildenden Bakterien

Die Anzahl der N₂O-bildenden Bakterien wurde im Gotlandtief über die gesamte Wassersäule ermittelt, an Station T nur in der suboxischen Wasserschicht. Die suboxische Wasserschicht von Station T soll daher nacheinander mit der anoxischen Wassersäule des Gotlandtiefs, der oxisch-anoxischen Grenzschicht, sowie der oxischen N₂O-übersättigten Wassersäule verglichen werden.

In der suboxischen Wasserschicht von Station T wurden 20 - 90 N₂O-bildende Bakterien pro ml ermittelt. Diese Werte lagen sehr viel niedriger, als die in der Wassersäule des Gotlandtiefs (1986: 150-1100, 1987: 26- 2400). Im anoxischen Bereich des Gotlandtiefs wurden zwischen 200 und 500 Bakterien ermittelt, in der oxisch-anoxischen Grenzschicht 900-1100, in der oxischen Wasserschicht 150 bis mindestens 2400.

Auch der Anteil der N₂O-Bildner an der Gesamtbakterienzahl lag an Station T vergleichsweise niedrig bei 0,002 bis 0,008%. Derart niedrige Anteile wurden im Gotlandtief nur in der euphotischen Schicht angetroffen. Der Anteil im Gotlandtief überspannte einen Bereich von 0,001 bis 0,70%. Dabei lag er im anoxischen Bereich mit Werten von 0,030 bis 0,035% am niedrigsten, in der Grenzschicht betrug der Anteil zwischen 0,081 und 0,145%, in der oxischen Wasserschicht wurden die höchsten Anteile und die breiteste Wertespanne von 0,07 bis 0,70% verzeichnet.

An Station T lag die Anzahl der N₂O-Bildner stets niedriger, als die der aeroben Saprophyten (12-84%). In der Wassersäule des Gotlandtiefs waren meist mehr N₂O-Bildner als aerobe Saprophyten vorhanden. Das prozentuale Verhältnis von N₂O-Bildner zu Saprophyten wies die breite Spanne von 1,6% bis 356% auf. Im anoxischen Teil der Wassersäule betrug der Anteil 105 bis 333%, an der oxisch-anoxischen Grenzschicht 350 bis 355% und in der oxischen Schicht 35 bis mindestens 220%.

In der suboxischen Wasserschicht von Station T lagen sowohl die Absolutwerte, als auch die relativen Anteile verglichen mit Gesamtbakterienzahl und Saprophytenzahl wesentlich niedriger, als in den verschiedenen Zonen der Wassersäule des Gotlandtiefs. Am stärksten ausgeprägt waren die Abweichungen bei den Absolutwerten (Faktor 10-50) und dem Verhältnis zu der Gesamtbakterienzahl (Faktor 10-100), am nächsten kamen sich die Werte

bezogen auf die Saprophytenzahl (Faktor 2-5) (vgl. Tab.4).

3.5.8. Vergleich von abiotischen und bakteriologischen Parametern in der Denitrifikationsschicht

3.5.8.1. Vergleich der abiotischen Parameter

Die Nitrit- und Nitratkonzentrationen lagen in der Denitrifikationsschicht des Gotlandtiefs ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 1986: 0,78; 1987: 1,00 $\mu\text{mol/l}$) stets wesentlich niedriger, als bei Station T ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$: 7,98 $\mu\text{mol/l}$). Im Gegensatz zu Station T, wurden in der Denitrifikationszone des Gotlandtiefs nie höhere Nitritkonzentrationen als 0,3 $\mu\text{mol/l}$ angetroffen. Auch die Summe von NO_2^- , NO_3^- und NH_4^+ , als Großteil des mineralisierten Stickstoffs betrachtet, lag bei Station T mit 9,5 $\mu\text{mol/l}$ wesentlich höher, als im Gotlandtief (1986: 2,9 $\mu\text{mol/l}$, 1987: 1,9 $\mu\text{mol/l}$). Ähnlich gravierend sind die Unterschiede im Rückgang der Konzentration des mineralisierten Stickstoffs, bei Vergleich der Wasserproben von oberhalb und aus der Denitrifikationsschicht: Während die Menge des mineralisierten Stickstoffs sich an Station T von 140 m auf 157 m nur um 0,3 $\mu\text{mol/l}$ verringerte, betragen die Abnahmen im Gotlandtief zwischen Wasserproben von 10 m oberhalb und aus der Denitrifikationschicht 2,7 bis 3,7 $\mu\text{mol/l}$.

Die N_2O -Konzentrationen lagen an Station T ca. 5 bis 8-mal höher, als im Gotlandtief. An Station T lag das 6,4-fache des atmosphärischen Sättigungswertes vor, im Gotlandtief wurde stets Untersättigung angetroffen.

Der POC-Gehalt in den Denitrifikationsschichten lag im Gotlandtief geringfügig niedriger, als an Station T. Auffallender waren die Unterschiede im C/N-Verhältnis. Während in der oxisch-anoxischen Grenzschicht des Gotlandtiefs ein sehr niedriges molares C/N-Verhältnis von 6,8 angetroffen wurde, lag es bei Station T mit 9,6 deutlich höher (vgl. Tab. 5., Teil a).

3.5.8.2. Vergleich der bakteriologischen Parameter

Die ermittelten Denitrifikationsraten lagen in der Denitrifikationszone des Gotlandtiefs um den Faktor 3-8 höher als bei Station T. Durch Nitratzusatz ließen sich die Denitrifikationsraten bei Proben von Station T, nicht jedoch bei denitrifizierenden Wasserproben aus dem Gotlandtief steigern. Bei beiden Stationen war das Nitrat nicht limitierend (vgl. Tab. 5, Teil b).

Die Gesamtbakterienzahlen in der denitrifizierenden Wasserprobe im Gotlandtief (1986: $9,3 \times 10^5$, 1987: $9,4 \times 10^5$ Zellen/ml) lag etwas niedriger als an Station T (158 m: $1,61 \times 10^6$ Zellen/ml).

Die Saprophytenzahlen waren im Gotlandtief in etwa um den Faktor 2 größer, als an Station T. Entsprechend niedriger lag bei Station T auch das Verhältnis der Saprophyten- zu der Gesamtbakterienzahl.

Bei der Anzahl der N_2O -bildenden Bakterien war der Unterschied zwischen der Denitrifikationszone des Gotlandtiefs und der von Station T am ausgeprägtesten. Hier lagen die Werte im Gotlandtief 13 bis 16-mal so hoch wie an Station T. In etwa um den Faktor 10 unterschieden sich die Anzahl der Bakterien, die in der Lage waren größere Mengen an N_2O zu produzieren. 20-30 Bakterien pro 10 ml wurden im Gotlandtief erfaßt, 3 Bakterien pro

10 ml an Station T (vgl. Tab. 5, Teil c).

Im Gotlandtief entsprachen die höheren Denitrifikationsraten im Vergleich zu Station T sowohl einer höheren Anzahl an N_2O -Bildnern generell, als auch insbesondere einer höheren Anzahl der Bakterien, die besonders stark denitrifizierten.

Tab. 4:
Vergleich der bakteriologischen Parameter an Station T und im Gotlandtief

Parameter	Station T 1986		Gotlandtief 1986		Gotlandtief 1987	
	Anzahl	Max/Min	Anzahl	Max/Min	Anzahl	Max/Min
Gesamtbakterienzahl (=GBZ) (x 10 ⁶ Zellen/ml)	0,21- 3,56	1) Euph. 2) Sedn.	0,12- 4,41	1) Euph. 2) Sedn. 3) Ox-An.	0,22- 3,02	1) Euph. 2) Sedn. 3) Ox-An. 4) Halo.
	ox: x = 0,32 s = 0,12		ox: x = 0,21 s = 0,05		ox: x = 0,29 s = 0,08	
	subox: x = 0,83 s = 0,25		anox: x = 0,80 s = 0,11		anox: 0,98 (n = 1)	
ZBaerob (CFU/ml)	107- 1813	1) Euph. -1) Subox.	29- 2627	1) Euph. 2) Ox-An. -1) Anox.	170- 1600	1) Euph. 2) Halo. -1) Anox.
ZBaerob/ Gesamtbakterienzahl (%)	0,010- 0,435	1) 20m -1) Subox. 0,030	0,004- 0,510	1) Ox. -1) Anox. 0,030 -2) Euph.	0,010- 0,190	1) Ox. -1) Anox. 0,040 -2) Euph.
ZBanaerob (CFU/ml)	32- 72		5- 168	1) Ox-An.	--	
ZBanaerob/ Gesamtbakterienzahl (%)	0,0009- 0,0248	1) 50m	0,0006- 0,0259	1) 50m 2) oberh. Ox-An.	--	
ZBanaerob/ ZBaerob (%)	1,8- 59,0	1) Subox. -1) Euph.	1,0- 43,5	1) Anox. -1) Euph.	--	
N20- Bildner (Keime/ ml)	nur subox. Schicht 20- 90		150- 1100	1) Halo. 2) Ox-An. Anox.: 300-500 Ox-An.: 1100 Ox.: 150-1100	26- 2400	1) Halo. 2) Ox-An. Anox.: 200-500 Ox-An.: 900 Ox.: 300-2400
N20- Bildner/ Gesamtbakterienzahl (%)	0,002- 0,008		0,005- 0,70	1) Halo. 2) Ox-An. -1) Euph. Anox.: 0,030-0,035 Ox-An.: 0,145 Ox.: 0,070-0,70	0,001- 0,41	1) Halo. -1) Euph. Anox.: 0,030-0,030 Ox-An.: 0,081 Ox.: 0,080-0,41
N20- Bildner/ ZBaerob (%)	12- 84		7,6- 355	 Anox.: 105-333 Ox-An.: 355 Ox.: 35-163	1,6- 350	 Anox.: 94-294 Ox-An.: 350 Ox.: 64-220

Legende zur Tabelle 4:

Max/Min: X = Maxima, -X = Minima; Aufzählung in Reihenfolge der Höhe des Wertes

Anox. = anoxische Wasserschicht

Subox. = suboxische

Ox. = oxische unterhalb der euphot. Schicht

Euph. = euphotische

Sedn. = sedimentnahe

Ox-An. = oxisch-anoxische Grenzschicht

ZBaerob = Saprophytenzahl, aerob, auf Zobell-Brackwasseragar

ZBanaerob = , anaerob,

Tab. 5:

Parametervergleich in den Denitrifikationsschichten von Gotlandtief
1986 und 1987 und Station T 1986.

Parameter	Station T 1986	Gotland 1986	Gotland 1987
a) abiot.			
(umol/l)			
Tiefe (m)	157	140	130
NO ₃ ⁻	3,9	0,7	0,7
NO ₂ ⁻	4,08	0,18	0,29
NH ₄ ⁺	1,5	2,0	0,9
NH ₄ +NO ₂ +NO ₃ (Nmin)	9,5	2,9	1,9
Nmin über Den.schicht	9,8 (140m) 10,7 (120m)	6,6 (130m) 7,3 (120m)	4,6 (120m) 5,7 (110m)
H ₂ S	0,0	+ (n.e.)	6,4
O ₂ (ml/l)	0,22	0,13	0,0
(umol/l)	9,82	5,80	0,0
N ₂ O (nmol/l)	90,8	19,2	11,8
(%Sättg.)	547,7	63,2	42,2
POC (ug/l)	121,2 (4,5)	84,9 (1,3)	105,2 (1,6)
PON (ug/l)	14,8 (0,9)	n.e.	18,0 (0,5)
C:N (mol/mol)	9,55 (0,25)	--	6,81 (0,28)
b) Denitrifikation: (nmol N/l)			
Den.rate (nmol/lxd)	13,8	111	44
Max.denitr. N o. e -do- natorzusatz *1	157 (12 Tge + NO ₃)	462 (4 Tge o.NO ₃)	183 (4 Tge o.NO ₃)
Einfluß von NO ₃ -Zusatz	steigernd(++)	senkend(--)	2 Tge: 0 4 Tage: -*2
	-- keine NO ₃ - Limitierung --		
c) bakterielle Parameter (Anzahl/ml)			
Gesamtbak- terienzahl (=GBZ) (x 10 ⁶)	-- 1,6 (Zob.Sch.)	0,93 (Den.Pr.) 0,76 (Zob.Sch.)	0,94 (Den.Pr.) 1,12 (Zob.Sch.)
ZBaerob	177	310	257
ZBaerob/ GBZ (%)	0,011	0,029	0,023
N ₂ O- Bildner	70	1100	900
N ₂ O-Bildner/ GBZ (%)	0,0043	0,1447	0,0806
N ₂ O-Bildner/ ZBaerob (%)	39,6	355	350
N ₂ O-Bildner 5000ppm(NO ₃)	0,3	3	2
NO ₃ /GBZ (%)	0,00002	0,00040	0,00018
NO ₃ /ZBaerob (%)	0,17	0,97	0,78

Legende zu Tab.5:

GBZ = Gesamtbakterienzahl
Einheiten wie unter Unterpunkten angegeben, sonst unter Parameter
vermerkt.

*1 = maximale Menge an denitrifiziertem Stickstoff ohne Elektronendo-
natorzusatz; Inkubationsbedingungen in Klammern

*2 = nur geringfügig absenkende Wirkung bei 4-tägiger Inkubation

Zob.Sch. = Probe mit Zobellschöpfer entnommen

Den.Pr. = Wert aus derselben Wasserprobe, in der Denitrifikation gemessen werden konnte

sonstige Angaben vgl. Tab.4

4. DISKUSSION

4.1. Denitrifikation und ihre regulierenden Faktoren in der Wassersäule der zentralen Ostsee

Die Denitrifikation ist ein Prozeß, der durch den Sauerstoffpartialdruck, die verfügbaren Stickoxide (= Elektronenakzeptoren) sowie den verfügbaren organischen Kohlenstoff, bzw. andere verwertbare Elektronendonatoren, reguliert wird.

Die Wassersäule der zentralen Ostsee zeichnete sich durch einen starken Abfall der Sauerstoffkonzentration in der Halokline aus. Sauerstoffkonzentrationen, die ein Einsetzen der Denitrifikation erlauben, wurden bei den vorliegenden Untersuchungen stets erst unterhalb der Halokline verzeichnet, im Gotlandtief im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht (130-140 m), an Station T in der Wassersäule unterhalb von 100 m. Die Wassersäule unterhalb der Halokline enthielt, solange Sauerstoff vorhanden war, immer Nitrat im Konzentrationsbereich von 0,7 (oxisch-anoxische Grenzschicht) bis 11 $\mu\text{mol/l}$.

Denitrifikation konnte mit der Azetylenblockmethode im Gotlandtief nur im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht, an Station T nur im sedimentnahen Wasser (157 m) festgestellt werden. Die Denitrifikationsraten lagen im Gotlandtief mit 44 (1987) und 110 $\text{nmol N/l} \times \text{d}$ (1986) um den Faktor 3 bis 8 höher, als an Station T (13,8 $\text{nmol/l} \times \text{d}$).

In der suboxischen Wassersäule von Station T wurde oberhalb der sedimentnahen Denitrifikationschicht Reduktion von N_2O verzeichnet. Hier konnte jedoch keine Reduktion von weniger reduzierten Stickstoffoxiden (NO_3^- , NO_2^- , NO) zu N_2O nachgewiesen werden. Die N_2O -Zehrungsrate war im oberen Teil der suboxischen Wasserschicht sehr niedrig (2 $\text{nmol N/l} \times \text{d}$). In der Zone oberhalb der eigentlichen Denitrifikationsschicht erhöhte sie sich auf 8 $\text{nmol N/l} \times \text{d}$.

An beiden Stationen lag keine Limitierung der Denitrifikation durch Nitrat vor. Hinweise darauf ergaben sich durch Inkubationen mit und ohne Nitratzusatz. Während der ersten vier Tage der Inkubation wurde das in der Probe originär vorliegende Nitrat nie quantitativ aufgebraucht. Im Gotlandtief konnte durch Nitratzusatz (50 $\mu\text{mol/l}$) keine Steigerung der Denitrifikationsraten erzielt werden. Bei Station T erfolgte eine Verdopplung der Denitrifikationsraten nach Nitratzusatz, obwohl die Denitrifikation bei in situ-Nitratkonzentrationen ($\text{NO}_3^- = 3,9 \mu\text{mol/l}$) weniger als 1 % des vorliegenden Nitrats aufgebraucht hatte. Dies kann nicht als Limitierung der Denitrifikation durch das Nitrat, sondern nur als kinetische Kontrolle angesehen werden, d.h. die maximale Umsatzrate der vorliegenden Denitrifikantenbiozönose wurde erst bei höheren Konzentrationen erreicht. Halbsättigungskonstanten (k_M) von 4 - 31 $\mu\text{mol/l NO}_3^-$ wurden von Koike et al. (1972, 1978) im Bodenwasser von Brackwasserseen und einem anoxischen Fjord, Saanich Inlet, B.C., ermittelt. k_M -Werte größer als 2 $\mu\text{mol/l NO}_3^-$ wären auch für die Denitrifikation im Bodenwasser von Station T anzunehmen, da bei den vorhandenen 3,9 μmol offensichtlich nicht die maximale Umsatzrate erzielt wurde.

4.1.1. Organischer Kohlenstoff als Elektronendonator und Regulationsfaktor der Denitrifikation in der suboxischen Wassersäule von Station T

An Station T war der Bereich in der Wassersäule, in dem aufgrund der angetroffenen Sauerstoff- und Nitratkonzentrationen Denitrifikation ausgehend von Nitrat zu erwarten gewesen wäre (100-163 m), wesentlich größer als der Bereich, in dem tatsächlich Denitrifikation nachgewiesen werden konnte (155-163 m). Da die vorliegenden Sauerstoff- und Nitratkonzentrationen den Anforderungen der Denitrifikation entsprachen, lag die Frage nahe, ob der organische Kohlenstoff der Faktor war, der die Denitrifikation begrenzte (s. Kap. 3.4.).

Versuche mit Wasserproben aus der nicht denitrifizierenden, suboxischen Wasserschicht scheinen diese Annahme zu bestätigen. Die Wasserproben zeigten erst nach Zusatz von Acetat oder Glucose nach 8-tägiger Inkubationszeit Denitrifikation. Ohne C-Zusatz zeigten die Proben keinerlei Denitrifikation. Die langsame Reaktion der Wasserproben auf den C-Zusatz - die vorliegenden Stickoxide, sowie NH_4^+ zeigten keine Veränderung während der ersten 4 Tage der Inkubation - deutet daraufhin, daß die vorliegende Bakterienbiozönose nicht an die schnelle Verwertung von organischem Kohlenstoff angepaßt war, zumindest nicht unter Nutzung von Nitrat als Elektronenakzeptor. Eine mögliche Ursache für das Vorliegen einer solchen Bakterienbiozönose könnte die geringe Verfügbarkeit von organischem Kohlenstoff sein. In diese Richtung deuten auch die Untersuchungen zur Verwertung des partikulären organischen Materials (POC). Während einer 100-tägigen Inkubation wurde der POC nur um 4,1 $\mu\text{g/l}$ von 60,6 auf 56,5 $\mu\text{g/l}$ C reduziert. Dies entspräche einem Sauerstoffzehrungspotential durch POC-Abbau von 0,34 $\mu\text{mol O}_2/\text{l}$. Daß die Versorgung mit organischem Kohlenstoff in den Wasserschichten unterhalb der Halokline im Jahresdurchschnitt sehr niedrig ist, geht aus den Berechnungen von Rahm (1987) hervor. Danach verringert sich zwischen 106 und 140 m Tiefe im Jahresmittel der Sauerstoffverbrauch durch Abbau von organischem Kohlenstoff von 0,069 auf 0,017 $\mu\text{mol/l} \times \text{d}$. Da die Versorgung mit organischem Kohlenstoff kein kontinuierlicher Prozeß ist, sondern in erster Linie mit der Sedimentation der Phytoplanktonblüten, insbesondere der Frühjahrsblüte einhergeht, muß mit einer großen Schwankungsbreite um diese Werte im Jahresverlauf gerechnet werden. Dies würde bedeuten, daß Bakterienbiozönosen in diesem Teil der Wassersäule über längere Zeiträume mit sehr geringen Mengen an verfügbarem organischem Kohlenstoff auskommen müssen. Als Hinweis auf eine heterotroph sehr inaktive, oder zumindest sehr langsam wachsende Biozönose, könnte die sehr geringe Anzahl der aeroben Saprophyten, sowie deren sehr geringer Anteil an der Gesamtbakterienzahlin diesem Teil der Wassersäule gewertet werden. Noch niedriger war hier die Anzahl der nitratreduzierenden, heterotrophen Bakterien.

Aufgrund der vorliegenden Betrachtungen ist davon auszugehen, daß in den sedimentferneren Wasserschichten der verfügbare organische Kohlenstoff die Denitrifikation ausgehend von Nitrat, sowie das Vorliegen der hierfür erforderlichen denitrifizierenden Bakterienbiozönose begrenzte. Der sedimentnahe Bereich könnte aufgrund von Einträgen aus dem Sediment (z.B. Sedimentresuspension, Diffusion von gelöstem organischen Material) mit organischem Material angereichert worden sein, so daß Denitrifikation ausgehend von Nitrat hier ablaufen konnte.

4.1.1.1. O₂-Respiration und N₂O-Reduktion statt Denitrifikation von Nitrit und Nitrat als energetisch günstigere Version der Nutzung begrenzter Mengen an organischem Material?

Wie schon unter 4.1.1. dargelegt, handelt es sich bei dem suboxischen Tiefenwasser an Station T um eine Wassersäule, die zumindest im sedimentferneren Teil (100-150 m Tiefe) nur sehr geringe Einträge an organischem Kohlenstoff erhalten haben dürfte. Dieser suboxische Bereich ($< 0,22 \text{ ml/l O}_2 = 10 \text{ umol/l}$) wies sehr hohe Konzentrationen an N₂O (200 bis 300 nmol N/l) auf, die bei 12-tägiger Inkubation der Wasserproben ohne Azetylenzusatz mit einer Rate bis zu $8 \text{ nmol/l} \times \text{d}$ gezehrt wurden. Da es Wasserproben aus diesem Bereich der Wassersäule waren, die keine in situ-Denitrifikation aufwiesen und die oben dargelegte sehr verzögerte Reaktion hinsichtlich der Denitrifikation nach Elektronendonatorzusatz zeigten, könnte davon ausgegangen werden, daß dieser Teil der Wassersäule keine aktiv denitrifizierende Bakterienbiozönose aufwies. Die sehr geringe Anzahl der heterotrophen Denitrifikanten schien dies weiterhin zu belegen.

Es stellt sich daher die Frage, wie sich eine Bakterienbiozönose zusammensetzt, die einerseits für die N₂O-Reduktion verantwortlich, andererseits aber nicht in der Lage war, mit rascher Nitratreduktion auf den C-Zusatz zu reagieren. Aufgrund der geringen Menge an verfügbarem organischen Kohlenstoff, könnten aerobe, langsamwachsende heterotrophe Bakterien, sowie solche, die N₂O als Elektronenakzeptor verwenden, den NO₃-nutzenden Denitrifikanten überlegen gewesen sein. Die aerob wachsenden Bakterien haben gegenüber den denitrifizierenden den Vorteil der höheren Energieausbeute pro mol oxidiertem organischen Kohlenstoff: Boogerd et al. (1984) berechneten für *Paracoccus denitrificans*, daß Denitrifikation nur 70 - 74% der Energieausbeute lieferte, verglichen mit der aeroben Atmung. Für *Pseudomonas denitrificans* lieferte Denitrifikation eine noch niedrigere Ausbeute von nur 42 - 58% (Koike und Hattori 1975). Bei einem Vergleich der Energieausbeute von strikt aeroben zu denitrifizierenden Organismen dürfte sich dieser Unterschied noch weiter vergrößern. Für die Wassersäule errechneten Liu und Kaplan (1984), daß die Energieausbeute bei der Nutzung des organischen Kohlenstoffs durch die Denitrifikation nur 25 - 50% der Ausbeute durch aerobe Atmung beträgt. Ein weiterer wichtiger Faktor für die Überlegenheit der aeroben, ist ihr breiteres Nutzungsspektrum für den in der Wassersäule vorliegenden organischen Kohlenstoff. Jahnke et al. (1982) gehen nach Modellberechnungen davon aus, daß in Sedimenten des Pazifik nur 30% des organischen Kohlenstoffs, der für aerobe Atmung genutzt werden kann, für Denitrifikation genutzt wird; für Sedimente des Atlantiks wird dieser Anteil mit 13% noch niedriger eingeschätzt.

Diese Betrachtungen deuten an, daß bei Vorliegen von geringen Mengen verwertbaren organischen Kohlenstoffs, aerobe Organismen denitrifizierenden überlegen wären. In diese Richtung deuten auch die von Tiedje (1988) referierten Beobachtungen in Böden: die Anzahl der denitrifizierenden Mikroorganismen zeigte stets eine starke Abhängigkeit von dem Gehalt an organischem Kohlenstoff; weder der Sauerstoffpartialdruck, noch die Nitratkonzentration schienen einen annähernd große Bedeutung zu haben.

Daß Bakterien in der Lage sind, Sauerstoff noch bei sehr niedrigen Konzentrationen zu nutzen, zeigen die Untersuchungen von Devol (1978). Er bestimmte bei mehreren Stämmen, isoliert aus dem saisonal anoxischen Fjord, Saanich Inlet (B.C.), sowie aus den sauerstoffarmen Bereichen des östlichen tropischen Nordpazifik, die Sauerstoffkonzentration, bei der ein Absinken der Sauerstoffumsatzrate (= critical oxygen concentration = COC)

eintrat, sowie die Halbsättigungskonstante (k_s) für O_2 . Der COC-Wert lag bei den Fjord-Isolaten im Mittel bei 3,0 $\mu\text{mol/l } O_2$, der k_s -Wert bei 1,5 $\mu\text{mol/l } O_2$. Die Isolate aus dem offenen Ozean wiesen mit einem mittleren COC-Wert von 2,0 $\mu\text{mol/l } O_2$, und einem k_s -Wert von 0,6 $\mu\text{mol/l } O_2$ eine noch höhere Affinität zum Sauerstoff und bessere Nutzungsmöglichkeiten von niedrigen Sauerstoffkonzentrationen auf. Für das suboxische Tiefenwasser von Station T mit O_2 -Konzentrationen zwischen 0,22 - 0,09 ml/l (= 9,8 - 4,0 $\mu\text{mol/l } O_2$) ist daher anzunehmen, daß die vorliegende Bakterienbiozönose noch in der Lage war, mit aerober Atmung organischen Kohlenstoff zu verwerten.

Denitrifikanten zeigen je nach Art und Stamm ein recht breites Spektrum an Sauerstoffkonzentrationen, bei denen sie von aerober Atmung auf Denitrifikation umschalten. Ozretich (1976) konnte bei der Untersuchung von marinen denitrifizierenden Stämmen aus verschiedenen Gattungen zeigen, daß bei Erreichen des COC-Werts die Denitrifikation einsetzte. Diese Sauerstoffkonzentration war typisch für jeden untersuchten Stamm und lag im Bereich von 0,25 bis 9,9 $\mu\text{mol/l } O_2$.

Es stellt sich nun die Frage, ob die beobachtete N_2O -Zehrung durch aerob den organischen Kohlenstoff verwertende Bakterien erfolgte, die gleichzeitig N_2O reduzierten, oder ob die N_2O -reduzierenden Bakterien nicht zur Nutzung von Sauerstoff befähigt waren. Im Hinblick auf die Konkurrenzfähigkeit der N_2O -reduzierenden Bakterien um den limitierten organischen Kohlenstoff stellt sich weiterhin die Frage, ob N_2O einen thermodynamisch gesehen günstigeren Elektronenakzeptor als NO_2^- und NO_3^- darstellt, so daß es bei gegebener Kohlenstoffknappheit günstiger wäre, N_2O zu nutzen statt NO_3^- , und ob andererseits, unter gegebenen geringen Sauerstoffkonzentrationen und hohen N_2O -Konzentrationen, N_2O als Elektronenakzeptor ähnlich günstig wie O_2 sein könnte.

Thauer et al. (1977) haben auf der Basis von H_2 als Elektronendonator, die Änderung der freien Energie ΔG° bei Einsatz der verschiedenen Stickoxide als Elektronenakzeptor berechnet. Bezieht man die Energieänderungen auf die dabei verwertete Menge an Elektronendonatoren (hier = H_2 -Moleküle), so wird deutlich, daß N_2O -Reduktion unter gegebener Elektronendonatorlimitierung energetisch am günstigsten ist. Wie aus Tabelle 6 ersichtlich ist, wird bei der Reduktion von NO_3^- und NO_2^- weniger als halb so viel Energie pro verwertetes H_2 -Molekül freigesetzt. Auch Ferguson (1988) weist auf das günstige Redoxpotential bei dem Redoxpaar N_2O/N_2 ($E^\circ = +1,1 \text{ V}$) hin, das sogar günstiger ist als bei dem Redoxpaar O_2/H_2O ($E^\circ = +0,8 \text{ V}$), und bei weitem das Redoxpaar NO_3^-/NO_2^- ($E^\circ = +0,42 \text{ V}$) übertrifft. Daß dennoch bis jetzt keine höheren Energieausbeuten bei Bakterien für N_2O -Reduktion, als für NO_3^- -Reduktion bekannt sind, führt er darauf zurück, daß N_2O zum einen sehr inert ist, und zum anderen aufgrund der normalerweise sehr geringen N_2O -Konzentration ein ungünstiges Konzentrationsverhältnis für das Redoxpaar N_2O/N_2 vorliegt.

Gegründet auf die Thermodynamik geht Delwiche (1978) davon, daß es bei C-Limitation unter anaeroben Verhältnissen günstiger ist, Nitrat vollständig zu N_2 zu reduzieren, statt N_2O als Endprodukt der Denitrifikation auszuschleiden. Nach den thermodynamischen Berechnungen könnte angenommen werden, daß im Falle von nicht vollständig anaeroben Verhältnissen, N_2O , NO und O_2 bevorzugt vor NO_3^- und NO_2^- genutzt werden sollte. Die normalerweise in der Biosphäre zu geringen Konzentrationen an NO und N_2O mögen hierfür oft eine Limitierung darstellen. Wird aber N_2O durch andere Prozesse bereitgestellt, so mag die N_2O -Reduktion als Denitrifikationsprozeß durchaus Bedeutung erlangen. Codispoti und Christensen (1985) weisen auf eine möglicherweise bedeutsame Rolle dieses Prozesses insbesondere im N_2O -Kreislauf für den östlichen tropischen Südpazifik hin.

Tabelle 6:

Änderungen der freien Energie (ΔG°) bei Reduktion von verschiedenen Stickstoffoxiden (modifiziert nach Thauer et al. 1977)

Substrate	Produkte	ΔG° (kcal)	
		pro mol H ₂	pro mol N
NO ₃ ⁻ + H ₂	NO ₂ ⁻ + H ₂ O	- 39,0	- 39,0
NO ₂ ⁻ + 1/2 H ₂ + H ⁺	NO + H ₂ O	- 35,1	- 17,5
2 NO + H ₂	N ₂ O + H ₂ O	- 73,2	- 36,6
N ₂ O + H ₂	N ₂ + H ₂ O	- 81,6	- 40,8
2 NO ₃ ⁻ + 2 H ⁺ + 5 H ₂	N ₂ + 6 H ₂ O	- 53,6	- 133,9
Zum Vergleich:			
O ₂ + 2H ₂	2 H ₂ O	- 56,7	
Nach Delwiche (1978) für pH 7 errechnet:			
2 NO ₃ ⁻ + 2 H ⁺ + 5 H ₂	N ₂ + 6 H ₂ O	- 53,6	- 134,1
2 NO ₃ ⁻ + 2 H ⁺ + 4 H ₂	N ₂ O + 5 H ₂ O	- 46,7	- 93,4
Nitratammonifikation zum Vergleich:			
NO ₃ ⁻ + 4 H ₂ + 2 H ⁺	NH ₄ ⁺ + 3 H ₂ O	- 37,3	- 149,0

Wie aus der Gegenüberstellung von Energieausbeute und Verbrauch an Elektronendonator bzw. -akzeptor deutlich wird, ist die bevorzugte Nutzung der stärker reduzierten Stickoxide insbesondere für kohlenstoffarme Biotope relevant. Liegt ausreichend organischer Kohlenstoff vor, und liegt die Limitierung auf Seiten der Stickstoffoxide, so ist die Energieausbeute pro mol reduziertes N von Bedeutung. Diese ist ähnlich für alle Stickstoffoxide, mit Ausnahme des Nitrit. In kohlenstoffreicher Umgebung stellt daher die bevorzugte Nutzung des Nitrats keinen energetischen Nachteil dar. Die von Rönner und Sørensen (1985) beschriebene Akkumulation von Nitrit und N₂O unter sauerstoffarmen Bedingungen mag durch eine C-reiche Wassersäule begründet sein. Die N₂O-Produktion durch Denitrifikanten wird noch detaillierter im Kapitel 4.3. diskutiert.

Von der Thermodynamik her betrachtet, wäre es aufgrund der geringen Menge an verfügbarem organischen Kohlenstoff (=Elektronendonator) also durchaus günstig, die N₂O-Reduktion der NO₃⁻- und NO₂⁻-Reduktion vorzuziehen. Ob die Bakterien letztlich in der Lage sind, diese Energieunterschiede zu nutzen, kann nur aufgrund der vorgefundenen Situation - N₂O vor NO₃⁻-Nutzung in der sedimentfernen Wasserschicht - hypothetisiert werden. Als Unterstützung der Hypothese könnte gewertet werden, daß bei *P. perfectomarinus* die N₂O-Reduktase durch Sauerstoff wesentlich geringer gehemmt wird, als die NO₃⁻-Reduktase (Payne et al. 1971). Auch Hernandez und Rowe (1987) konnten zeigen, daß bei *P. aeruginosa* Sauerstoff mit ansteigender Konzentration zuerst die Nitrataufnahme hemmt, während die Reduktasen inklusive der N₂O-Reduktase bei dieser Konzentration noch unbeeinflusst bleiben. Solche Regulationsmechanismen könnten als Hinweise gewertet werden, daß einige Bakterien in der Lage sind, die höhere Energieausbeute bei Reduktion der reduzierteren Stickstoffoxide auszunutzen.

4.1.2. Regulationsfaktoren der Denitrifikation im Gotlandtief

Wie in Kapitel 3.1. und 3.4. dargelegt, beschränkte sich der Bereich der in situ-Denitrifikation auf die oxisch-anoxische Grenzfläche. Der Bereich eines Denitrifikationspotentials nach Nitratzugabe erstreckte sich hingegen auf das gesamte H_2S -haltige Tiefenwasser. Oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht konnte keine Denitrifikation detektiert werden.

4.1.2.1. Mangel an organischem Kohlenstoff als Ursache für die Beschränkung der Denitrifikation auf die oxisch-anoxische Grenzschicht

Die Begrenzung der Denitrifikation auf die H_2S -haltige Wasserschicht scheint ursächlich mit der geringen Versorgung der Wassersäule mit organischem Kohlenstoff verknüpft zu sein, wie es auch schon für diesen Bereich der Wassersäule bei Station T dargelegt worden war (vgl. Kap. 4.1.1.1.). Hinweise hierauf ergeben sich aus den Untersuchungen von inkubierten Wasserproben in Bezug auf Sauerstoffverbrauch, POC-Abbau und Denitrifikationsraten. Die Wasserproben von oberhalb der oxisch-anoxischen Grenzschicht, zeigten auch bei bis zu 12-tägiger Inkubation keine Denitrifikation. Die POC-Abbauversuche weisen darauf hin, daß der vorliegende verwertbare POC nicht einmal ausreichend war, um die Sauerstoffkonzentration auf der Denitrifikation adäquate Konzentrationen zu senken. Sowohl die errechnete Sauerstoffzehrung durch Nitrifikation und POC-Abbau, als auch der Biologische Sauerstoffbedarf (BOD_7) deuten darauf hin, daß noch bevor die entsprechend niedrigen O_2 -Konzentrationen erreicht wurden, der POC schon durch aerobe Umsetzung aufgebraucht worden war. Dies entspricht auch den Stickstoffumsetzungen bei der 100-tägigen Inkubation der Wasserproben nach Nitratzugabe: hier konnte keine Nutzung von Nitrat als Elektronenakzeptor detektiert werden. Die ausgeführten Messungen und Berechnungen liefern das übereinstimmende Bild, daß die verwertbare Menge an organischem Kohlenstoff nur aerob umgesetzt wurde, nicht aber mehr zur Denitrifikation ausreichte.

4.1.2.2. Oxidierbare Schwefelverbindungen als wesentliche Elektronendonatoren für die Denitrifikation an der oxisch-anoxischen Grenzschicht: Implikationen für die Bakterienbiozönose

Im H_2S -haltigen Teil der Wassersäule schien die Verfügbarkeit an Elektronendonatoren für die Denitrifikation parallel zu den vorliegenden H_2S -Konzentrationen anzusteigen. Im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht mit situ-Denitrifikation konnte noch keine Steigerung der Denitrifikationsraten durch Nitratzusatz erzielt werden. Dies änderte sich mit Anstieg der H_2S -Konzentrationen. Das bedeutet, daß man - beginnend vom Oberrand der oxisch-anoxischen Grenzschicht - von einer Limitierung durch den Elektronendonator, zu einer Limitierung durch den Elektronenakzeptor in den darunterliegenden Wasserschichten mit höheren H_2S -Konzentrationen gelangt. Diese starke Konkruenz der H_2S -Konzentration zum Elektronendonatorpotential für die Denitrifikation, gab Anstoß zu der Hypothese, daß reduzierte Schwefelverbindungen aus dem anoxischen Tiefenwasser wichtige Elektronendonatoren für die Denitrifikation in der oxisch-anoxischen Grenzschicht darstellen könnten.

Daß die vorliegende denitrifizierende Bakterienbiozönose in der Lage war, Thiosulfat und H_2S sehr schnell für die Denitrifikation zu verwerten, konnte durch Substratzugabeversuche belegt werden. Bei Vorliegen von Thiosulfat oder H_2S als Substrat konnte während der Denitrifikation auch eine deutliche Zunahme der Gesamtbakterienzahl bei etwa

gleichbleibendem mittleren Zellvolumen verzeichnet werden. Dies könnte als Hinweis auf die Anwesenheit von chemolithoautotroph denitrifizierende Bakterien gewertet werden. Bakterien mit den physiologischen Eigenschaften von *Thiobacillus denitrificans* würden diesen Anforderungen entsprechen. Die Beschränkung der Denitrifikation auf H_2S -haltige Wasserproben könnte als Hinweis für die Bedeutung eines chemolithoautotrophen Denitrifikationsmechanismus gewertet werden. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, daß auch eine heterotrophe Begleitflora an der Denitrifikation beteiligt war.

Als Anhaltspunkt für eine heterotrophe Begleitflora könnte der Anstieg von aeroben und anaeroben Saprophyten gewertet werden, der stets im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht verzeichnet werden konnte. Auch die Anzahl der heterotrophen Denitrifikanten stieg hier deutlich an.

Die autotrophe Mikroflora könnte durch Abgabe von organischem Kohlenstoff an die Umgebung eine heterotrophe Begleitflora unterhalten haben. Kuenen und Veldkamp (1972) erhielten bei Anreicherungsversuchen im Chemostaten mit marinen Sedimenten, denen Thiosulfat oder H_2S als Substrat zugesetzt worden war, obligat autotrophe Organismen als Primärbesiedler, und - unter denitrifizierenden Bedingungen - heterotrophe als Sekundärflora. Da im Chemostaten keine Bakterienlyse vorkommen dürfte, könnten es die Exsudate der autotrophen gewesen sein, die die heterotrophe Begleitflora ermöglicht hatten. Daß chemolithoautotrophe Thiobacillen unter bestimmten Umständen, z.B. unter Einfluß von Streßfaktoren wie erhöhte Sauerstoffkonzentrationen, bis zu 27 % ihrer Biomasseproduktion als Exsudate ausscheiden, konnte von Cohen et al. (1979) und Beudeker et al. (1981) gezeigt werden.

Ein anderer Faktor, der eine erhöhte Freisetzung des autotroph fixierten Kohlenstoffs bedingen kann, ist Grazing durch Flagellaten (Güde 1989). Eine hohe Flagellatendichte im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht wurde von H. Kuosa und H. Galvao ermittelt (H.Galvao und K.Gocke, persönliche Mitteilung), so daß durchaus mit Grazingdruck auf die autotrophe Mikroflora gerechnet werden kann.

Für das Vorliegen von erhöhten Konzentrationen an gelösten Kohlenstoffverbindungen bakteriellen Ursprungs sprechen die erhöhten Aminosäurekonzentrationen und deren Zusammensetzung, die in einem engen Bereich direkt an der oxisch-anoxischen Grenzschicht im Gotlandbecken im Mai 1979 von Mopper und Lindroth (1982) ausgemacht werden konnten.

Weitere Anhaltspunkte für eine heterotrophe Begleitflora ergeben sich aus der Reaktion der Wasserproben auf die Zugabe von organischem Kohlenstoff. Bei der Untersuchung der Denitrifikation in grenzschichtnahen Wasserproben wurden neben H_2S und Thiosulfat, auch Acetat und eine Mischung von Acetat und H_2S als Elektronendonator zugesetzt. Bei allen Ansätzen waren die zugesetzten reduzierten Schwefelverbindungen nach 2-tägiger Inkubationszeit nicht mehr nachweisbar, d.h. sie dürften mit und ohne Anwesenheit von Acetat sofort als Elektronendonator genutzt worden sein. Die Denitrifikation war bei Zusatz von Thiosulfat mit Abstand am schnellsten, gefolgt von der mit H_2S . Aber auch die Denitrifikation mit Acetat und der Mischung von Acetat und H_2S zeigte hohe Umatzraten innerhalb von 2 Tagen. Dies war wesentlich schneller als die Denitrifikation nach Acetatzusatz in Wasserproben aus der suboxischen Schicht von Station T. Bei jedem Elektronendonatorzusatz war nach 2-tägiger Inkubation der grenzschichtnahen Wasserproben mindestens 5 $\mu\text{mol N}$ denitrifiziert worden, wogegen bei den suboxischen Wasserproben von

Station T erst nach 8-tägiger Inkubation Denitrifikation feststellbar war. Diese Versuche deuten ebenfalls darauf hin, daß neben einem chemolithoautotrophen Potential noch ein aktives, heterotrophes Potential in der angetroffenen Biozönose vorgelegen hatte. Daß dieses Potential sehr rasch für die Denitrifikation genutzt werden konnte, wird durch diese Versuche belegt.

Ein großes heterotrophes sowie autotrophes Potential der Grenzschichtbiozönose verdeutlichen auch die Untersuchungen von Gocke (1989) im Gotlandtief in den Sommer 1986 und 1988. Gocke konnte sehr hohe CO_2 -Dunkelfixierungsraten bei Proben aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht des Gotlandtiefs nachweisen. In derselben Zone verzeichnete er einen starken Anstieg der Acetatumsatzrate sowie der maximalen Aufnahme. Die Glucoseaufnahme zeigte 1986 nur einen geringfügigen Anstieg im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht. 1988 entsprach dieser Anstieg jedoch dem der Acetataufnahme. Die Probenahmen 1986 erfolgten zur gleichen Zeit wie die hier vorliegenden Untersuchungen zur Denitrifikation.

Nun erhebt sich die Frage, welche Art von Mikroorganismen, für die nachgewiesenen heterotrophen und autotrophen Aktivitäten verantwortlich waren, und ob diese wesentlich an der Denitrifikation beteiligt waren.

Die nachgewiesenen Aktivitäten könnten sowohl von einer Mischung von autotrophen und heterotrophen Bakterien, als auch von mixotrophen Mikroorganismen herrühren. Ein mixotropher Organismus, wie *Thiosphaera pantotropa* (Robertson und Kuenen 1983) wäre in der Lage alle gemessenen Kohlenstoff- und Schwefelumsetzungen durchzuführen. Dieser Organismus kann gleichzeitig Denitrifikation und Sauerstoffatmung durchführen. Eine gemischte Biozönose wäre unter Aufteilung der Umsetzungen auf verschiedene Bakterienarten zu demselben Gesamtumsatz in der Lage.

4.1.2.3. Mögliche Rolle von obligat autotrophen Mikroorganismen bei der Denitrifikation und Oxidation der reduzierten Schwefelverbindungen in der oxisch-anoxischen Grenzschicht

Nach den Untersuchungen über die Konkurrenzfähigkeit autotropher und mixotropher Thiobacillen sowie heterotropher Bakterien von Gottschal und Kuenen (1980), sollte die vorwiegend umzusetzende Energiequelle den schließlich überlegenen Stoffwechseltyp bestimmen. Wenn das Angebot an anorganischer Energiequelle sehr viel größer ist, als das an organischen Kohlenstoff, sollte der obligat chemolithoautotrophe Typ dominieren, ist das Verhältnis umgekehrt, so sollte der heterotrophe Typ bevorteilt sein. Die ökologische Nische für mixotrophe Bakterien wäre dann gegeben, wenn beide Energiequellen in der gleichen Größenordnung vorliegen.

Im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht des Gotlandtiefs, dürfte während eines Großteil des Jahres, sehr viel mehr Energie durch reduzierte Schwefelverbindungen bereitstehen, als durch organischen Kohlenstoff. Wie schon dargelegt, dürfte die Versorgung mit organischem Kohlenstoff aus der euphotischen Schicht in der Wassersäule unterhalb der Halokline nur sehr geringfügig sein. Etwas anders mag die Situation im Frühsommer sein, wenn die Sedimentation der Frühjahrsblüte eine erhöhte Versorgung der Wassersäule mit partikulärem organischen Kohlenstoff bewirkt (Stigebrandt und Wulff 1987). Die Selektionsbedingungen an der oxisch-anoxischen Grenzschicht sollten während der meisten

Zeit des Jahres aufgrund eines hohen H_2S : C_{org} -Verhältnisses zugunsten von obligat autotrophen Bakterien ausfallen.

Nach diesen Untersuchungen von Gottschal und Kuenen (1980) wäre anzunehmen, daß obligat autotrophe Mikroorganismen die Grenzschichtbiozönose dominieren. Da die heterotrophen Keimzahlen und die Untersuchungen von Gocke (1989) auf heterotrophe Aktivitäten zusätzlich zu den autotrophen hinweisen, ist anzunehmen, daß diese von der heterotrophen Begleitflora herrühren. Das Vorhandensein von mixotrophen Organismen ist bei den gegebenen Bedingungen nach den Untersuchungen von Gottschal und Kuenen eher unwahrscheinlich.

Es stellt sich nun die Frage, welche Organismen als obligat autotrophe für einen Großteil der Oxidation der reduzierten Schwefelverbindungen verantwortlich waren. Ein Selektionsvorteil wäre u. a. die Fähigkeit, sowohl Sauerstoff, als auch Nitrat als Elektronenakzeptor benutzen zu können, so daß neben einer effektiven Elektronendonatornutzung, auch eine optimale Akzeptornutzung im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht erfolgen kann. Die geforderten Eigenschaften entsprechen der Physiologie von *Thiobacillus denitrificans*. Dieser Organismus konnte allerdings trotz Verwendung des dafür geeigneten Mediums (Baalsrud und Baalsrud 1954) nicht isoliert werden.

Aus den vorliegenden Untersuchungen kann allerdings eine Reihe von Hinweisen auf das mögliche Vorkommen von *Thiobacillus denitrificans* extrahiert werden:

- Bei der Azetylenblockmethode ist eine Aufhebung der Hemmwirkung in Anwesenheit von schon sehr geringen H_2S -Konzentrationen bekannt (Sörensen et al. 1987). Diese Aufhebung war bei Böden, marinen Sedimenten und denitrifizierenden Pseudomonaden relevant. *Thiobacillus denitrificans* war hingegen nicht in der Lage bei gleichzeitiger Anwesenheit von Azetylen und H_2S N_2O zu reduzieren (Tam und Knowles 1979). Dies entspricht den Beobachtungen bei der Anwendung der Azetylenblockmethode bei Wasserproben aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht und dem anoxischen Tiefenwasser. Sowohl die in den Wasserproben vorhandenen H_2S -Konzentrationen (bis 60 $\mu\text{mol/l}$), als auch die zugesetzten (bis 50 $\mu\text{mol/l}$) schienen keine Aufhebung des Azetylenblocks zu bewirken.

- *Thiobacillus denitrificans* zeigte bei Zusatz von Sulfid als Elektronendonator nur halb so hohe Umsatzraten unter denitrifizierenden Bedingungen, wie bei Thiosulfat (Aleem 1975). Dies entspricht in etwa den Beobachtungen nach Zugabe von Thiosulfat und Sulfid zu grenzschichtnahen Wasserproben. Die sehr schnelle Umsetzung von Thiosulfat mag auch ein Grund dafür sein, daß im Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht keine Anreicherung von Thiosulfat nachgewiesen werden konnte, wie es an der Grenzschicht im Cariaco Trench festgestellt wurde (Tuttle und Jannasch 1973).

Weiterhin weist *T. denitrificans* einige Eigenschaften auf, die ihn für eine Nutzung der reduzierten Schwefelverbindungen, sowohl unter aeroben, als auch anaeroben Bedingungen sehr geeignet scheinen lassen.

- Die Nitratreduktase dieses Organismus kann schon bei höheren O_2 -Konzentrationen synthetisiert werden. Aktiv wird sie dann erst unterhalb von 0,27 $\text{ml/l } O_2$ (Tiedje 1988). Das bedeutet, daß der Organismus schon während der aeroben Oxidation von reduzierten Schwefelverbindungen das Potential zur Denitrifikation aufbauen kann. Ist der Sauerstoffgehalt dann entsprechend verringert, kann ohne Verzögerung die Umschaltung auf

die Denitrifikation erfolgen. Nach Timmer-ten Hoor (1976) sind oxisch-anoxische Grenzschichten die ideale ökologische Nische von *T. denitrificans*

- Er dürfte Selektionsvorteile gegenüber anderen Thiobacillen haben, weil er als einziger zur vollständigen Denitrifikation bei autotrophen Wachstum in der Lage ist, und zudem seine Bereitstellung von Reduktionsäquivalenten energetisch günstiger verläuft als bei anderen Thiobacillen (Kuenen und Beudecker 1982).

4.1.2.4. Grenzschichtinterne autotrophe Produktion als Hauptkohlenstoffquelle für die heterotrophen Umsetzungen in der oxisch-anoxischen Grenzschicht

Entsprechend den Überlegungen, daß der Hauptenergieumsatz durch die autotrophe Oxidation von reduzierten Schwefelverbindungen abläuft, ist anzunehmen, daß die beobachteten heterotrophen Aktivitäten in erster Linie durch die Freisetzung von organischem Material aus der autotrophen Produktion gespeist werden. Da über die kontinuierliche autotrophe Produktion der permanente Unterhalt einer aktiven heterotrophen Mikroflora ermöglicht wird, kann auch die sporadische Versorgung mit organischem Material, wie es der Partikelfluß aus der euphotischen Schicht in einem Großteil des Jahres darstellt, effektiv und schnell genutzt werden. Dies zeigte der schnelle Response der Grenzschichtbiozönose auf die Zugabe von Acetat. Ein weiterer Beleg hierfür ist die hohe Acetat- und zeitweilig auch hohe Glucoseumsatzrate, die Gocke (1989) feststellen konnte.

4.2. Nitrifikation und ihre möglichen Beiträge zur Denitrifikation in der zentralen Ostsee

Die Nitrifikation spielt sowohl unter dem Aspekt der Nitratlieferung für die Denitrifikation, als auch durch die N_2O -Produktion eine wichtige Rolle für den Stickstoffhaushalt der zentralen Ostsee.

4.2.1. Nitrifikation als Nitratlieferant der Denitrifikation

Nitrifikation in der Wassersäule der zentralen Ostsee wurde im Sommer '86 und '87 in der gesamten oxischen Wassersäule zwischen euphotischer und H_2S -haltiger Wasserschicht verzeichnet. In der euphotischen Schicht dürfte in erster Linie das Licht der bedeutendste Hemmfaktor der Nitrifikation gewesen sein (Olson 1980). Weiterhin dürften auch die geringen NH_4^+ -Konzentrationen, sowie die Konkurrenz um die NH_4^+ -Aufnahme mit dem Phytoplankton und der vorliegenden Bakterienbiozönose die Aktivität der Nitrifikanten in der euphotischen Schicht unterdrückt haben. In der H_2S -haltigen Schicht, die im oberen Bereich oft noch geringe Mengen an Sauerstoff enthielt, könnte die Hemmung der Nitrifikation durch das Vorliegen von H_2S bedingt gewesen sein. Wie Sma und Baggeley (1975) zeigen konnten, können schon geringe Konzentrationen von H_2S die Ammonium- und Nitritoxidation unterdrücken. Die Ammoniumoxidation wurde dabei von geringeren H_2S -Konzentrationen ($> 0,9 \mu\text{mol/l}$) vollkommen gehemmt, als die Nitritoxidation ($> 3 \mu\text{mol/l}$).

Wie die Regression der Sauerstoffkonzentration gegen die Summe von Nitrat + Nitrit zeigt (Abb.59), lagen die höchsten Konzentrationen an nitrifiziertem Stickstoff in der sauerstoffarmen Wasserschicht unterhalb der Halokline vor. In den 90%-Vertrauensbereich dieser Regression konnten alle in der zentralen Ostsee ermittelten Daten untergebracht werden, bis auf diejenigen, die von H_2S -haltigen Wasserproben stammten. Dieser Verlauf der Regression kann als Hinweis auf die Bedeutung des sauerstoffarmen Bereiches der

Wassersäule für die Nitrifikation gewertet werden. Auch bei den Untersuchungen von Enoksson (1986) wurden die höchsten Nitrifikationsraten in den sauerstoffarmen Zonen der zentralen Ostsee verzeichnet. Da die höchsten Raten in denjenigen Proben gemessen wurden, die von allen, zur Untersuchung herangezogenen Proben, die niedrigsten Sauerstoffkonzentrationen aufwiesen, ist nicht auszuschließen, daß bei noch geringeren O_2 -Konzentrationen eventuell noch höhere Umsatzraten vorlagen (Minimalwert von 0,4 ml/l O_2 ergab die höchste gemessene Nitrifikationsrate von 0,3 $\mu\text{mol/l} \times \text{d}$). Dies wird noch unterstrichen durch den eindeutig gegenläufigen Trend, den Sauerstoffkonzentration und Nitrifikationsrate bei einer ihrer Untersuchungsstationen zeigten.

Der beobachtete Anstieg der Nitrifikationsraten bei erniedrigten Sauerstoffkonzentrationen entspricht der Physiologie einiger mariner Nitrifikanten. Carlucci und McNally (1969) verzeichneten einen Anstieg der Ammonium- und Nitritoxidationsraten mit sinkenden Sauerstoffkonzentrationen. Auch die CO_2 -Assimilation zeigte stets eindeutig diesen Trend. Die Nitrifikation erfolgte noch bei O_2 -Konzentrationen unter 0,1 ml/l. Die niedrigste Konzentration, bei der Nitrifikation noch meßbar war, lag bei 0,05 ml/l. Insbesondere die Wachstumsraten stiegen unter sauerstoffarmen Bedingungen deutlich an. Goreau et al. (1980) ermittelten bei *Nitrosomonas europaea* ein Optimum der Wachstumsrate bei 0,26 ml/l O_2 . Die halbmaximale Wachstumsrate wurde schon bei etwa 0,11 ml/l erreicht. Abeliovich (1987) konnte in Abwasserzisternen sehr niedrige O_2 -Optima von 0,14 ml/l für die NH_4^+ -Oxidation feststellen. Signifikante Nitrifikation war hierbei noch bis 0,035 ml/l O_2 meßbar.

Die Verteilungsstruktur der Nitrifikation - in der gesamten H_2S -freien oxischen Wassersäule unterhalb der euphotischen Schicht, mit höheren Umsatzraten in der sauerstoffarmen Wasserschicht - bedingt im Gotlandtief und an Station T eine etwas unterschiedliche Versorgung der Denitrifikation mit Nitrat.

An Station T lag die Denitrifikationszone im Bereich der Nitrifikationszone. Da noch niedrige Sauerstoffkonzentrationen und kein hemmendes H_2S vorkamen, konnte in dieser Schicht noch nitrifiziert werden. Das NH_4^+ für die Nitrifikation dürfte zum großen Teil aus dem Sediment angeliefert worden sein. Als Hinweis hierauf wird der ansteigende Konzentrationsgradient des NH_4^+ zum Sediment hin gewertet. Auch die Nitritkonzentration zeigte diesen Anstieg zum Sediment hin. Da bei Inkubationen nitrihaltiger Wasserproben aus dieser Schicht stets eine Abnahme der Nitrit- und eine Zunahme der Nitratkonzentration zu verzeichnen war, ist anzunehmen, daß auch das Nitrit in erster Linie im Sediment gebildet worden war, und in der Wassersäule zu Nitrat oxidiert wurde.

Im Gotlandtief dürfte das Nitrat in der H_2S -freien sauerstoffarmen Wasserschicht oberhalb der eigentlichen H_2S -haltigen Denitrifikationsschicht gebildet worden sein. Diffusion, turbulente Diffusion und eventuell noch stärkere Vermischungsprozesse, die H_2S und NO_3^- zusammenbringen, dürften daher treibende Kraft der Nitratlieferung und der Denitrifikation sein. Als Ammoniumquelle für die Nitrifikation dürfte in erster Linie das anoxische Tiefenwasser fungieren. Der starke Anstieg der Nitratkonzentration direkt über der anoxischen Wasserschicht wird als Hinweis darauf gewertet. Ein geringerer Teil des Ammoniiums dürfte durch Mineralisationsprozesse im oxischen Teil der Wassersäule bereitgestellt worden sein.

Die aufgrund der Änderungen der Nitrit- und Nitratkonzentrationen berechneten Nitrifikationsraten erscheinen zumindest in den ersten beiden Tagen der Inkubation mit 2-3 $\mu\text{mol N/l}$ als zu hoch. Sie liegen zwar damit in der Größenordnung von in Ästuaren und

Küstengewässern ermittelten Raten: McCarthy et al. (1983) ermittelten in der Chesapeake Bay Raten von 0,7 - 2,4 $\mu\text{mol N/lxd}$, Capone et al. (1990) in den Küstengewässern des Long Island Sound Raten von 1,8 - 7,2 $\mu\text{mol N/lxd}$. Verglichen mit den von Enoksson (1986) in der zentralen Ostsee erzielten Raten von 0,05 - 0,3 $\mu\text{mol N/lxd}$ erscheinen sie dennoch als zu hoch. Sie werden daher nicht als in situ-Raten, sondern als Nitrifikationspotential angesehen und im folgenden interpretiert.

4.2.2. Nitrifikation als N_2O -Produzent in der Wassersäule der zentralen Ostsee

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurden im sauerstoffarmen Wasser unterhalb der Halokline stets stark erhöhte N_2O -Konzentrationen angetroffen. Im Gotlandtief lagen die N_2O -Konzentrationen in dieser Wasserschicht (80-130 m) um 20 bis 350% höher als der atmosphärische Sättigungswert. Dies entsprach N_2O -Konzentrationen von 38 - 127 $\text{nmol N}_2\text{O-N/l}$. Rönner (1983) berichtete von einer Übersättigung von 150-200% in dieser Wasserschicht. In der suboxischen Wasserschicht von Station T wurden die höchsten N_2O -Konzentrationen mit 182 bis 300 $\text{nmol N}_2\text{O-N/l}$ ermittelt. Dies entsprach einer Übersättigung um 540 bis 950%.

Sowohl bei Rönner (1983), als auch bei den vorliegenden Untersuchungen war die sauerstoffarme Wasserschicht unterhalb der Halokline stets diejenige, die die höchsten Konzentrationen an N_2O aufwies. Oberhalb der Halokline lagen die N_2O -Konzentrationen stets in Nähe des atmosphärischen Sättigungswertes (94 - 140%). Im anoxischen Teil der Wassersäule war N_2O immer vollkommen aufgezehrt.

Dies spiegelt sich in einer Auftragung der N_2O -Konzentration gegen die Sauerstoffkonzentration wider. Der Kehrwert der N_2O -Konzentration war dabei proportional zur gegebenen Sauerstoffkonzentration (vgl. Abb.61). Diese Abhängigkeit war allerdings nur gegeben, wenn Daten von H_2S -haltigen Proben in der Berechnung unberücksichtigt blieben.

Ursache der erhöhten N_2O -Konzentrationen in der sauerstoffarmen Wasserschicht könnte die N_2O -Produktion durch Ammoniumoxidierer sein. Insbesondere bei niedrigen Sauerstoffkonzentrationen können Nitrifikanten bei der Oxidation von Ammonium und der Reduktion von Nitrit N_2O bilden (Ritchie und Nicholas 1972, Poth und Focht 1985). Da N_2O -Übersättigung stets in der Nitrifikationszone vorlag, die Denitrifikationszone im Gotlandtief hingegen immer Untersättigung (40-60%) aufwies, ist die Nitrifikation gegenüber der Denitrifikation als die weitaus wahrscheinlichere Ursache der N_2O -Produktion anzusehen. Unterstützt wird diese Annahme durch die sehr gute Korrelation der N_2O -Konzentrationen zur Summe von Nitrit plus Nitrat-Konzentrationen. Nach dieser linearen Regression wurden pro μmol oxidiertes Ammonium 20,1 $\text{nmol/l N}_2\text{O-N}$ produziert. Als weiterer Hinweis auf die N_2O -Produktion durch Nitrifizierer kann das Verhältnis von N_2O zu den Nitrifikationsprodukten NO_2^- und NO_3^- angesehen werden, das einen starken Anstieg mit abnehmender Sauerstoffkonzentration zeigte. Der Kehrwert des N_2O -Anteils war dabei proportional den Sauerstoffkonzentrationen (s. Abb.62a,b). Eine ähnliche Beziehung zwischen N_2O -Produktion und O_2 -Konzentration wurde von Jörgensen et al. (1984) für die Nitrifikation in marinen Küstensedimenten gefunden. Goreau et al. (1980) fanden bei Untersuchungen an einer marinen Nitrosomonas-Art, daß die N_2O -Produktion im Verhältnis zur NO_2^- -Produktion von 0,3 auf 10% anstieg, wenn die Sauerstoffkonzentration von 4,9 auf 0,13 ml/l abgesenkt wurde. In diesem Konzentrationsbereich war in der Wassersäule der zentralen Ostsee ein Anstieg von etwa 0,35 auf 2,5 % ermittelt worden. Da die Produktion des vorliegenden Nitrats zum Teil unter höheren Sauerstoffkonzentrationen erfolgt sein mußte, als die bei den

Untersuchungen angetroffenen, könnte von ähnlich hohen N_2O -Produktionsraten wie bei der unter suchten *Nitrosomonas*-Art bei den Nitrifikanten in der zentralen Ostsee ausgegangen werden. Außerdem können auch Diffusion und Zehrungsprozesse zu einer Verringerung der N_2O -Konzentration beitragen.

Sowohl die umgekehrte Abhängigkeit des N_2O -Anteils an den Nitrifikationsprodukten von der O_2 -Konzentration, als auch die gute Korrelation mit der Konzentration an nitrifiziertem Stickstoff unterstützen die Annahme, daß die Nitrifikation der wesentliche Produzent des N_2O war.

Delwiche (1981) berechnete die freie Energieänderung der N_2O -Produktion ausgehend von der Hypothese, daß N_2O ein Zwischenprodukt der Ammoniumoxidation darstellt. Nach diesen Berechnungen ist die N_2O -Produktion thermodynamisch ebenso günstig wie die NO_2^- -Produktion. Zudem sichert sie nach Delwiche's Hypothese den Ammoniumoxidierern einen Selektionsvorteil vor den Nitritoxidierern bei niedrigen Sauerstoffpartialdrücken, da N_2O von letzteren nicht mehr unter Sauerstoffverbrauch weiter oxidiert werden kann. Die Oxidation von NH_4^+ zu N_2O hätte insbesondere unter sauerstoffarmen Verhältnissen den Vorteil, daß bei identischer Energieausbeute für die Ammoniumoxidierer nur die halbe Menge O_2 verbraucht würde, wie bei der Oxidation von NH_4^+ zu NO_3^- .

Die Untersuchungsergebnisse und energetischen Überlegungen zeigen, daß den Nitrifikanten eine wesentliche Rolle als N_2O -Produzenten in der Wassersäule der zentralen Ostsee zukommt. Inwiefern noch andere Prozesse einen Beitrag zur N_2O -Produktion zu leisten vermögen, soll nun im folgenden Kapitel (4.3.) aufgezeigt werden.

4.3. N_2O -produzierende und zehrende Prozesse in der Wassersäule der zentralen Ostsee

Als dissimilative N_2O -produzierende Prozesse sind Denitrifikation, autotrophe (Ritchie und Nicholas 1972, Poth und Focht 1985) und heterotrophe Nitrifikation (Castignetti und Hollocher 1982) und die Nitratammonifikation (Smith 1982) bekannt. Als assimilative die Nitratreduktion der Bakterien (Bleakley and Tiedje 1982). Als N_2O -zehrender Prozess kommt die größte Bedeutung der Denitrifikation zu, von untergeordnetem Stellenwert wird die Stickstofffixierung durch Bakterien eingestuft (Kaplan und Wofsy 1985).

Bei den nun folgenden Betrachtungen sollen nur die Wasserschichten unterhalb der Thermokline beachtet werden, da oberhalb ein ständiger Austausch mit der Atmosphäre die Akkumulation oder Zehrung von N_2O durch biologische Prozesse weitgehend ausgleicht.

Für die aphotische Wasserschicht der zentralen Ostsee kommen als N_2O -produzierende Prozesse in erster Linie die autotrophe Nitrifikation und die Denitrifikation in Betracht. Die Nitratammonifikation stellte sich sowohl bei den Untersuchungen von Rönner und Sörensson (1985), als auch den hier vorliegenden Untersuchungen als unbedeutend für die Wassersäule der zentralen Ostsee dar. Die assimilative Nitratreduktion sollte aufgrund der vergleichsweise geringen Umsatzraten und dem geringen N_2O -Bildungspotential (Bleakley und Tiedje 1982) keine bedeutende Quelle für N_2O sein. Als N_2O -zehrender Prozess in der aphotischen Schicht kommt in erster Linie die Denitrifikation in Betracht.

Wie schon im Kapitel 4.2. über Nitrifikation dargelegt, dürfte die Nitrifikation einer der bedeutendsten N_2O -liefernden Prozesse in der Wassersäule des Gotlandtiefs und von Station

T gewesen sein. Die Denitrifikation wird aufgrund der Beobachtung, daß in denitrifizierenden Wasserschichten Untersättigung (Gotlandtief) vorlag, oder N_2O -Zehrungsaktivitäten gegenüber der Produktion zu dominieren schienen (Station T), als für die N_2O -Produktion von untergeordneter Bedeutung eingestuft. Auch Hahn und Junge (1977) kamen nach Analyse der derzeit weltweit vorliegenden Daten über N_2O in Ozeanen zu der Schlußfolgerung, daß Nitrifikation als Hauptquelle des N_2O anzusehen sei. Die Denitrifikation wurde von ihnen als der wesentlichste N_2O -Zehrungsprozeß eingestuft. Als N_2O -produzierender Prozeß wurde die Denitrifikation nicht ausgeschlossen, allerdings als von untergeordneter Bedeutung betrachtet. Rönner (1983) ordnete der Nitrifikation die bedeutendste Rolle bei der N_2O -Produktion in der aphotischen Schicht zu. Rönner und Sörensson (1985) sahen die Denitrifikation neben der Nitrifikation als wesentliche Quelle für N_2O in der zentralen Ostsee an.

4.3.1. Quantität des verwertbaren organischen Kohlenstoffs als Einflußgröße für die N_2O -Produktion durch die Denitrifikation

Es stellt sich daher die Frage, unter welchen Umständen die Denitrifikation als Quelle für N_2O fungieren kann. Rönner (1983) sieht das Vorliegen von Sauerstoff als wesentlicher Faktor für die N_2O -Produktion an. Als Ursache hierfür wird die bei manchen Denitrifikanten verzeichnete stärkere Sauerstoffhemmung der späten Reduktasen verglichen mit den früheren angeführt (vgl. Knowles 1982). Dies gilt jedoch nicht für alle Denitrifikanten. So berichten Payne et al. (1971) von *Pseudomonas perfectomarinus*, daß Sauerstoff zwar die Nitratreduktase, nicht jedoch die N_2O -Reduktase behinderte. Nach Delwiche (1978) ist es bei Limitierung der Denitrifikation durch den Elektronendonator - in der Wassersäule in der Regel der organische Kohlenstoff - energetisch günstiger die Stickstoffoxide bis zum N_2 als nur bis N_2O zu reduzieren. Dies beruht darauf, daß insbesondere die N_2O -Reduktion thermodynamisch wesentlich günstiger ist, als die Reduktion von NO_2^- und NO_3^- (s. 4.2.1.). Die Menge an verfügbarem organischen Kohlenstoff sollte daher einen wesentlichen Einfluß auf N_2O -Produktion und Zehrung durch Denitrifikation haben, d.h. bei guter Versorgung mit organischem Kohlenstoff ist mit Produktion von N_2O als Endprodukt der Denitrifikation zu rechnen, bei geringer Versorgung ist eher von einer vollständigen Denitrifikation zu N_2 auszugehen, eventuell sogar von einer bevorzugten Nutzung von N_2O als Elektronenakzeptor (vgl. Station T, Kap. 3.4.3.3.). Geht man davon aus, daß die Verfügbarkeit an organischem Material ein wichtiger Selektionsfaktor für die Bakterienbiozönose ist, so erscheint es plausibel, daß bei guter C-Versorgung Bakterien mit der energetisch ungünstigeren N_2O -Akkumulation vorkommen, während bei schlechterer Versorgung diejenigen, die N_2O reduzieren, überlegen sind. Der Sauerstoff mag als sekundärer Steuerungsfaktor nach dem organischen Kohlenstoff insofern eine Rolle spielen, als nur bei Sauerstoffanwesenheit und gleichzeitiger günstiger Versorgung mit organischem Kohlenstoff N_2O bei der Denitrifikation akkumuliert wird. Bei geringer Verfügbarkeit von organischem Kohlenstoff dürfte hingegen die aerobe Verwertung unter Nutzung des Restsauerstoffs aufgrund der höheren Energieausbeute überlegen sein.

4.3.2. Qualität des Elektronendonators als Einflußgröße für die N_2O -Produktion durch Denitrifikation

Bei der Verfolgung der Denitrifikation nach Zusatz verschiedener Elektronendonatoren zeigte sich in Abhängigkeit vom Elektronendonator eine unterschiedliche N_2O -Produktion. Diese Beobachtungen wurden bei Versuchen ohne Azetylenzusatz gemacht. Die untersuchten Proben stammten aus dem Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht und dem anoxischen Tiefenwasser des Gotlandtiefs, sowie aus der suboxischen Wasserschicht von Station T. Als

Elektronendonatoren lagen Acetat, Glucose, Thiosulfat, H_2S oder H_2S plus Acetat vor. Zur Normierung der N_2O -Produktion wurde diese auf die gleichzeitig in den Proben verzeichnete Nitratreduktion bezogen. Die so normierte N_2O -Produktion zeigte keine Abhängigkeit von der Probenherkunft, dafür einen deutlichen Bezug zum vorliegenden Elektronendonator (vgl. Kap.3.2)

Den verschiedenen Elektronendonatoren konnte eine z.T. recht enge Wertespanne für die N_2O -Produktion zugeordnet werden. Bei Anwesenheit von H_2S + Acetat trat stets die höchste N_2O -Produktion, und auch die größte Wertespanne auf. Keine N_2O -Produktion, sowie vollständiges Aufzehren von zuvor vorhandenem N_2O konnte stets bei Acetat als Elektronendonator festgestellt werden. Zwischen diesen beiden Extrema rangierten H_2S und Thiosulfat mit relativ niedriger N_2O -Produktion in folgender Reihenfolge:



Die unterschiedliche N_2O -Produktion in Abhängigkeit vom vorliegenden Elektronendonator könnte auf unterschiedliche Regulationsmechanismen zurückzuführen sein:

i) Zum einen dürften unterschiedliche Elektronendonatoren eine unterschiedlich fördernde Wirkung auf verschiedene Denitrifikantenarten haben, und damit in Richtung der an den jeweiligen Elektronendonator bestadaptierten Bakterienarten selektionieren. Die so selektionierten Arten zeigen dann in Anpassung an die herrschenden Bedingungen ihre artspezifische Reduktion von Nitrat. Daß verschiedene Arten unterschiedliche Mengenverhältnisse von NO_2^- , NO , N_2O und N_2 produzieren, konnten Munch und Ottow (1986) an zahlreichen Denitrifikanten verschiedener Gattungen und Arten aufzeigen. Auch die aus der zentralen Ostsee isolierten Denitrifikanten zeigten Art-, und z.T. auch Unterart-spezifische N_2O -Bildungsraten (I. Brettar und M. Höfle, Manuskript in Vorbereitung).

ii) Eine andere Ursache für die unterschiedliche N_2O -Produktion könnte eine unterschiedliche N_2O -Bildungsrate durch die vorliegende Bakterienbiozönose sein, als direkte Reaktion auf verschiedene Elektronendonatoren.

iii) Bei gleichzeitigem Vorliegen von H_2S und Acetat könnte auch eine Hemmwirkung von einer der beiden Komponenten auf die Denitrifikation ausgehen. Von einer Hemmung der NO - und N_2O -Reduktasen durch H_2S berichten Sørensen et al. (1980, 1987) bei *Pseudomonas fluorescens*, und Tam und Knowles (1979) bei *Pseudomonas aeruginosa*. Sørensen et al. (1980) schreiben die beobachtete Akkumulation von NO und N_2O in marinen Sedimenten (Sørensen 1978) einer Blockierung der Denitrifikation durch H_2S zu. Da in den vorliegenden Untersuchungen H_2S nur dann eine Hemmung der N_2O -Reduktase bewirkte, wenn gleichzeitig Acetat vorlag, dürfte es die heterotrophe Denitrifikation sein, die durch das H_2S und eventuell auch Oxidationsprodukte des H_2S beeinträchtigt wird. Da in küstennahen Sedimenten mit höheren Konzentrationen an organischem Material gerechnet werden kann, als im Tiefenwasser der zentralen Ostsee, könnte die von Sørensen (1978) beobachtete NO - und N_2O -Akkumulation im Sediment auf eine Hemmung der heterotrophen Denitrifikation durch reduzierte Schwefelverbindungen zurückzuführen sein. Die autotrophe Denitrifikation mit H_2S als Elektronendonator scheint nach diesen Untersuchungen nicht für die Akkumulation verantwortlich zu sein.

Aufgrund der N_2O -Produktionsskala für verschiedene Elektronendonatoren, wurden der N_2O -Produktionsrate in Wasserproben aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht des

Gotlandtiefs die dabei verwerteten Elektronendonatoren zugeordnet. Danach war nach 2-tägiger Inkubation H_2S der wesentliche Elektronendonator, nach 4-tägiger Inkubation Thiosulfat. Ohne weitere Untersuchungen wird diese Zuordnung allerdings noch nicht als aussagekräftig eingestuft. Wesentliche Punkte, die hierzu noch abgeklärt werden müßten, wären i) wie sich unterschiedliche NO_3^- - und ii) unterschiedliche Elektronendonator-konzentrationen auswirken, und iii) welchen Einfluß hierbei das Verhältnis von Akzeptor- zu Donatorkonzentration hat.

4.3.3. Rolle der Denitrifikation bei der N_2O -Produktion und Zehrung

Bei den hier vorliegenden Untersuchungen ist der Denitrifikation in erster Linie eine wesentliche Rolle bei N_2O -Reduktion zuzurechnen. Für die N_2O -Produktion dürfte ihre Bedeutung gegenüber der Nitrifikation vernachlässigbar gewesen sein.

Die N_2O -Produktion durch Denitrifikation scheint in enger Abhängigkeit von Quantität und Qualität des Elektronendonators zu stehen. Eine gute Versorgung mit Elektronendonator erlaubt anscheinend eher die thermodynamisch ungünstigere Denitrifikation von NO_3^- zu N_2O , als ein schlechtes Elektronendonatorangebot. In letzterem Fall sollte die thermodynamisch günstigere N_2O -Reduktion bevorzugt genutzt werden. Auch die Art des zur Verfügung stehenden Elektronendonators scheint einen Einfluß auf die N_2O -Produktion zu haben. Inwiefern sich eine anfängliche N_2O -Produktion als N_2O -Anreicherung im Ökosystem schließlich auswirkt, oder durch nachgeschaltete Zehrungsprozesse aufgehoben wird, dürfte selber wiederum in Abhängigkeit von der weiteren Versorgung mit Elektronendonatoren stehen.

Der einzige Ort in der Wassersäule, bei dem N_2O -Produktion durch Denitrifikation bei den vorliegenden Untersuchungen zu erwarten wäre, wäre die oxisch-anoxische Grenzschicht des Gotlandtiefs. Entsprechend dem N_2O -Bildungspotential, das gegeben ist, wenn Schwefelwasserstoff und Thiosulfat als Elektronendonator genutzt werden, wäre die Produktion von geringeren Mengen N_2O zu erwarten gewesen, was in den inkubierten Wasserproben auch auftrat. Daß in der oxisch-anoxischen Grenzschicht kein N_2O akkumuliert worden war, wie die Untersättigung in diesem Bereich zeigte, könnte durch nachgeschaltete Reduktionsprozesse bedingt gewesen sein.

4.4. Vorstellung über die Interaktion von Partikelfluß, Mineralisation, Nitrifikation und Denitrifikation in der Wassersäule der zentralen Ostsee (Eine Skizzierung für die Umsetzungen im Gotlandtief ist in Abb.66 wiedergegeben.)

Die Mineralisation des in der euphotischen Schicht produzierten organischen Materials erfolgt zum größten Teil, in der oxischen Wasserschicht bis in den Bereich der Halokline. Nach den Vorstellungen Rönners (1983a) wirkt die Halokline aufgrund des Dichtegradienten wie eine Art "Zwischenboden", in dem sich die Sinkgeschwindigkeit der Partikel verlangsamt und es im folgenden zur Akkumulation von Partikel und verstärkten Abbauaktivitäten kommt. In der Wassersäule unterhalb der Halokline liegt nur noch sehr wenig abbaubares organisches Material aus der euphotischen Schicht vor ("Wasserhumus" nach Ehrhardt (1969), Rahm (1987)). Eine weitere Zone verstärkter Mineralisation ist das Sediment und/oder die Sediment-Wasser-Grenzschicht. Hier wird sedimentiertes organisches Material unter Nutzung der jeweils gegebenen Elektronenakzeptoren mikrobiell abgebaut. Die Wassersäule zwischen Halokline und Sediment dürfte mit zunehmender Tiefe und damit zunehmendem Abstand von

Sediment und Halokline an organischem Material verarmen. Aufgrund des Anstiegs der Ammonium-, Schwefelwasserstoff- und Sauerstoffkonzentrationen zum Sediment hin in der Wassersäule des Gotlandtiefs, ist anzunehmen, daß für die Versorgung der Wassersäule unterhalb der Halokline das Sediment eine größere Bedeutung hatte, als der Partikelfluß aus der euphotischen Schicht.

Die verstärkte Mineralisation in der euphotischen Schicht bewirkt zwar eine entsprechend stärkere Sauerstoffzehrung. Aufgrund der winterlichen Vertikalzirkulation bis in den Bereich der Halokline (70 m) kommt es hier aber zu einer regelmäßigen Anreicherung mit atmosphärischem Sauerstoff, die ein stärkeres Absinken der Sauerstoffkonzentration in der Wassersäule oberhalb der Halokline verhindert. Unterhalb der Halokline erfolgt eine Wassererneuerung nur noch durch horizontalen Wasseraustausch. Da dieser Austausch ein sehr unregelmäßiges und seltenes Ereignis ist, kann es nach längeren Stagnationsperioden zu sauerstoffarmen bis -freien Verhältnissen in der Wassersäule kommen. Ein Großteil der Sauerstoffzehrung dürfte dabei von der Mineralisation von sedimentiertem organischem Material herrühren. Der Eintrag von Ammonium und H_2S aus dem Sediment in die Wassersäule dürfte zumindest im Gotlandtief der Hauptfaktor für die Sauerstoffoxidation in der subhaloklinen Wassersäule gewesen sein.

Die Nitrifikation zeigte entsprechend den Mineralisationsschwerpunkten Maxima im Bereich der Halokline und im sauerstoffarmen Tiefenwasser. Dabei dürfte im Bereich der Halokline das Ammonium in erster Linie durch die hier ebenfalls verstärkt stattfindende Mineralisation gebildet werden. Für das sauerstoffarme Tiefenwasser dürfte das Sediment die Hauptquelle des Ammoniums sein. Herrschen anoxische Verhältnisse in Sedimentnähe, so erfolgt in diesem Bereich der Wassersäule eine Akkumulation des Ammoniums. Der Transportweg zur Nitrifikationsschicht und damit der Akkumulationsbereich vergrößert sich daher mit zunehmender Ausdehnung der anoxischen Wasserschicht.

Der Mangel an verfügbaren Elektronendonatoren in der sauerstoffarmen subhaloklinen Wasserschicht schien verantwortlich für eine Beschränkung der Denitrifikation auf "energiereiche" Grenzschichten: im Gotlandtief war die Denitrifikation auf die oxisch-anoxische Grenzschicht beschränkt, an Station T auf die sedimentnahe Wasserschicht. In beiden Fällen dürfte es in erster Linie das sedimentierte organische Material gewesen sein, das im Wesentlichen den Elektronendonator für die Denitrifikation zur Verfügung gestellt hatte. Dabei war an Station T das organische Material direkt für die Denitrifikation zugänglich, im Gotlandtief fungierte H_2S als Vektor für die von dem organischen Material abgeleiteten Reduktionsäquivalente. Das sedimentierte organische Material wurde am Boden des Gotlandtiefs unter Sulfatreduktion mineralisiert, das H_2S diffundierte zur oxisch-anoxischen Grenzfläche und diente so als Elektronendonator der Denitrifikation.

Die Denitrifikation im Gotlandtief war ein Prozeß, der auf die oxisch-anoxische Grenzschicht beschränkt war, auf genau den Bereich, in dem H_2S und NO_3^- gleichzeitig vorlagen. Die Vermischung dieser beiden Komponenten aus dem oxischen und anoxischen Teil der Wassersäule dürfte daher ein wesentlicher steuernder Faktor der Denitrifikationsrate sein. Vermischungsprozesse an der oxisch-anoxischen Grenzfläche liefern nach den Modellierungen von Anderson (1984) auch das Ammonium für die Nitrifikation. Dies wurde auch von Hashimoto et al. (1983) für die oxisch-anoxische Grenzfläche im Cariaco Trench berichtet.

Ein weiterer Denitrifikationsmechanismus, der ebenfalls im Zusammenhang mit einer stark

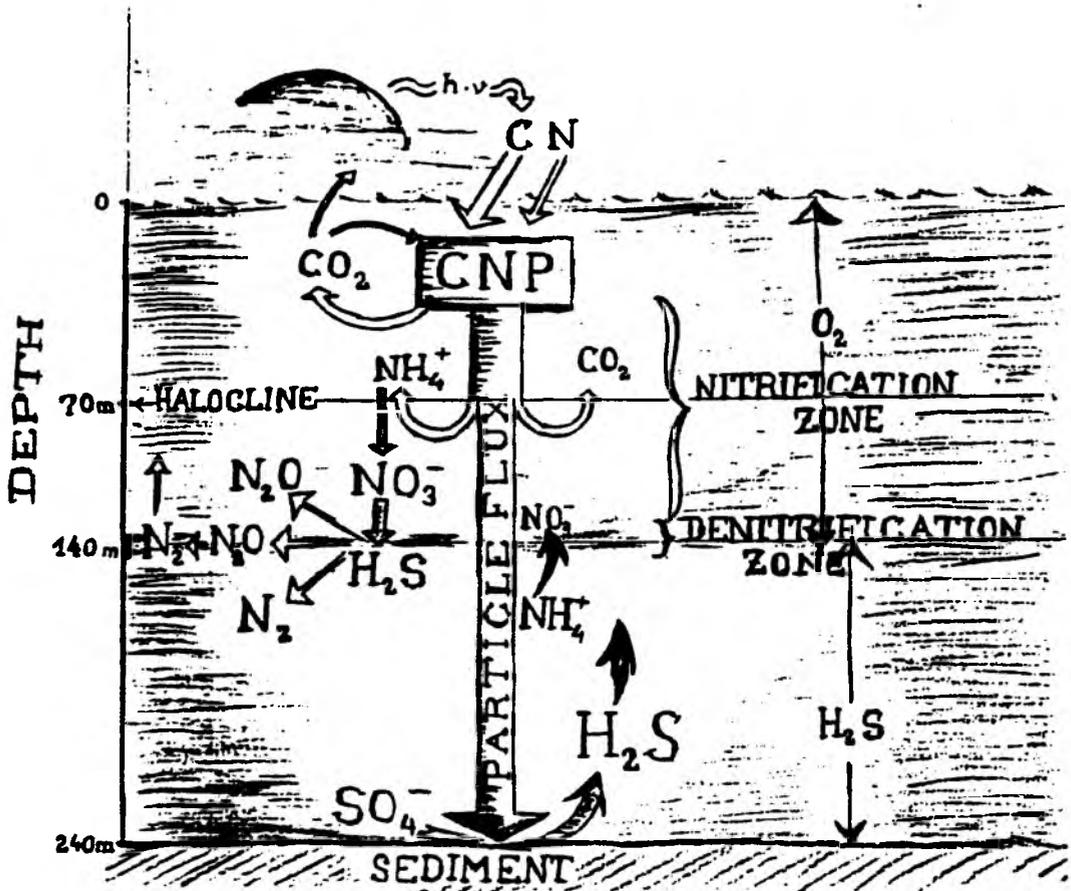


Abb.66:

Schematische Vorstellung über Stofffluß und Denitrifikation an der oxisch-anoxischen Grenzschicht im Gotlandtief: Als Elektronendonator wird H_2S aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht geliefert, als Elektronenakzeptor NO_3^- aus der sauerstoffarmen Wasserschicht. NH_4^+ für die Nitrifikation wird ebenfalls aus der anoxischen Schicht geliefert.

eingeschränkten Kohlenstoffversorgung stehen dürfte, wurde in der suboxischen, sedimentfernen Wassersäule von Station T angetroffen: die Reduktion von zuvor durch die Nitrifikation gebildetem N_2O . Dieser Mechanismus ist sehr günstig für Mangelsituationen an organischem Kohlenstoff, da nur für die energetisch sehr günstige Reduktion von N_2O organischer Kohlenstoff benötigt wird. Aufgrund der sehr geringen Umsatzraten pro Volumeneinheit, dürfte er allerdings nur dann einen bedeutenden Beitrag zur Stickstoffeliminierung beisteuern, wenn er in sehr großen Bereichen aktiv ist.

Im Gotlandtief war die oxisch-anoxische Grenzfläche in der Wassersäule der einzige Ort der Denitrifikation. An Station T dürfte die Wassersäule einen relativ unbedeutenden Anteil zur Denitrifikation geleistet haben, verglichen mit der *Sedimentdenitrifikation*. Nitrat lag hier noch in Sedimentnähe vor. Da am Sediment mit einer höheren Versorgung mit organischem Material zu rechnen ist, sind hier sehr viel höhere Denitrifikationsraten als in der Wassersäule zu erwarten.

4.5. Umsatzleistung der Denitrifikation in Wassersäule und Sediment der zentralen Ostsee: ein Vergleich der verschiedenen Denitrifikationsmechanismen, sowie der Messungen verschiedener Autoren.

In der Wassersäule der zentralen Ostsee konnten 3 verschiedene Denitrifikationsmechanismen festgestellt werden: die Denitrifikation ausgehend von NO_3^- , sowie die Reduktion von durch die Nitrifikation gebildetem N_2O (Nitrifikations-Denitrifikations-Kopplung) werden durch organischen Kohlenstoff angetrieben. Bei der " H_2S -Denitrifikation" an der oxisch-anoxischen Grenzschicht dürften dagegen vorwiegend reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren fungieren. Die Denitrifikationsleistung pro Volumeneinheit Probenwasser war bei den verschiedenen Mechanismen sehr unterschiedlich, mit den höchsten Umsetzungen bei der " H_2S -Denitrifikation" und den niedrigsten bei der N_2O -Reduktion. Für die Stickstoffeliminierung im Ökosystem ist es allerdings letztlich entscheidend, welche volumenmäßige Ausbreitung den verschiedenen Mechanismen in der Wassersäule zukommt.

Für Station T und das Gotlandtief wurden die gemessenen Raten auf die Stickstoffeliminierungsrate pro m^2 hochgerechnet. Für das Gotlandtief wurden die in der Grenzschicht gemessenen Denitrifikationsraten auf eine Ausdehnung von 10 m Wassersäule berechnet. Dies entspricht in etwa der Überlappungszone von H_2S und NO_3^- in der Grenzschicht bei Vergleich aller Tiefenprofile von 1986 und 1987. An Station T wurden den Meßwerten jeweils Bereiche der Wassersäule zugeordnet, die hinsichtlich der Verteilung der gelösten Stickstoffverbindungen und Sauerstoffkonzentrationen relativ ähnlich waren. Die ermittelten Denitrifikationsraten multipliziert mit dem zugeordneten Ausschnitt der Wassersäule wurden als die jeweilige Denitrifikationsleistung pro m^2 in Tabelle 7. aufgeführt. Zum Vergleich werden die von Rönner und Sörensson (1985) ermittelten Denitrifikationsleistungen im westlichen Teil der zentralen Ostsee aufgeführt. Shaffer und Rönner (1984) ermittelten mit Hilfe von Modellberechnungen die Denitrifikationsleistung von Wassersäule und Sediment in der zentralen Ostsee. Diese Raten liegen in Bezug auf die Wassersäule um etwa den Faktor 5 niedriger, als die Messungen von Rönner und Sörensson (1985).

Um eine Größenordnung für den Bedarf an organischem Kohlenstoff (C_{org}) durch die Denitrifikation zu erhalten, wurde dieser in Tabelle 7. mit aufgeführt. Für die Denitrifikation

von 1 mol NO_3^- zu N_2 wurde dabei $5/4$ mol organischer Kohlenstoff, bei Denitrifikation zu N_2O wurde 1 mol C_{org} berechnet. Der N_2O -Reduktion zu N_2 wurde entsprechend die Oxidation von nur $1/2$ mol C_{org} zugerechnet ($=1/4$ mol C pro mol N-Umsatz) (vgl. Liu und Kaplan 1984). Für Raten, die mit der Azetylenblockmethode bestimmt wurden, bei der die Reduktion nur bis zu N_2O erfolgt, wurde der Kohlenstoffbedarf sowohl für die Reduktion zu N_2O als auch N_2 angegeben.

Die letztendliche Bedeutung der verschiedenen Denitrifikationsmechanismen für die Stickstoffeliminierung im Ökosystem entspricht dem Produkt aus Umsatzraten pro Volumeneinheit mal der volumenmäßigen Ausdehnung. So erreichte die N_2O -Reduktion aufgrund ihrer größeren volumenmäßigen Verbreitung die Umsatzleistung der Denitrifikation in der sedimentnahen Wassersäule. Die H_2S -Denitrifikation dürfte in Abhängigkeit von den Vermischungsprozessen an der oxisch-anoxischen Grenzfläche eine noch wesentlich breitere Spanne an Umsatzleistung abdecken, als die in den beiden Meßperioden ermittelte Spanne. Summiert man die Gesamtdenitrifikationsleistung in der Wassersäule von Station T, so erreicht diese den 1987 für die oxisch-anoxische Grenzschicht des Gotlandtiefs ermittelten Umsatz.

Sowohl Ausbreitung, als auch Raten der Denitrifikation waren bei den Untersuchungen 1986 und 1987 wesentlich geringer, als bei den 1980 von Rönner und Sörensson (1985) durchgeführten Untersuchungen. Entsprechend den von diesen ermittelten sehr hohen Umsatzraten und volumenmäßiger Ausdehnung der Denitrifikation wären dafür bis zu $1,4 \text{ g C m}^{-2}\text{d}^{-1}$ erforderlich gewesen. Bei einer jährlichen Primärproduktion von 148 g bis $160 \text{ g C m}^{-2}\text{yr}^{-1}$ (Elmgren 1989, Ackefors und Lindahl 1979) würde die Denitrifikation einen beachtlichen Teil der Primärproduktion für derart hohe Umsatzraten benötigen.

Um den Faktor 5 niedriger lagen die Denitrifikationsraten die von Shaffer und Rönner (1984) anhand eines Modells errechnet wurden. In diesem Modell wurde das Verhältnis von Nitratproduktion zu Verbrauch als Funktion der Salinität dargestellt. Als denitrifizierte Stickstoffmenge wurde die Differenz zwischen gemessener ($\text{NO}_3^-_{\text{obs}}$) und erwarteter NO_3^- -Konzentration ($\text{NO}_3^-_{\text{exp}}$) angesehen. Mit Unsicherheiten behaftet ist dabei die Abschätzung der erwarteten NO_3^- Menge. Diese wurde aus dem Sauerstoffverbrauch ($\text{AOU}=\text{apparent oxygen utilization}$) in der Wassersäule entsprechend Richard's Modell (1965) in der Abwandlung von Gundersen und Mountain (1973) berechnet, wonach einem Sauerstoffverbrauch von $8,4 \text{ mol O}_2$ die Produktion von 1 mol NO_3^- zugeordnet wird ($k = 8.4$). NH_4^+ -Akkumulation in der anoxischen Wassersäule und Sauerstoffoxidation durch H_2S wurden dabei unberücksichtigt gelassen, mit der Begründung, daß dies quantitativ für die zentrale Ostsee nicht von Bedeutung sei. Der nach diesen Berechnungen ermittelte C-Eintrag in die Wassersäule aus der euphotischen Schicht liegt mit $85 - 90 \text{ g C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ wesentlich höher als die von Elmgren (1984) ermittelten $48 \text{ g C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ und die von Rahm berechneten $50 \text{ g C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$. Aufgrund dieses Vergleiches und der beobachteten Kohlenstofflimitation der Denitrifikation sollte nicht ausgeschlossen werden, daß die von Shaffer und Rönner in der berechneten Raten immer noch zu hoch gegriffen sind. Die errechneten Raten pro Liter liegen Größenordnung der 1986 und 1987 an der oxisch-anoxischen Grenzschicht ermittelten, wobei aufgrund des geringeren Reaktionsraumes der Denitrifikation, sich für die Gesamtleistung wesentliche Abweichungen ergeben.

Tab. 7:

Denitrifikation in der zentralen Ostsee: Raten, C-Bedarf, Ausdehnung und Mechanismen

1. Stat.	2. Periode	3. Mechan.	4. e-don.	5. limit. Factor	6. 1)Tiefe 2)Ext. (m)	7. Denitr.Rate (a)nmol 1-1d-1) (b)mmol m-2d-1)	8. Meth.	9. Corg (mg C m-2d-1)
a) Daten aus der vorliegenden Arbeit:								
Gotl.	16.8.'86	H2S- denitr.	H2S	don.	1)135-145 2) 10m	110	1,1	C2H2 (1)16,5) 2)13,2
Gotl.	30.7.'87	"	"	"	1)125-135 2)10m	44	0,44	" (1)6,6) 2)5,3
T	19.8.'86	Den. NO3	Corg	don.	1)150-163 2)13m	14	0,18	" (1)3,1) 2)2,5
T	"	N2O- Red.	Corg	don.	1)95-135 2)40m	2	0,08	N2O- 3)0,24 abn.
T	"	"	"	"	1)135-150 2)15m	8	0,12	N2O- 3)0,36 abn.
b) Daten von Rönner and Sörensson (1985):								
BY31	24.5- 14.6.80	Den. NO3	Corg	acc.	1)100-440 2)340	264 (250- 300)	90,0	C2H2 1)1350 (2)1080)
BY38	"	"	"	"	1)70-108 2)38	80 (10- 200)	3,0	" 1)45,6 (2)36,5)
c) Raten nach den Modellberechnungen von Shaffer and Rönner (1984):								
Baltic im proper	im Jahresmittel				Sediment		1,79	NO3- 1)26,8 cons.
"	"				Wassersäule	36	"	"
d) zum Vergleich: Sauerstoffverbrauch in verschiedenen Tiefen nach Rahm (1987)								
Baltic proper	Daten von 1957-1982		S (‰)	Tiefe (m)	O ₂ -Verbrauch (nmol l ⁻¹ d ⁻¹)			Corg mg C m ⁻² d ⁻¹
			9	85	138			62
			10	106	69			31
			11	140	17			14

Legende zu Tab.7:

- 1.) Station: Gotl. = Gotlandtief (BY15)
T = Station T
- 2.) Zeitperiode der Untersuchung
- 3.) Denitrifikations- "Mechanismus":
H₂S-denitr. = Denitrifikation mit H₂S als Electronendonator
Den. NO₃⁻ = Denitrifikation mit organischem Kohlenstoff, ausgehend von NO₃⁻ oder NO₂⁻
N₂O-red. = N₂O-Reduktion beobachtet als N₂O-Abnahme ohne Azetylenanwesenheit
4. Vorwiegend genutzter Elektronendonator:
H₂S = H₂S und/oder andere reduzierte Schwefelverbindungen
Corg = Organischer Kohlenstoff
5. Limitierender Faktor der Denitrifikation:
don. = Electronendonator
acc. = Elektronenakzeptor
6. Tiefe (1) and geschätzte Ausdehnung (= ext.=(2)) der Denitrifikationsschicht
7. Denitrifikationsraten a) pro Liter und Tag
b) pro m² und Tag
8. Methode zur Quantifizierung der Denitrifikationsrate:
C₂H₂ = Azetylenblockmethode
N₂O-abn. = Beobachtung der N₂O-Abnahme in Proben ohne Azetylen
NO₃⁻-cons. = NO₃⁻-Konservierungsmethode nach Shaffer and Rönner (1984).
9. Bedarf an organischem Kohlenstoff (Corg) für die ermittelte Denitrifikation in der gesamten Denitrifikationsschicht
1) = C-Bedarf für Denitrifikation von NO₃⁻ zu N₂
2) = " " " " " " " " N₂O
3) = " " " " " " " " N₂O zu N₂
2) wurde nur berechnet, wenn die Denitrifikationsrate mit der Azetylenblockmethode bestimmt wurde.

Bei der Ermittlung der Denitrifikationsraten mit der Azetylenblockmethode wurde der Kohlenstoffbedarf sowohl bei Reduktion bis zu N₂O als auch bis zu N₂ angegeben. Da bei den Messungen 1986 und 1987 Elektronendonatorlimitierung herrschte, sollten die "N₂O-Werte" die bessere Annäherung darstellen. Rönner und Sörensson (1985) gehen bei ihren Untersuchungen von einer Elektronenakzeptorlimitierung aus, da Nitratzusatz zu einer bis zu 8-fachen Steigerung der Raten geführt hatte. In diesem Fall dürften die "N₂-Werte" die bessere Annäherung darstellen.

Die Sedimentdenitrifikation nach den Berechnungen von Shaffer und Rönner (1984) liegt in der Größenordnung einer aktiven Grenzschichtdenitrifikation, wie sie 1986 angetroffen wurde. Nach einem Vergleich der CO₂-Dunkelfixierung in der oxisch-anoxischen Grenzschicht über mehrere Jahren, waren die Umsatzraten 1986 ausnahmsweise hoch (Gocke 1989). Es wird deshalb davon ausgegangen, daß 1986 sehr starke Vermischungsprozesse den Messungen vorrausgegangen waren, und daß die Denitrifikationsraten 1986 am oberen Rand der Skala für Grenzschichtdenitrifikationsraten anzusiedeln sind. Die niedrigere Rate von 1987 wird daher als repräsentativer eingestuft. Vergleicht man man diese mit der Sedimentdenitrifikation, so liegt die Grenzschichtdenitrifikation um den Faktor 4 niedriger.

4.5.1. Unterschiedliche Kohlenstoffversorgung im Frühjahr und Sommer als mögliche Ursache der saisonalen Schwankungen der Denitrifikationsraten

Da die Messungen in der vorliegenden Arbeit mit der gleichen Methode durchgeführt wurden, wie die Untersuchungen von Rönner und Sörensson (1985), ist primär davon auszugehen daß die ermittelten Raten verglichen werden können. Es stellt sich daher die Frage, welches die Gründe für derart unterschiedliche Ausdehnungen und Raten der Denitrifikation waren.

Rönner und Sörensson (1985) berichten von einer nitratlimitierten Denitrifikation in der Wassersäule. Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde eine kohlenstofflimitierte Denitrifikation angetroffen. Es ist daher wahrscheinlich, daß die unterschiedliche Versorgungslage mit organischem Kohlenstoff für die verschiedenen Raten verantwortlich war. Die Untersuchungen von Rönner und Sörensson (1985) im Frühjahr 1980 lagen in der Zeitspanne, in der die Wassersäule der zentralen Ostsee üblicherweise die höchste Anreicherung mit partikulärem Material aufweist. Dies ist bedingt durch das Absinken der Frühjahrsblüte, die eine wesentlich höhere Sedimentationsrate als die restlichen Planktonblüten des Jahres zeigen. Die Modellierungen von Stigebrandt und Wulff (1987) verdeutlichen den jahreszeitlichen Verlauf der Partikelanreicherung in der Wassersäule (vgl. Abb.65.). Hieraus geht hervor, daß nur eine kurze Zeitspanne Ende Frühjahr bis Frühsommer üblicherweise dieser Anreicherung unterliegt. Die meiste Zeit des Jahres liegen wesentlich niedrigere Konzentrationen an organischem Material in der Wassersäule vor, so auch im Hochsommer, was den Meßperioden 1986 und 1987 entspricht. Der Unterschied der Denitrifikationsraten im Sommer und Frühjahr kann daher durch die unterschiedliche Kohlenstoffversorgung bedingt gewesen sein. Da von einer kohlenstoffarmen Wassersäule für die meiste Zeit des Jahres ausgegangen werden kann, dürften die niedrigen Sommerraten eher repräsentativ für den Großteil des Jahres sein, als die hohen Frühjahrswerte. Dies würde bedeuten, daß die C-limitierte Denitrifikation in der Wassersäule für die zentrale Ostsee der Normalzustand wäre, die Nitratlimitierung nur die Frühjahrssituation repräsentiert.

Die oben aufgezeigten Verhältnisse in Bezug auf Kohlenstoffversorgung und Denitrifikationsraten lassen sich mit folgenden Vorstellungen über die Denitrifikation im Verlauf des Jahres vereinbaren: Nach Absinken der Frühjahrsblüte kommt es zu einer starken Anreicherung der Wassersäule mit organischem Kohlenstoff und Stickstoff. Die nachfolgende Mineralisation und Nitrifikation trägt durch Sauerstoffzehrung und Nitratbereitstellung zur Denitrifikation bei, bei vorliegenden geringen Sauerstoffkonzentrationen kann der verfügbare Kohlenstoff unter entsprechend hohen Denitrifikationsraten mineralisiert werden. Zum Sommerbeginn dürfte der Großteil des organischen Kohlenstoffs mineralisiert, bzw. sedimentiert sein. In der Folgezeit dürfte die Wassersäule unterhalb der Halokline zunehmend an leichtabbaubarem organischen Material verarmen. Die Denitrifikationsraten dürften dadurch abnehmen, mikrobielle Kohlenstoffumsetzungen mit besserer Energieausbeute die Oberhand gewinnen (vgl. Kap. 4.1.1.1.). Die Denitrifikation wird infolgedessen auf "energiereiche" Grenzschichten wie oxisch-anoxische und Sediment-Wasser-Grenzschicht zurückgedrängt werden.

Wird durch hohe Sedimentationsraten im Frühjahr im Zusammenhang mit der Stagnationsdauer des Tiefenwassers H_2S im Sediment gebildet und in der Wassersäule angereichert, so wird die Denitrifikation aus dem Sediment in die Wassersäule an die

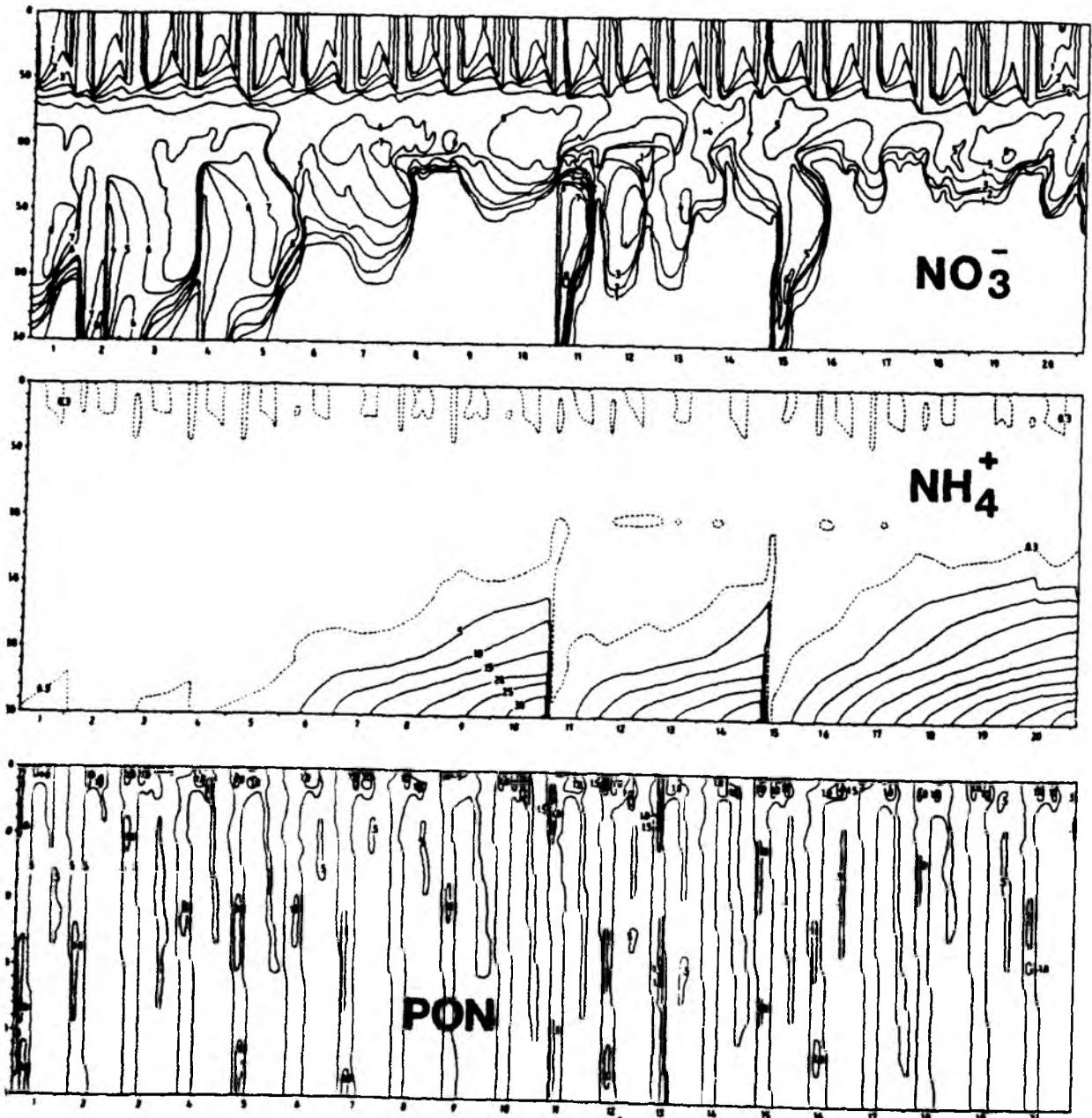


Abb.65:

Modellierung des Vorkommens von NO_3^- , NH_4^+ und partikulärem organischen Stickstoff (PON) (je $\mu\text{mol N/l}$) in der Wassersäule der zentralen Ostsee für einen Zeitraum von 20 Jahren, gerechnet ab 1987. Die PON-Modellierung zeigt deutlich die Anreicherung von organischem Stickstoff in der Wassersäule im Frühjahr und Frühsommer nach Absinken der Frühjahrsblüte. (aus: Stigebrandt und Wulff 1987)

oxisch-anoxische Grenzfläche verlagert. Wie die Akkumulation von mineralisiertem N im anoxischen Tiefenwasser und ein Vergleich der Denitrifikationsraten zeigte, dürfte dies letztlich zu einer Verringerung der Denitrifikationsleistung führen.

Dieses Szenario läßt erkennen, daß eine erhöhte Primärproduktion nicht unbedingt eine erhöhte Denitrifikation nach sich zieht. Je nach Sinkgeschwindigkeit und Abbaurate in der Wassersäule, kann das sedimentierende organische Material die Denitrifikation in der Wassersäule antreiben, oder aber eine Anreicherung der Sediments bedingen. Daß eine erhöhte Partikelfracht am Sediment auch geeignet ist, die Denitrifikation in die Wassersäule zu verlagern, und somit die Gesamtstickstoffeliminierung zu verringern, wurde schon oben dargestellt. Für die Eutrophierung der zentralen Ostsee mit Stickstoff würde dies bedeuten, daß die erhöhte Sedimentationsrate, die ihrerseits durch die erhöhte neue Produktion (Wassmann 1986) bedingt ist, auch dazu in der Lage sein kann, die Denitrifikation zu hemmen. Es ist daher nicht unbedingt davon auszugehen, daß die Denitrifikation parallel zur Eutrophierung ansteigt, und damit dieser entgegenwirkt. Auch eine antagonistische Wirkung sollte nicht ausgeschlossen werden.

Die Denitrifikationsleistung in der zentralen Ostsee ist von vielen Faktoren abhängig. Das Bild, das Shaffer und Rönner (1984) und Rönner und Sørensen (1985) von ihr gezeichnet haben, sollte eher als Annäherung verstanden werden. Es wird nach den vorliegenden Untersuchungen davon ausgegangen, daß die von Rönner und Sørensen (1985) gemessenen Raten eher die Frühjahrssituation nach Absinken der Frühjahrsblüte repräsentieren. Die von Shaffer und Rönner (1984) berechneten Denitrifikationsraten dürften ebenfalls als Jahresmittelwerte noch etwas zu hoch liegen, da sie der räumlichen Trennung von Elektronendonator und -akzeptor nicht ausreichend Rechnung tragen und einen zu hohen Anteil der Primärproduktion, als für die Denitrifikation verfügbar ansehen.

4.6. Ökologische Relevanz des Mechanismus der "H₂S-Denitrifikation"

4.6.1. Bedeutung für die zentrale Ostsee:

Auch wenn die "H₂S-Denitrifikation" mit aller Wahrscheinlichkeit geringere Denitrifikationsleistungen erzielen dürfte als die Denitrifikation im Sediment, so stellt sie doch einen effektiven Mechanismus zur Stickstoffeliminierung dar. Dies wird besonders deutlich an dem starken Abfall der Konzentration an mineralisiertem Stickstoff in dem Bereich der oxisch-anoxischen Grenzschicht (vgl. Kap.3.1., Abb.18,19,20). Dieser Mechanismus dürfte umso mehr an Bedeutung gewinnen, je weniger organischer Kohlenstoff zur Verfügung steht.

Da die "H₂S-Denitrifikation" unabhängig vom organischen Kohlenstoff der Primärproduktion ist, ist sie unabhängig von den Jahreszeiten, und dürfte ganzjährig ähnliche Umsatzraten liefern, vorausgesetzt, daß das H₂S-haltige Tiefenwasser das ganze Jahr über vorliegt.

Aufgrund der erforderlichen Anwesenheit von gleichzeitig NO₃⁻ und H₂S aus oxischer bzw. anoxischer Wasserschicht, dürfte der Prozeß eine umsatzsteigernde Wirkung in erster Linie durch Vermischungsprozesse erfahren. Besonders relevant für die N-Elimination in anoxischen Becken dürfte ein Einschieben ("Interleaving") von oxischen Zwischenwasserschichten im anoxischen Bereich der Wassersäule sein. Durch ein solches Interleaving werden neue oxisch-anoxische Grenzflächen mit verstärkten

Vermischungsaktivitäten geschaffen. Eine starke Nitrifikation des in den oxischen Bereich eingebrachten NH_4 , sowie eine rasche Denitrifikation von schon vorhandenem und neu gebildetem Nitrat wäre als Reaktion zu erwarten. Daß auch grenzschichtferne H_2S -haltige Wasserproben in der Lage sind nach Nitratzusatz rasch zu denitrifizieren und dabei das H_2S als Elektronendonator zu verwenden, konnte mit Wasserproben aus 180 m Tiefe des Gotlandtiefs gezeigt werden (vgl. Kap. 3.1.4.2.).

Die Ausbreitung von H_2S im Bodenwasser der zentralen Ostsee ist durch die synergistische Wirkung von Eutrophierung (Elmgren 1989) und langen Stagnationsperioden im Steigen begriffen. Die Relevanz dieses Denitrifikationsmechanismus dürfte daher zunehmen (vgl. Abb.65).

4.6.2. Mögliche Relevanz in anderen Ökosystemen

Eine Bedeutung dürfte diesem Mechanismus bei allen Gewässern mit oxisch-anoxischen Grenzflächen zukommen, insbesondere bei allen anoxischen marinen Becken (Schwarzes Meer, Cariaco Trench) und Fjorden (Saanich Inlet, B.C., Framvaren Fjord, Norwegen). Eine Übersicht hierüber geben Anderson und Devol (1987). Sorokin (1964) berichtet von einem Maximum der CO_2 -Dunkelfixierung nach Zugabe von NO_3^- und H_2S zu Wasserproben aus der oxisch-anoxischen Grenzschicht des Schwarzen Meeres, was als Hinweis auf das Vorkommen von autotrophen Denitrifikanten interpretiert werden kann. Über die Relevanz für die Denitrifikation macht er jedoch keine Aussagen.

Temporär könnte die " H_2S -Denitrifikation" auch eine Rolle bei den sauerstoffarmen Zwischenwasserschichten des östlichen tropischen Pazifik spielen. Packard et al. (1978) verzeichneten gleichzeitiges Vorkommen von geringen Konzentrationen von NO_3^- und H_2S im Perustrom. Codispoti et al. (1986) berichten von der Bildung von H_2S nach Phasen starker Primärproduktion und nachfolgenden hohen Sedimentationsraten. An den Rändern der H_2S -haltigen Wasserschichten wäre auch hier " H_2S -Denitrifikation" zu erwarten.

5. ZUSAMMENFASSUNG

- Im Sommer 1986 und 1987 wurden Untersuchungen zur Denitrifikation in der Wassersäule der zentralen Ostsee durchgeführt. Schwerpunkt der Untersuchungen war, die regulierenden Mechanismen der Denitrifikation zu erforschen. Als Untersuchungsgebiete dienten das zentral gelegene Gotlandtief und die im Norden gelegene Station T.
- Denitrifikationsraten wurden mit Hilfe der Azetylenblockmethode erfaßt. Die ermittelten Raten lagen zwischen 13,8 und 110 nmol N/l x d.
- Vor dem Hintergrund der gängigen bakteriologischen Rahmenparameter wurde die Anzahl von Denitrifikanten und Nitratreduzierern erfaßt. Die Anzahl der heterotrophen Denitrifikanten in der Wassersäule bewegte sich zwischen ungefähr 50 und 2400 Bakterien pro ml.
- Es zeigte sich, daß die Denitrifikation in der Wassersäule der zentralen Ostsee, sowohl in Bezug auf die Umsatzraten, als auch die räumliche Ausdehnung durch den verfügbaren organischen Kohlenstoff limitiert war. Die geringe Verfügbarkeit schien die Denitrifikation im wesentlichen auf "energiereiche" Grenzschichten wie oxisch-anoxische und Sediment-Wasser-Grenzschichten zu beschränken.
- Für die Denitrifikation an der oxisch-anoxischen Grenzfläche konnte gezeigt werden, daß autotrophe Denitrifikation unter Nutzung von reduzierten Schwefelverbindungen aus dem anoxischen Bereich als Elektronendonatoren einen bedeutenden Beitrag zu leisten vermag ("H₂S-Denitrifikation").
- In der Wassersäule von Station T konnte Denitrifikation ausgehend von Nitrat nur in Sedimentnähe festgestellt werden. In der sauerstoffarmen und sedimentfernen Wassersäule hingegen, wurde nur die Reduktion von N₂O beobachtet. Dieses N₂O war offensichtlich zuvor durch Nitrifikation gebildet worden. Dieser Mechanismus, von Codispoti und Christensen (1985) als Nitrifikations-Denitrifikations-Kopplung bezeichnet, scheint wegen dem geringen Kohlenstoffbedarf und der thermodynamisch günstigen N₂O-Reduktion besonders an kohlenstoffarme Bedingungen angepaßt. Der Mangel an verfügbarem organischen Kohlenstoff in der Wassersäule dieser Station spiegelte sich in einer Reduktion der Anzahl der heterotrophen Denitrifikanten wider.
- Da die Verfügbarkeit von organischem Kohlenstoff in der Wassersäule in erster Linie durch den Partikelfluß aus der euphotischen Schicht bedingt ist (Liu und Kaplan, 1984), dürfte die C-Versorgung während des Untersuchungszeitraumes Ende Juli bis Mitte August nicht niedriger als im Jahresdurchschnitt gewesen sein. Daher wird davon ausgegangen, daß die gefundene Limitierung der Denitrifikation durch den Elektronendonator (= organischer Kohlenstoff) für den Großteil des Jahres Geltung hat. Im Frühjahr, nach Absinken der Frühjahrsphytoplanktonblüte, könnte die stärkere Versorgung mit organischem Material in der Wassersäule höhere Denitrifikationsraten und eine Ausdehnung der Denitrifikationszone mit sich bringen.
- Die hier ermittelten Umsatzraten pro Liter liegen niedriger, als die von Rönner und Sörensson (1985) verzeichneten. Als Ursache hierfür wird der Untersuchungszeitraum am

Frühjahrsende angesehen mit der oben erwähnten besseren Versorgung mit organischem Material. Die von Shaffer und Rönner (1984) für den Jahresdurchschnitt berechneten Raten liegen wesentlich niedriger (Faktor 5) und in der Größenordnung der in dieser Arbeit ermittelten, jedoch wird von einer größeren volumenmäßigen Ausdehnung der Denitrifikation ausgegangen. Die Berechnungen könnten die Tendenz in sich tragen, die volumenmäßige Ausdehnung der Denitrifikation und damit letztlich die Stickstoffelimination in der Wassersäule insofern zu überschätzen, da weder auf Kohlenstofflimitierung der Denitrifikation noch auf die Ammoniumakkumulation im anoxischen Tiefenwasser eingegangen wurde.

- Der am häufigsten isolierte Denitrifikant wurde als *Shewanella putrefaciens* einklassifiziert (Höfle, 1990). Für die Denitrifikation an der oxisch-anoxischen Grenzschicht dürfte ein autotropher Denitrifikant mit ähnlichen physiologischen Eigenschaften wie *Thiobacillus denitrificans* verantwortlich gewesen sein.

- Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß während eines Großteils des Jahres die Wassersäule nur in geringem Ausmaß zur Stickstoffelimination beitragen kann. Grund dafür ist die anzunehmende weitgehende C-Limitierung. Die "H₂S-Denitrifikation" ist in ganzjährig anoxischen Becken ein jahreszeitlich unabhängiger Mechanismus zur N-Eliminierung, in erster Linie von Mischungsprozessen an der oxisch-anoxischen Grenzschicht abhängig. Größere N-Verluste durch diesen Mechanismus dürften bei Einschieben von sauerstoffhaltigen Wasserschichten in den anoxischen Tiefenwasserbereich auftreten, da dabei eine starke Oberflächenvergrößerung der oxisch-anoxischen Grenzschicht mit gleichzeitigen starken Vermischungsprozessen einhergeht.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- Abeliovich A 1987. Nitrifying bacteria in wastewater reservoirs. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 754-760.
- Ackefors H, Lindahl O 1979. Primary phytoplankton production in the Baltic proper 1973-1976, in relation to secondary zooplankton production. ICES C.M. 1979/L:32.
- Aleem M I H 1975. Biochemical reaction mechanisms in sulfur oxidation by chemosynthetic bacteria. *Plant and Soil* 43: 587-607.
- Andersin A B, Lassig J, Sandler H 1979. Recent changes in the occurrence of soft-bottom macrofauna in the central Baltic proper. ICES C.M. 1979/L:30.
- Anderson J J 1984. The oxic-anoxic interface in Saanich Inlet. In: "Proceedings of a multidisciplinary symposium on Saanich Inlet", Canadian Technical Report of Hydrography and Ocean Sciences 38: 1723.
- Anderson J J, Devol A H 1987. Extent and intensity of the anoxic zone in basins and fjords. *Deep Sea Res.* 34: 927-944.
- Andersen T K, Jensen MH, Sørensen J 1984. Diurnal variation of nitrogen cycling in coastal, marine sediments. I. Denitrification. *Marine Biology* 83: 171-176
- Balderston W L, Sherr B, Payne W J 1976. Blockage by acetylene of nitrous oxide reduction in *Pseudomonas perfectomarinus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 504-508.
- Baalsrud K, Baalsrud K S 1954. Studies on *Thiobacillus denitrificans*. *Arch. Microbiol.* 20: 34-62.
- Bendschneider K, Robinson R J 1952. Determination of nitrite in seawater. *J. Marine Res.* 2: 1-8.
- Beudeker R F, Kuenen J G, Codd G A 1981. Glycollate metabolism in the obligate chemolithotroph *Thiobacillus neapolitanus*. *J. Gen. Microbiol.* 126: 337-346.
- Bleakley B H, Tiedje J M 1982. Nitrous oxide production by organisms other than nitrifiers or denitrifiers. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 1342-1348.
- Boogerd F C, van Verseveld H W, Torenvliet D, Braster M, Stouthammer A H 1984. Reconsideration of the efficiency of energy transduction in *Paracoccus denitrificans* during growth under a variety of culture conditions. *Arch. Microbiol.* 139: 344-350.
- Capone D C, Horrigan S G, Dunham S E, Fowler J 1990. Direct determination of nitrification in marine waters by using the short-lived radioisotope of nitrogen, ¹⁵N. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 1182-1184.

- Carlucci A F, McNally P M 1969. Nitrification by marine bacteria in low concentrations of substrate and oxygen. *Limn. Oceanogr.* 14: 736739.
- Castignetti D, Hollocher T C 1982. Nitrogen redox metabolism of a heterotrophic nitrifying-denitrifying *Alcaligenes* from soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 44: 923-928.
- Codispoti L A, Christensen J P 1985. Nitrification, denitrification and nitrous oxide cycling in the eastern tropical South Pacific ocean. *Mar. Chemistry* 16: 277-300.
- Codispoti L A, Friederich G E, Packard T T, Glover H E, Kelly P J, Spinrad R W, Barber R T, Elkins J W, Ward B B, Lipshultz F, Lostaunau N 1986. High nitrite levels of off northern Peru: a signal of instability in the marine denitrification rate. *Science* 233: 12001202.
- Cohen Y, Gordon L I 1978. Nitrous oxide in the oxygen minimum of the eastern tropical North Pacific: evidence for its consumption during denitrification and possible mechanisms for its production. *Deep Sea Res.* 25: 509-524.
- Cohen Y, de Jonge I, Kuenen J G 1979. Excretion of glycollate by *Thiobacillus neapolitanus* in continuous culture. *Arch. Microbiol.* 122: 189-194.
- Culbertson C W, Zehnder A J B, Oremland R S 1981. Anaerobic oxidation of acetylene by estuarine sediments and enrichment cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 41: 396-403.
- Devol A H 1978. Bacterial oxygen uptake kinetics as related to biological processes in oxygen deficient zones of the oceans. *Deep-Sea Research* 25: 137-146.
- Delwiche C C 1978. Biological production and utilization of N₂O. *Pure Appl. Geophys.* 116: 414-422.
- Delwiche C C 1981. The nitrogen cycle and nitrous oxide. In: Delwiche C.C. (ed.), "Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide". Wiley and Sons, New York, 1-15.
- Dunn G M, Wardell J N, Herbert R A 1980. Enrichment, enumeration and characterization of nitrate-reducing bacteria present in sediments of river Tay estuary. *Proc. Royal Soc. Edinburgh* 78 B: 47-56.
- Ehrhardt M 1969. The particulate organic carbon and nitrogen and the the dissolved organic carbon in the Gotland Deep in May 1968. *Kieler Meeresforschung* 25: 71-80.
- Ehrhardt M 1983. Determination of particulate organic carbon and nitrogen. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (eds), "Methods of seawater analysis", Verlag Chemie, Weinheim, 139-142.
- Elmgren R 1984. Trophic dynamics in the enclosed, brackish Baltic Sea. *Rapp. P.-v. Reun. Cons. int. Explor. Mer* 183: 152-169.
- Elmgren R 1989. Man's impact on the ecosystem of the Baltic sea: energy flows today and at the turn of the century. *Ambio* 18: 326332.

- Enoksson V 1986. Nitrification rates in the Baltic sea. Comparison of three isotope techniques. *Appl. Environ. Microbiol.* 51: 244-250.
- Enoksson V, Sörensson F, Graneli W 1990. Nitrogen transformations in the Kattegat. *Ambio* 19: 159-166.
- Ferguson S J 1988. The redox reactions of the nitrogen and sulfur cycles. In: Cole J A, Ferguson S J (eds.), "The nitrogen and sulfur cycle", 42nd Symp. Soc. J. Gen. Microbiol., Cambridge University Press, Cambridge, 1-30.
- Fonselius S H 1969. Hydrography of the Baltic Deep Basins III. Fishery Board of Sweden, Series Hydrography 23.
- Fonselius S H 1983. Determination of hydrogen sulphide. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (eds), "Methods of seawater analysis", Verlag Chemie, Weinheim, 73-80.
- Frunzke K, Zumft W G 1984. Rapid, single sample analysis of H₂, O₂, N₂, NO, CO, N₂O and CO₂ by isothermal gas chromatography: applications to the study of bacterial denitrification. *J. Chromatogr.* 299: 477-483.
- Gast V, Gocke K 1988. Vertical distribution of number, biomass and size-class spectrum of bacteria in relation to oxic-anoxic conditions in the central Baltic sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45: 179-186.
- Gocke K 1989. Bakterielle Stoffaufnahme im aeroben und anaeroben Milieu der Ostsee. *Berichte Inst. für Meereskunde, Kiel*, 188: 40-47.
- Goreau T J, Kaplan W A, Wofsy J C, McElroy M B, Valois F W, Watson S W 1980. Production of NO₂⁻ and N₂O by nitrifying bacteria at reduced concentrations of oxygen. *Appl. Environ. Microbiol.* 40: 526-532.
- Gottschal J C, Kuenen J G 1980. Physiological and ecological significance of facultative chemolithotrophy and mixotrophy in chemolithotrophic bacteria. In: Dalton H (ed.), "Microbial growth on C1-compounds", London, 92-104.
- Graneli E, Wallström K, Graneli W, Elmgreen R 1990. Nutrient limitation of primary production in the Baltic sea area. *Ambio* 19: 142-151.
- Grasshoff K 1983. Determination of oxygen. Determination of thiosulphate. Determination of nitrite. Determination of nitrate. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (eds), "Methods of seawater analysis", Verlag Chemie, Weinheim, 61-72, 81-84, 139-142, 143-150.
- Güde H 1989. The role of grazing on bacteria in plankton succession. In: Sommer U (ed), "Plankton succession", Springer Verlag, Berlin, 337-364.
- Gundersen K 1981. Nutrients: Nitrogen. In: Melvasalo T, Pawlak J, Grasshoff K, Thorell L, Tsiban A (eds), "Assessment of the effects of pollution on the natural resources of the Baltic sea, 1980", Baltic sea environment proceedings No. 5 B: 169-192.

Gundersen K, Mountain C W 1973. Oxygen utilization and pH change in the ocean resulting from biological nitrate formation. *Deep Sea Res.* 20: 1083-1091.

Hahn J 1981. Nitrous oxide in the oceans. In: Delwiche C.C. (ed.), "Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide", Wiley and Sons, New York, 191-240.

Hahn J, Junge C 1977. Atmospheric nitrous oxide: A critical review. *Z. Naturforsch.* 32: 190-214.

Hardy R W F, Knight E, Jr 1966. Reduction of N_2O by biological N_2 -fixing systems. *Biochem. Biophys. Research Comm.* 23: 409-414.

Hashimoto L K, Kaplan W A, Wofsy S C, McElroy M B 1983. Transformation of fixed nitrogen and N_2O in the Cariaco Trench. *Deep Sea Res.* 30: 575-590.

Hattori A 1983. Denitrification and dissimilatory nitrate reduction. In: Carpenter E, Capone D (eds.), "Nitrogen in the marine environment", Academic Press, New York, 191-232.

Höfle M G 1988. Identification of bacteria by low molecular weight RNA profiles: a new chemotaxonomic approach. *J. Microbiol. Methods* 8: 235-248.

Höfle M G 1990. RNA chemotaxonomy of bacterial isolates and natural microbial communities. In: Overbeck J, Chrost C (eds), "Aquatic Microbial Ecology: Biochemical and Molecular Approaches Microbial Ecology", Springer-Verlag, Berlin, 129-158.

Höfle M G, Brettar I 1990. Correlation between microbial activity and taxonomic structure in the water column of the central Baltic. *Arch. Hydrobiol. Beih.* 34: 237.

Hernandez D, Rowe J J 1987. Oxygen regulation of nitrate uptake in denitrifying *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 754-750.

Hooper A B, Terry K R 1973. Specific inhibitors of ammonia oxidation in *Nitrosomonas*. *J. Bacteriol.* 119: 899-906.

Hyman M R, Arp D J 1987. Quantification and removal of some contaminating gases from acetylene used to study gas-utilizing enzymes and microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 298-303.

Hynes R K, Knowles R 1978. Inhibition by acetylene of ammonia oxidation in *Nitrosomonas europaea*. *FEMS Microbiol. Lett.* 4: 319-321.

Hynes R K, Knowles R 1982. Effect of acetylene on autotrophic and heterotrophic nitrification. *Can. J. Microbiol.* 28: 334-340.

Indebro G, Pengerud B, Dundas I 1979. Microbial activities in a permanently stratified estuary. II. Microbial activities at the oxic-anoxic interface. *Mar. Biol.* 51: 305-309.

Ingvorsen K, Jørgensen B B 1979. Combined measurement of oxygen and sulfide in water samples. *Limnol. Oceanogr.* 24: 390-393.

- Jahnke R A, Emerson S R, Murray J W 1982. A model of oxygen reduction, denitrification, and organic matter mineralization in marine sediments. *Limnol. Oceanogr.* 27: 610-623.
- Jørgensen B B 1988. Ecology of the sulphur cycle: oxidative pathways in the sediments. In: Cole J A, Ferguson S J (eds.), "The nitrogen and sulfur cycle", 42nd Symp. Soc. J. Gen. Microbiol., Cambridge University Press, Cambridge, 31-64.
- Jørgensen B B, Kuenen J G, Cohen Y 1979. Microbial transformation of sulfur compounds in a stratified lake (Solar lake, Sinai). *Limnol. Oceanogr.* 24: 799-822.
- Jørgensen K S, Jensen H B, Sørensen J 1984. Nitrous oxide production from nitrification and denitrification in marine sediment at low oxygen concentrations. *Can. J. Microbiol.* 30: 1073-1078.
- Juniper S K, Brinkhurst R O 1986. Water column dark CO₂ fixation and bacterial mat growth in intermittently anoxic Saanich Inlet, British Columbia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 33: 41-50.
- Kaplan W A, Wofsy S C 1985. The biogeochemistry of nitrous oxide: a review. *Advances in Aquatic Microbiology* 3: 181-206.
- Kaspar H F 1982. Denitrification in marine sediment: measurement of capacity and estimate of in situ rate. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 522-527.
- Knowles R 1982. Denitrification. *Microbiol. Rev.* 46: 43-70.
- Koike I, Hattori A 1975. Growth yield of a denitrifying bacterium. *Pseudomonas denitrificans* under aerobic and denitrifying conditions. *J. Gen. Microbiol.* 88: 1-10.
- Koike I, Wada E, Tsuji T, Hattori A 1972. Studies on denitrification in a brackish lake. *Arch. Hydrobiol.* 69: 508-520.
- Koike I, Hattori A, Goering J J 1978. Controlled ecosystem pollution experiment: Effect of mercury on enclosed water columns. VI. Denitrification by marine bacteria. *Mar. Sci. Commun.* 4: 1-12.
- Koroleff F 1983. Determination of ammonia. In: Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (eds), "Methods of seawater analysis", Verlag Chemie, Weinheim, 150-157.
- Kuenen J G, Veldkamp H 1972. *Thiomicrospira pelophila*, gen. nov., sp. n., a new obligately chemolithotrophic colourless sulfur bacterium. *Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* 38: 241-256.
- Kuenen J G, Beudeker R F 1982. Microbiology of thiobacilli and other sulphur-oxidizing autotrophs, mixotrophs and heterotrophs. *Phil. Trans. R. Soc. London B* 298: 473-497.
- Kuenen J G, Robertson L A 1984. Competition among chemolithotrophic bacteria under aerobic and anaerobic conditions. In: Klug M J, Reddy C A (eds), "Current perspectives in microbial ecology", American Society for Microbiology, Washington, 306-313.
- Larsson U, Elmgren R, Wulff F 1985. Eutrophication and the Baltic sea: causes and

consequences. *Ambio* 14: 10-14.

Liu K K, Kaplan I R 1984. Denitrification rates and availability of organic matter in marine environments. *Earth Planet. Sc. Lett.* 68: 88-100.

McCarthy J J, Kaplan W A, Nevins J L 1983. Sources and sinks of nitrite in the York River and Chesapeake Bay. *Limnol. Oceanogr.* 84-98.

MacDonell MT, Colwell R R 1985. Phylogeny of the Vibrionaceae and recommendation for two new genera, *Listonella* and *Shewanella*. *Syst. Appl. Microbiol.* 6: 171-182.

de Man J C 1975. The probability of most probable numbers. *Europ. J. Appl. Microbiol.* 1: 67-78.

Mopper K, Lindroth P 1982. Diel and depth variations in dissolved free amino acids and ammonium in the Baltic sea determined by shipboard HPLC analysis. *Limnol. Oceanogr.* 27: 336-347.

Munch J C, Ottow J C G 1986. Nature des produits gazeux formes dans les sols a partir de differentes microflores denitrifiantes. *Science du sol* 24. 337-350.

Nehring D 1987. Temporal variations of phosphate and inorganic nitrogen compounds in central Baltic deep waters. *Limnol. Oceanogr.* 32: 494-499.

Olson R J 1980. Differential photoinhibition of marine nitrifying bacteria: a possible mechanism for the formation of the primary nitrite maximum. *J. Marine Res.* 39: 227-238.

Oremland R S, Capone D G 1988. Use of "specific" inhibitors in biogeochemistry and microbial ecology. *Advances in Microbial Ecology* 10: 285-383.

Ozretich R J 1976. An investigation of the transition from aerobic to nitrate respiration in marine bacteria in continuous culture. Ph.D. Thesis, University of Washington, Seattle, 135 pp.

Packard T T, Dugdale R C, Goering J J, Barber R T 1978. Nitrate reductase activity in the subsurface waters of the Peru Current. *J. Mar. Res.:* 59-76.

Patriquin D G, Knowles R 1974. Denitrifying bacteria in some shallow water marine sediments: enumeration and gas production. *Can. J. Microbiol.* 20: 1037-1041.

Payne W J 1981. Denitrification as a factor in soil science: general properties. In: Payne W J (ed), "Denitrification", J Wiley, New York' 118-133.

Payne W J, Riley P S, Cox C D 1971. Separate nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide reducing fractions from *Pseudomonas perfectomarinus*. *J. Bacteriol.* 106: 356-361.

Poth M, Focht D D 1985. ¹⁵N kinetic analysis of N₂O production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifier denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 1134-1141.

Rahm L 1987. Oxygen consumption in the Baltic proper. *Limnol. Oceanogr.* 32: 973-978.

- Rheinheimer G 1984. Bacterial ecology of the North and Baltic Seas. *Botanica Marina* 27: 277-299.
- Rheinheimer G, Gocke K, Hoppe H G 1989. Vertical distribution of microbiological and hydrographic-chemical parameters in different areas of the Baltic Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 52: 55-70.
- Richards F A 1965. Chemical observations in some anoxic, sulfide-bearing basins and fjords. *Proc. Sec. Int. Water Pollution Conf., Tokyo, Pergamon Press, Oxford*, 215-243.
- Richards F A, Anderson J J, Cline J D 1971. Chemical and physical observations in Golfo Dulce, an anoxic basin on the Pacific coast of Costa Rica. *Limnol. Oceanogr.* 16: 43-50.
- Ritchie G A F, Nicholas D J D 1972. Identification of the sources of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea*. *Biochem. J.* 126: 1181-1191.
- Robertson L A, Kuenen J G 1983. *Thiosphaera pantotropha* gen. nov. sp. nov., a facultatively anaerobic, facultatively autotrophic sulphur bacterium. *J. Gen. Microbiol.* 129: 2847-2855.
- Rönner U 1983. Distribution, production and consumption of nitrous oxide in the Baltic Sea. *Geochim. Cosmochim. Acta* 47: 2179-2188.
- Rönner U 1983a. Biological nitrogen transformations in marine ecosystems with emphasis on denitrification. PhD thesis, Botaniska Institutionen Universitat Gotteborg, Gotteborg, pp. 123.
- Rönner U 1985. Nitrogen transformations within the Baltic proper: denitrification counteracts eutrophication. *Ambio* 14: 1241-1243.
- Rönner U, Sorensson F 1985. Denitrification rates in the low-oxygen waters of the stratified Baltic proper. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 801-806.
- Samuelsson M O, Rönner U 1982. Ammonium production by dissimilatory nitrate reducers isolated from the Baltic Sea water as indicated by ¹⁵N-study. *Appl. Environm. Microbiol.* 44: 1241-1243.
- Sen Gupta R 1973. A study on nitrogen and phosphorus and their interrelationships in the Baltic. Ph.D. thesis, Oceanographic Institute, University of Gotteborg, Gotteborg, Sweden, 79 pp.
- Shaffer G, Rönner U 1984. Denitrification in the Baltic proper deep water. *Deep Sea Res.* 31: 197-220.
- Simon M, Azam F 1989. Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 51: 201-213.
- Smith M S 1982. Dissimilatory reduction of nitrite to ammonium and nitrous oxide by a soil *Citrobacter* sp. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 854-860.
- Sorensen J 1978. Occurrence of nitric and nitrous oxides in a coastal marine sediment. *Appl.*

Environ. Microbiol. 36: 809-813.

Sørensen J, Tiedje J M, Firestone R B 1980. Inhibition by sulfide of nitric and nitrous oxide reduction by denitrifying *Pseudomonas fluorescens*. Appl. Environ. Microbiol. 39: 105-108.

Sørensen J, Rasmussen L K, Koike I 1987. Micromolar sulfide concentrations alleviate acetylene blockage of nitrous oxide reduction by denitrifying *Pseudomonas fluorescens*. Can. J. Microbiol. 33: 1001-1005.

Sorokin Y I 1964. On the primary production and bacterial activities in the Black Sea. J. Cons. int. Explor. Mer 29: 41-60.

Sorokin Y I 1972. The bacterial population and the processes of hydrogen sulphide oxidation in the Black Sea. J. Cons. int. Explor. Mer 34: 423-454.

Sreenivasan A, Venkataraman R 1956. Marine denitrifying bacteria from south India. J. Gen. Microbiol. 15: 241-247.

Srna R F, Baggeley A 1975. Kinetic responses of perturbed marine nitrification systems. J. Water Pollut. Control. Fed. 47: 472-486.

Stigebrandt A 1987. A model for the vertical circulation of the Baltic deep water. J. Phys. Oceanogr. 17: 1772- 1785.

Stigebrandt A, Wulff F 1987. A model for the dynamics of nutrients and oxygen in the Baltic proper. J. Mar. Res. 45: 729-759.

Tam T Y, Knowles R 1979. Effects of sulfide and acetylene on nitrous oxide reduction by soil and by *Pseudomonas aeruginosa*. Can. J. Microbiol. 25: 1133-1138.

Tam T Y, Mayfield C I, Inniss W E 1983. Aerobic acetylene utilization by stream sediment and isolated bacteria. Curr. Microbiol. 8: 165-168.

Thauer R K, Jungermann K, Decker K 1977. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. Bacteriol. Rev. 41: 100-180.

Tiedje J M 1988. Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: A. Zehnder (ed.), "Biology of anaerobic microorganisms", Wiley and Son, New York, 179-244.

Tiedje J M, Sexstone A J, Myrold D D, Robinson J A 1982. Denitrification : ecological niches, competition and survival. Antonie van Leeuwenhoek 48: 569-583.

Timmer-ten Hoor A 1976. Energetic aspects of the metabolism of reduced sulphur compounds in *Thiobacillus denitrificans*. Antonie van Leeuwenhoek 42: 483-492.

Tuttle J H, Jannasch H W 1973. Sulfide and thiosulfate-oxidizing bacteria in anoxic marine basins. Mar. Biol. 20: 64-70.

Wassmann P 1986. Benthic nutrient regeneration as related to primary production in the

west-Norwegian coastal zone. *Ophelia* 26: 443-456.

Weiss R F, Price B A 1980. Nitrous oxide solubility in water and seawater. *Marine Chemistry* 8: 347-359.

Winkler L W 1888. Die Bestimmung des gelösten Sauerstoffes in Wasser. *Ber. dtsh. chem. Ges.* 21: 2843-2855.

Wood P M 1988. Monooxygenase and free radical mechanisms for biological ammonia oxidation. In: Cole J A, Ferguson S J (eds). *The nitrogen and sulfur cycles.*: 219-244. Cambridge.

Wulff F, Rahm L 1988. Long-term, seasonal and spatial variations of nitrogen, phosphorus and silicate in the Baltic: an overview. *Marine Environm. Research* 26: 19-37.

Wulff F, Rahm L 1989. Optimizing the Baltic sampling programme: The effects of using different stations in calculations of total amount of nutrients. *Beitr. Meereskd., Berlin* 60: 61-66.

Yoshinari T, Knowles K 1976. Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. *Bioch. Biophys. Res. Comm.* 69: 705-710.

Zimmermann R, Iturriaga R, Becker-Birck I 1978. Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. *Appl. Environ. Microbiol.* 36: 926-935.

Zobell C E 1946. *Marine microbiology.* Chronica Botanica, Waltham Mass. pp. 240.

DANKSAGUNG

Ich möchte mich recht herzlich bei allen Leuten bedanken, die mich bei meiner Doktorarbeit unterstützt haben.

Herrn Professor G. Rheinheimer möchte ich für die Themenstellung und das Projekt danken, weitherhin dafür, daß er jederzeit offen war für Fragen und Diskussionen.

Für die tatkräftige Unterstützung bei Ausfahrten und im Labor möchte ich mich ganz herzlich bei J. Wesnigk, R. Lilischkis und S. Quabius bedanken.

Für technische Unterstützung möchte ich mich bei H. Sell und G. Petrick bedanken.

Der Abteilung Marine Mikrobiologie möchte ich für das nette Arbeitsklima und die Hilfsbereitschaft danken. Insbesondere möchte ich mich hierfür noch bei Frau R. Kreibich bedanken.

Für die nette Aufnahme auf dem finnischen Forschungsschiff "Aranda" bin ich E.L. Poutanen, L. Niemistö, R. Kumpulainen und der Schiffscrew zu Dank verpflichtet.

Über anregende Diskussionen und Unterstützung außerhalb meiner Abteilung habe ich mich bei C. Stienen, G. Schneider, U. Junghans, B. v. Bodungen und F. Pollehne gefreut.

Für hilfreiche Tips zum Start der Arbeit möchte ich M.O. Samuelsson, V. Enoksson, F. Sörensson, K. Frunzke, J.C. Munch, J. Sörensen und K.S. Jörgensen danken.

Die schöne Zusammenarbeit über das Bakterioplankton mit M.G. Höfle hat mir für diese Arbeiten eine zusätzliche Dimension gebracht, die ich nicht missen möchte und die mir immer sehr gut über gelegentliche Probleme hinweggeholfen hat.

Die Arbeiten wurden im Rahmen des BMFT-Projektes MFU 05471 "Untersuchungen zur Denitrifikation in der zentralen Ostsee im Rahmen der deutsch-finnischen Zusammenarbeit." durchgeführt und finanziert.