

BERICHTE
aus dem
INSTITUT FÜR MEERESKUNDE
an der
CHRISTIAN-ALBRECHTS-UNIVERSITÄT ZU KIEL

DYNAMIK DER SULFATATMUNG UND IHRE BEDEUTUNG
FÜR DIE KOHLENSTOFF-MINERALISIERUNG
IN OSTSEE-SEDIMENTEN

Nr. 276

1995

Levent Piker



DOI 10.3289/IFM_BER_276

Kopien dieses Berichts können bezogen werden durch:

Dr. Levent Piker
Abt. Marine Mikrobiologie
Institut für Meereskunde
an der Universität Kiel
Düsternbrooker Weg 20
D-24105 Kiel

ISSN 0341-8561

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. habil. W. Reichardt für eine inspirative Betreuung, die trotz der großen Entfernung in der Endphase der Arbeit sehr eng war, und aus der zu lernen mir eine Freude war.

Prof. Gerlach, Prof. Chapman, Prof. Sommer, Prof. Imhoff und Prof. Suess möchte ich für ihre Unterstützung, ihr Interesse und für Arbeitsmöglichkeiten und Prof. Jørgensen für eine kritische Würdigung meines Vorhabens zu Beginn der Arbeit danken.

V. Martens hat durch seine Hilfestellung die Durchführung vieler Experimente und Messungen technisch ermöglicht (z.B. Bau einer Anaerobenkammer und eines Pico-Amperemeters). U. Rabsch und P. Krischker gaben ihre Erfahrungen mit Isotopen hilfsbereit weiter-und dies unter Arbeitsbedingungen, wie man sie sich nur wünschen kann (neues Isotopenlabor). Dr. F. Pollehne (IfO, Warnemünde) stellte den Grundstock für die S-Destillations-Anlage zur Verfügung und Dr. H. Fossing (MPI, Bremen) lehrte mich, mit ihr umzugehen. Vielen Dank an C. Hiegel, D. Meyn und D. Krekeler für die wirkungsvolle Hilfe mit den empfindlichsten Glasapparaturen. D. Petersen zeigte das richtige Fingerspitzengefühl für Arbeiten an der HPLC-Anlage und brachte das Gerät erst richtig zum Laufen. Wichtige Diskussionspartner und eifrige Manuskriptleser waren Dr. S. Heise, Dr. P. Krost, K. Schwarz, A. Schneider und L. Podgorsek sowie die DYSMON-Crew, besonders Ronny. Ihnen allen sowie den Mitgliedern der Abteilung Meeresbotanik und vielen anderen, die geholfen haben, sei hiermit gedankt. Klabautermänner, Hexen und Kobolde waren jederzeit da (Nikolaus Konstantin, Djini, Britta und Yannek).

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG	1
2 UNTERSUCHUNGSOBJEKTE UND METHODEN	3
2.1 UNTERSUCHUNGSGEBIETE	3
2.1.1 Fährdorf	3
2.1.2 Hiddensee „K“	3
2.1.3 Gotland-Tief	5
2.2 PROBENNAHME	6
2.3 FELDEXPERIMENT - KÜNSTLICHE ANOXIE	7
2.4 EXPERIMENTE MIT SEDIMENT- MIKROKOSMEN	8
2.4.1 Herstellung kontrollierter Sediment-Mikrokosmen	8
2.4.2 Hälterung der Sediment-Mikrokosmen	8
2.4.3 Aufsalzungsversuche - Einfluß von Salinität und SO_4^{2-} -Konzentration	9
2.4.4 Hypertrophierung mit Glucose	10
2.5 EXPERIMENTE MIT GEL-STABILISIERTEN (AGAR-) SYSTEMEN	10
2.6 MESSUNG PHYSIKALISCH-CHEMISCHER PARAMETER	11
2.6.1 Redox (Eh-) und ph-Messungen	11
2.6.2 Bestimmung der O_2 -Konzentration im Porenwasser	12
2.6.3 Porenwasser-Gewinnung	12
2.6.4 Ionen-chromatographische Bestimmung der SO_4^{2-} -Konzentration	13
2.6.5 Bestimmung der H_2S -Konzentration	13
2.6.6 Bestimmung der Konzentration freier Aminosäuren	14
2.6.7 Bestimmung der Konzentration niederkettiger Fettsäuren	17
2.7 ABUNDANZEN SULFAT-REDUZIERENDER BAKTERIEN	21
2.7.1 Herstellung von Flüssigkultur-Medien	21
2.7.2 Herstellung der MPN-Verdünnungen	24
2.7.3 Miniaturisierte (Multidisk)-MPN für Sulfat-reduzierende Bakterien	24
2.7.4 Sauerstoff-Empfindlichkeit und Wiederfundrate der Multidisk-MPN	25
2.7.5 Gesamt-Bakterienzahl	25
2.8 HETEROTROPHE BIOMASSE-PRODUKTION	27
2.8.1 Probennahme und Inkubation	27
2.8.2 DNA-Protein-Extraktion und Messung der Radioaktivität	28
2.9 BESTIMMUNG VON SULFATREDUKTIONS-RATEN	28
2.9.1 Standard-Prozedur der ^{35}S -Methode	29
2.9.2 Methodische Untersuchungen zur Schwefel-Destillation	32
2.10 MINERALISIERUNGS- UND INKORPORATIONS-RATEN ^{14}C -MARKIERTER TESTSUBSTRATE	33
2.10.1 Standard-Prozedur der Mineralisierungs-Messungen	33
2.10.2 Konzentrations-Kinetik ^{14}C -markierter Testsubstrate	34
2.10.3 Inkorporation ^{14}C -markierter Testsubstrate	35
3 ERGEBNISSE	37
3.1 METHODISCHE UNTERSUCHUNGEN	37
3.1.1 Methodische Untersuchungen zur ^{35}S -Methode	37
3.1.2 Randbedingungen bei der Bestimmung von Aminosäuren	39
3.1.3 Randbedingungen bei der Bestimmung von niederkettigen Fettsäuren	41

3 1.4 Abundanz-Bestimmungen mit Hilfe der Multidisk-MPN.....	43
3 2 FREILAND-UNTERSUCHUNGEN.....	45
3 2.1 Fahrdorf.....	45
3 2.2 Hiddensee.....	59
3 2.3 Gotland-Tief.....	77
3.3 FELDEXPERIMENT.....	85
3 4 LABOR-EXPERIMENTE.....	88
3 4.1 Experimente mit Sediment-Mikrokosmen.....	88
3 4.2 Experimente mit Gel-stabilisierten (Agar-) Systemen.....	93
3.5 ERMITTLUNG VON SULFATREDUKTIONSMODellen UND DER ³⁵ S-INKUBATIONS-METHODE: EIN VERGLEICH.....	96
3.6 MINERALISIERUNG UND INKORPORATION ¹⁴ C-MARKIERTER TESTSUBSTRATE.....	98
3 6.1 Mineralisierungsmessungen bei einer Standard-Substrat-Konzentration.....	99
3 6.2 Michaelis-Menten-Kinetik der Mineralisierung organischen Kohlenstoffs.....	100
4 DISKUSSION.....	110
4.1 DISKUSSION DER METHODEN.....	110
4 1.1 Probennahme im Freiland: Zuordnung zu einer Grundgesamtheit.....	110
4 1.2 Gewinnung und Analytik von Porenwasser.....	111
4 1.3 Bestimmung von Sulfatreduktions-Raten mit der ³⁵ S-Methode: Eine gute Näherung der in-situ-Raten?.....	113
4 1.4 Die Multidisk-MPN als rentable und wirkungsvolle Alternative zur konventionellen MPN-Methode für die Abundanz-Bestimmung Sulfat-reduzierender Bakterien.....	115
4 1.5 Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion mit Molybdat.....	118
4 1.6 Anwendbarkeit des Michaelis-Menten-Modells auf die Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs.....	120
4.2 EINFLUSS POTENTIELLER STEUERGRÖSSEN AUF DIE DISSIMILATORISCHE SULFATREDUKTION.....	123
4 2.1 Einfluß des Redoxpotentials (Eh) auf Sulfatreduktions-Raten.....	123
4 2.2 Einfluß der Sulfat-Konzentration auf Sulfatreduktions-Raten.....	127
4 2.3 Einfluß von Aminosäure- und Fettsäure-Konzentration auf Sulfatreduktions-Raten.....	129
4.3 ROLLE DER DISSIMILATORISCHEN SULFATREDUKTION IM SCHWEFEL- UND KOHLENSTOFF-KREISLAUF DER OSTSEE-SEDIMENTE.....	137
4 3.1 Sulfatreduktions-Raten der untersuchten Standorte im globalen Vergleich und Standort-spezifische Beobachtungen.....	137
4 3.2 Saisonale Aspekte und Einfluß der Temperatur.....	139
4 3.3 Bioturbation als stimulierende Einflußgröße für den anaeroben Abbau organischen Kohlenstoffs and den Untersuchungs-Standorten.....	141
4 3.4 Physiologische Flexibilität Sulfat-reduzierender Bakterien und Wechselwirkungen mit anderen Bakteriengruppen.....	142
4 3.5 Charakterisierung der Sediment-Mikroflora anhand der kinetischen Parameter V_{max} und K_m für die Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs.....	151
4 3.6 Diffusionsmodelle zur Erfassung der Sulfatreduktion in eutrophen marinen Sedimenten.....	159
4 3.7 Kritische Schlußbetrachtung und Indizien für Aggregat- und Konsortien-interne Stoff- und Energieflüsse.....	160
5 ZUSAMMENFASSUNG/SUMMARY.....	165/169
6 LITERATURVERZEICHNIS.....	173

1 EINLEITUNG

Im Lebensraum Küste, der als einer der produktivsten der Erde gilt (Meadows & Campbell, 1985), und in Nebenmeeren, wie der Ostsee und dem Schwarzen Meer, ist die Primärproduktion und damit der Eintrag organischer Substanz auf den Meeresboden durch Sedimentation besonders hoch. Meeresboden und bodennahe Grenzschicht sind die Hauptstätten der mikrobiell gesteuerten Remineralisierung, d.h. der Rückführung von Nährsalzen in das überliegende Wasser durch den Abbau organischer Substanz (Rheinheimer, 1974). Sie übernehmen damit eine wichtige Funktion bei der „Selbstreinigung“ küstennaher Gewässer. Der Grund für die hohe heterotrophe Aktivität mariner Sedimente liegt in der physiologischen Diversität der Sediment-Mikroflora, deren Abbauleistungen aber in küstennahen Sedimenten einer starken Variabilität unterliegen (Köster, 1993). Mit einer hohen Dichte von bis zu 10^{11} Zellen cm^{-3} (Grossmann & Reichardt, 1991) stellen Mikroorganismen im Nahrungsgefüge benthischer Lebensgemeinschaften auch einen nicht unerheblichen Teil der Biomasse dar (Gerlach, 1978; Blackburn, 1988).

Der Abbau organischen Kohlenstoffs erfolgt in räumlich eng gekoppelten Prozessen, die die Entstehung und Gestaltung mariner Sedimente (Diagenese) entscheidend beeinflussen (Berner, 1980). Nach Spaltung von Biopolymeren durch extrazelluläre Enzyme (Meyer-Reil, 1987) werden die Spaltprodukte (Elektronen-Donatoren) von der heterotrophen Sediment-Mikroflora unter Verwendung unterschiedlicher Elektronen-Akzeptoren (z.B. Sauerstoff, Mangan- und Eisen-Oxide, Nitrat, Sulfat) oxidiert (Fenchel & Blackburn, 1979). In eutrophen marinen Sedimenten ist der Verbrauch von Sauerstoff so groß, daß es nur wenige Millimeter in das Sediment eindringt (Revsbech & Jørgensen, 1986). In anoxischen Bereichen wird der organische Kohlenstoff anaerob weiter abgebaut. Die anaerobe Endoxidation organischen Kohlenstoffs findet in sulfatreichen anoxischen Sedimenten hauptsächlich durch die dissimilatorische Sulfatreduktion statt. Diese kann einen Anteil von bis zu 50 % an der Gesamt-Mineralisierung einnehmen (Jørgensen, 1977b). Zudem prägt sie durch deren Endprodukt, den Schwefelwasserstoff, das physikalisch-chemische Milieu ganzer Lebensräume (z.B. Ostsee, Schwarzes Meer, Wattenmeer, Salzmarschen und Ästuar; Skyring, 1987) und ist entscheidend an der Deposition reduzierter Schwefelverbindungen (Volkov & Rosanov, 1983) und am Metall-Haushalt (Morse, 1994; Thamdrup *et al.*, 1994) beteiligt.

Über die für diesen Prozess verantwortlichen Sulfat-reduzierenden Bakterien hat man vor allem in den letzten 15 Jahren wichtige Erkenntnisse gewonnen. Während man die Sulfatreduzierer zunächst als hochspezialisierte Bakteriengruppe ansah (Postgate,

1979). entdeckte man immer neuere Arten, von denen einige gleich mehrere Kohlenstoff-Quellen (darunter Exoten wie Kohlenwasserstoffe und aromatische Verbindungen) und Elektronen-Akzeptoren zur Energie-Gewinnung nutzen können (Widdel, 1988). Sogar eine Sauerstoff-Atmung konnte bei den ehemals als äußerst empfindlich gegenüber Sauerstoff eingestuften Sulfatreduzieren nachgewiesen werden (Dilling & Cypionka, 1990).

Welche Rolle der dissimilatorischen Sulfatreduktion bei der Gesamt-Mineralisierung in marinen Sedimenten zukommt und welche Faktoren (Steuergrößen) sie maßgeblich beeinflussen ist noch weitgehend ungeklärt. Deshalb bestand eine Aufgabe der vorliegenden Untersuchung ist darin, den Einfluß potentieller Steuergrößen auf die dissimilatorische Sulfatreduktion zu erfassen. Es wurde versucht, Erkenntnisse und Arbeitshypothesen, die in Freiland-Untersuchungen an verschiedenen charakteristischen Standorten (Küsten-Sedimente der süd-westlichen Ostsee und Sedimente der zentralen Ostsee) erzielt wurden, unter kontrollierten Labor-Bedingungen kausal-analytisch weiterzuverfolgen. Eine zentrale Frage war es dabei, wie die dissimilatorische Sulfatreduktion auf variierende Umweltbedingungen, z.B. unterschiedliche Redoxpotentiale, Konzentrationen von organischem Kohlenstoff und Sulfat reagiert: Sind hohe Abbauleistungen von Sulfatreduzierenden Bakterien an strikt anoxische Bedingungen geknüpft oder gibt es Wege, diese auch unter oxidierten Bedingungen zu vollbringen? Ist die Höhe der Sulfatreduktions-Raten hauptsächlich von der Menge an organischem Kohlenstoff abhängig, und inwieweit spielt die qualitative Zusammensetzung gelöster organischer Verbindungen eine Rolle? Kann Sulfat in „sulfatreichen“ Sedimenten überhaupt limitierend für die Sulfatreduktion sein?

Mineralisierungs-Leistungen durch die dissimilatorische Sulfatreduktion wurden bislang bestimmt, ohne daß die Kinetik der Substrat-Aufnahme und Mineralisierung direkt erfaßt wurde (Ansbæk & Blackburn, 1980; Shaw & McIntosh, 1990; Hines *et al.*, 1994). Kinetische Parameter sind aber ein wichtiges Hilfsmittel, die Substrat-Ansprüche und das Mineralisierungs-Potential einer Bakterien-Population zu kennzeichnen (Wright, 1974; Reichardt, 1978). Daher wird das Michaelis-Menten-Modell auf die Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs in marinen Sedimente angewendet. Eine als spezifisch beschriebene Hemmung der Sulfatreduktion sollte den Anteil der Sulfat-Atmung an der Gesamt-Mineralisierung aufzeigen. Hierbei stellten sich folgende Fragen: Zeigen die Sulfatreduzierer Präferenzen für bestimmte Kohlenstoff-Quellen? Wie hoch ist das Mineralisierungs-Potential und die „Substrat-Affinität“? Was sind die wichtigsten Steuergrößen hierfür? Wie behauptet sich die Sulfatreduktion gegenüber anderen anaeroben Abbauprozessen?

2 UNTERSUCHUNGSOBJEKTE UND METHODEN

2.1 UNTERSUCHUNGSGBIETE

Die Freiland-Untersuchungen beziehen sich ausschließlich auf Sedimente der Ostsee. Dabei wurden zwei Standorte im Eulitoral der südwestlichen Ostsee („Fährdorf“ und „Hiddensee K“) sowie zwei Standorte im Gotland-Tief der zentralen Ostsee („Helcom-Station“ und „Alkor-Station“) ausgewählt. Die verschiedenen Messungen an Sedimenten dieser Standorte beschränkten sich auf die obersten 10-15 cm im Eulitoral bzw. die obersten 20-100 cm im Gotland-Tief.

Die beiden Küsten-Standorte sind durch variierende, von der Windrichtung bestimmte Wasserstände gekennzeichnet. Die Salinität wird dort vorwiegend von der Niederschlagsmenge beeinflusst.

2.1.1 Fährdorf

Der Standort „Fährdorf“ befindet sich im Salzhaff der Wismarer Bucht 50m westlich des Dammes, der die Insel Poel mit dem Festland verbindet, nahe der Ortschaft Fährdorf (Abbildung 1).

Wasserstand und Salinität schwankten in den Jahren 1992-1994 zwischen 0 und 25 cm bzw. zwischen 11 und 15 ‰. Das Sediment ist mit einer mittleren Korngröße von 120-190 µm dem feinen bis sehr feinem Sand zuzuordnen und wies in den obersten Zentimetern einen dementsprechend hohen Wassergehalt auf. Die hohe Konzentration organischer Substanz im obersten Zentimeter des Sedimentes (über 10%) war v.a. auf den Eintrag an terrestrischer Pflanzensubstanz zurückzuführen (Tabelle 1).

In den Frühjahrs- und Sommermonaten bildete sich eine Diatomeen-Schicht verstärkt aus, die durch Bioturbation der teilweise massenhaft auftretende *Corophium volutator* (Juni 1992) und *Nereis sp.* in das Sediment eingearbeitet wurde.

2.1.2 Hiddensee „K“

Der Standort Hiddensee „K“ liegt in einer typischen Boddenlandschaft am östlichen, Rügen zugewandten Küstensaum der Hiddensee vorgelagerten kleinen „Fährinsel“ (Abbildung 1).

Der Wasserstand variierte hier noch stärker als am Standort Fährdorf (2-50 cm) und die Salinität lag im Untersuchungszeitraum zwischen 6 und 12 ‰. Beim Sediment handelt es sich um feinen bis mittleren Sand (mittlere Korngröße 180-280 μm), der Wassergehalt und die Konzentration organischer Substanz im obersten Zentimeter betragen 56% bzw. 6 ‰.

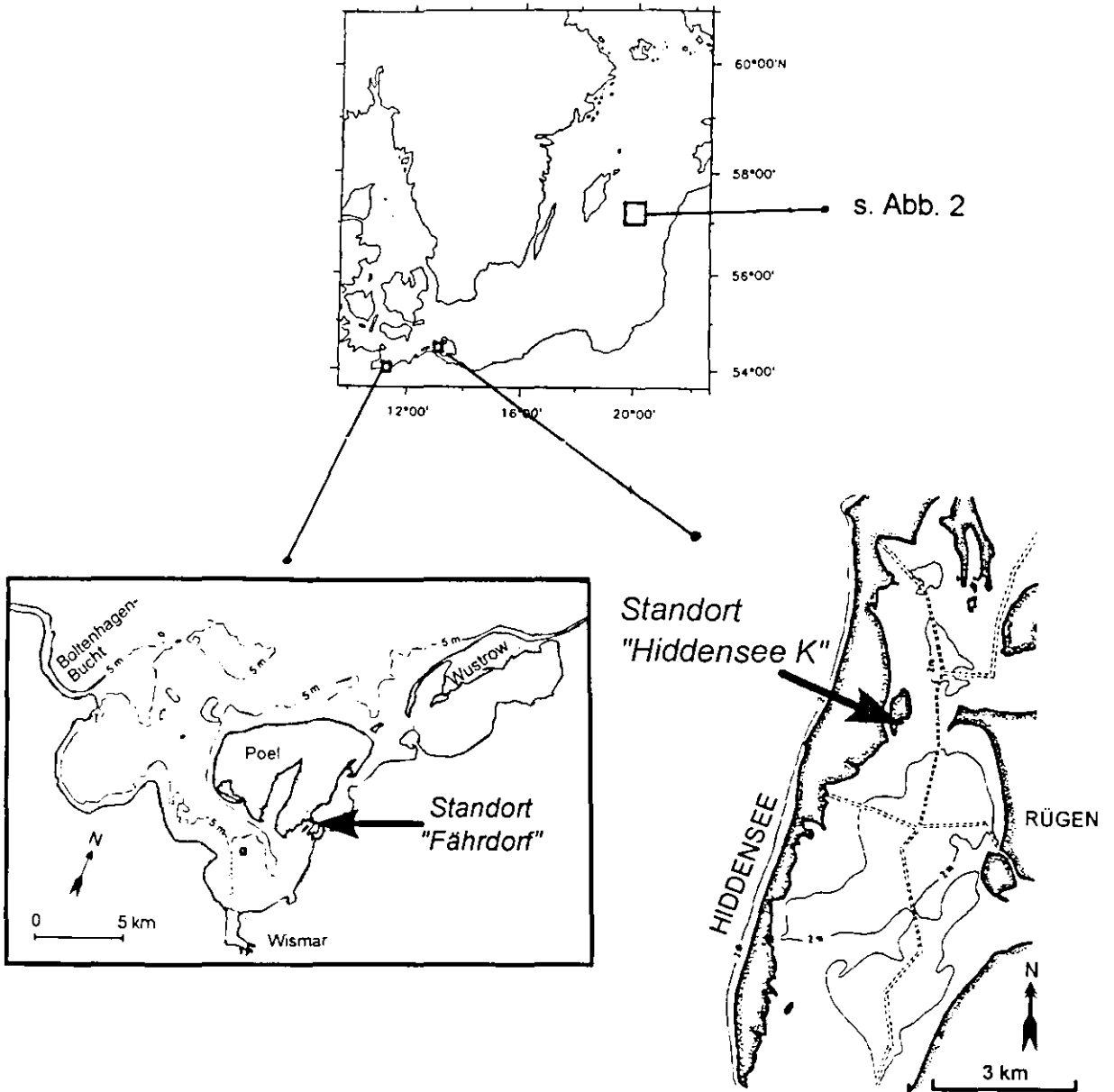


Abbildung 1: Untersuchungsgebiete „Fährdorf“ und „Hiddensee K“.

Im Gegensatz zum Standort Fährdorf bildete sich hier im Sommer ein Sulfuretum aus, welches durch räumlich-zeitliche Dominanz-Muster verschiedener am Schwefelkreislauf beteiligter Bakterien (schwefeloxidierende und sulfatreduzierende Bakterien) gekennzeichnet ist. Makrofauna trat nur sehr vereinzelt auf und Bioturbation spielte in diesem Gebiet kaum eine Rolle.

*Tabelle 1: Wassergehalt und organischer Gehalt in den Sedimenten der untersuchten Küsten-Standorte in verschiedenen Sedimenthorizonten. TG=Trockengewicht, FG=Feuchtgewicht. *Daten aus dem BMFT-Projekt „DYSMON“*

Sed.-tiefe	Fährdorf				Hiddensee K			
	Org. Substanz [%TG]		Wassergehalt [%FG]		Org. Substanz [%TG]		Wassergehalt [%FG]	
	*		*		*		*	
0-1 cm	10,2	10,5	76,2	79,6	5,9	5,7	56,2	55,3
1-2 cm	7,7	7,9	61,7	72,7	3,1	3,6	43,8	45,8
2-3 cm	4,1	5,2	41,5	53,1	2,6	3,1	34,6	32,8
3-4 cm	2,9	3,8	35,1	43,1	2,5	2,6	31,3	32,1
4-6 cm	3,6	3,2	32,6	38,4	2,0	1,9	24,6	26,6
6-8 cm	2,9	2,9	32,2	36,7	1,9	1,7	27,7	25,3
8-10 cm	3,1	2,8	31,1	35,1	1,8	1,7	25,2	23,8
10-15 cm	3,0	2,8	29,5	32,9	1,6	1,7	21,9	21,9
15-20 cm	2,6	2,8	24,4	27,5	1,7	1,7	24,9	21,1

2.1.3 Gotland-Tief

Die Entnahme von Sediment-Proben während zweier Ausfahrten in die östliche Gotland-See zum Gotland-Becken gestattete einen Vergleich der potentiellen Steuergrößen dissimilatorischer Sulfatreduktion zwischen den Küsten-Sedimenten und den Sedimenten in tieferen Meeresgebieten der Ostsee. Ende April 1993 wurde der im folgenden als „Alkor-Station“ bezeichnete Standort (57°22,6' N, 20°7,1' E) und Anfang Mai 1994 zusätzlich der im folgenden als „Helcom-Station“ bezeichnete Standort (57°21,8' N, 20°4,1' E) beprobt (Abbildung 2).

Im Gegensatz zum Eulitoral findet man im Gotland-Tief relativ konstante Randbedingungen vor. Kurzfristige Temperatur- und Salinitäts-induzierte Beeinflussungen auf die mikrobielle Aktivität können vernachlässigt werden, da die Temperatur bei nahezu konstant 5°C und die Salinität bei 12-13 ‰ liegt. Im Januar 1993 und Februar/März 1994,

jeweils wenige Wochen vor den Probennahmen, fand ein Tiefenwasser-Austausch statt, der zu einer geringfügigen Zunahme der Salinität und zu einem Verschwinden des Schwefelwasserstoffs bei gleichzeitigem Anstieg der Sauerstoff-Konzentration auf 2 mg l^{-1} im April 1993 und auf $4,6 \text{ mg l}^{-1}$ im Mai 1994 führte (K. Gocke, pers. Mitteilung). Bis auf kurze Wasser-Einschübe herrschten im gesamten Zeitraum von 1979-1993 sauerstofffreie Zustände im Gotland-Tief vor, und die H_2S -Konzentration stieg bis auf über $80 \text{ }\mu\text{M}$ an (Dryssen & Kremling, 1990). Daher spiegeln die Probenentnahme-Termine der Jahre 1993/94 eine Ausnahme-Situation wider.

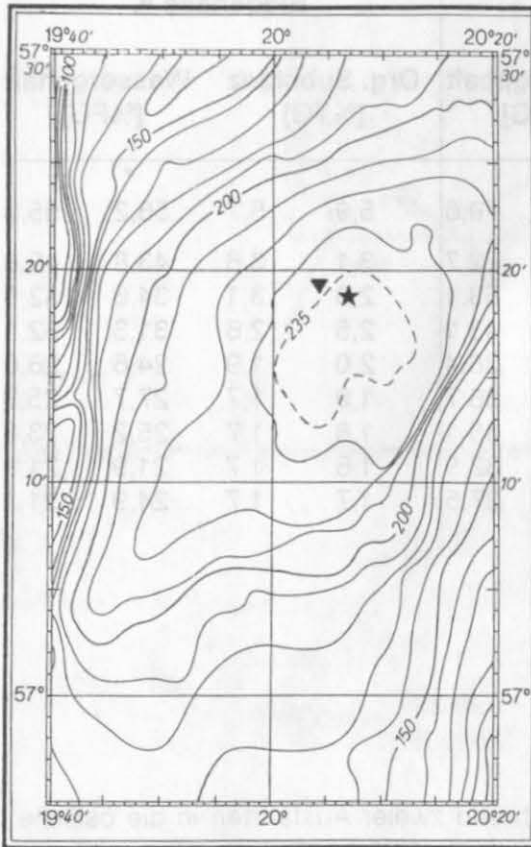


Abbildung 2: Gotland-Tief. Dreieck: „Helcom-Station“, Stern: „Alkor-Station“.

Sechs bis zehn nebeneinander angeordnete, 20 cm lange Sedimentsäulen wurden aus einer mit Pflöcken markierten Fläche von 2 m^2 direkt mit Plexiglas-Stechrohren (Länge: 30 cm; Innendurchmesser: 5 cm) ausgestochen. Parallel wurden über die Sedimenttiefe in 0,5 oder 1 cm Abständen Redox- und pH-Messungen durchgeführt (s. 2.4) sowie die Salinität mit einem Refraktometer und die Wasser- und Sediment-Temperatur mit einer Temperatur-Sonde gemessen.

Der Haupteintrag an organischem Material erfolgt durch die Sedimentation der in der euphotischen Zone produzierten reduzierten Kohlenstoff-Verbindungen. Die Topographie des Meeresbodens im Gotland-Tief ist wahrscheinlich durch diverse Rinnen charakterisiert und weist eine große Heterogenität hinsichtlich der Sedimentation organischen Materials auf (Niemistö & Voipio, 1974).

2.2 PROBENNAHME

2.2.1 Küsten-Standorte

Eine Sediment-Entnahme von den Standorten Fährdorf und Hiddensee „K“ erfolgte während des Untersuchungs-Zeitraums von 1992-1994 mehrere Male im Jahr.

Da weitere Untersuchungen vor Ort nicht stattfinden konnten, wurden die Sedimentkerne in einer Kühlbox bei 0-5 °C nach Kiel zum IfM transportiert, wo nach 6-18 h weitere Untersuchungen erfolgten, die im folgenden als „*in-situ*-“ bzw. „Freiland-Untersuchungen“ bezeichnet werden.

Für Experimente wurden entweder Sedimentkerne aus dem Probennahme-Areal verwendet oder es wurden größere Sedimentmengen den benachbarten Flächen mit einem manuellen Kastengreifer entnommen und unter Vermeidung von Umschichtungen in Wannen überführt.

2.2.2 Gotland-Tief

Während der Ausfahrten in die Gotland-See wurden Sedimentkerne mit 100 bzw. 150 cm langen am Rumohr-Lot befestigten Stechrohren (Innendurchmesser: 10 cm) genommen. Bei einer Fiergeschwindigkeit von $0,5 \text{ ms}^{-1}$ und ohne zusätzliches Bleigewicht erhielt man Sedimentkerne mit einer Länge von 70 bzw. 110 cm.

Redox- und pH-Messungen (2.6.1) wurden sofort durchgeführt, anschließend wurden die Proben für die Bestimmung der Sulfatreduktions-Raten (2.9.1) und für die Porenwasser-Analytik (2.5.3 bis 2.5.7) genommen. Proben für ^{14}C -Mineralisierungsmessungen (2.10.1), für die Bestimmung der Abundanz Sulfat-reduzierender Bakterien (2.6) sowie für weitere Messungen der Sulfatreduktions-Raten stammten aus einem zweiten Kern.

Ein Teil der Untersuchungen (H_2S -Bestimmung, Inkubation mit $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ und ^{14}C -markierten Kohlenstoff-Quellen, Porenwassergewinnung, Keimzahl-Bestimmung Sulfat-reduzierender Bakterien (MPN)) fand sofort nach der Probennahme in den Labors der „F.S. Alkor“ statt, die Destillation der fixierten ^{35}S -markierten Proben sowie die chromatographischen Messungen des bei -20 °C gelagerten Porenwassers wurden im IfM durchgeführt.

2.3 FELDEXPERIMENT - KÜNSTLICHE ANOXIE

Durch die Schaffung künstlicher Anoxie-Zustände im Untersuchungsgebiet „Hiddensee K“ sollte untersucht werden, inwieweit unterschiedliche Redox- und H_2S -Bedingungen die dissimilatorische Sulfatreduktion und deren Beteiligung am Abbau organischer Substanz beeinflussen können. Zu diesem Zweck wurden im Sommer 1993 Sediment-Flächen von 1m^2 mit einer lichtundurchlässigen Folie abgedeckt. Physikalische und

chemische Parameter sowie Sulfatreduktions-Raten wurden vor Auflegen der Folien und nach vier Monaten am bedeckten Sediment und unter unbedeckten Kontrollflächen durchgeführt.

2.4 EXPERIMENTE MIT SEDIMENT-MIKROKOSMEN

Aufgrund der vielen sich gegenseitig beeinflussenden Variablen waren eindeutige Schlußfolgerungen aus dem Einfluß potentieller Steuergrößen der dissimilatorischen Sulfatreduktion allein aus Freiland-Untersuchungen nicht zu erwarten. Deshalb mußten zusätzlich experimentelle Ansätze konzipiert werden. Diese waren so angelegt, daß die wichtigsten Steuergrößen für die dissimilatorische Sulfatreduktion und die Mineralisierung organischen Kohlenstoffs durch Sulfat-reduzierende Bakterien kontrolliert werden konnten. Eine zentrale Stellung nahm dabei die Regelung des Redoxpotentials ein.

2.4.1 Herstellung kontrollierter Sediment-Mikrokosmen

Für die Herstellung von Sediment-Suspensionen wurde die oberste 5 cm-Sediment-Schicht des Standortes Fährdorf verwendet. Dieses weist im Vergleich zum Hiddensee-Sediment eine größere Homogenität hinsichtlich der Korngrößenverteilung auf.

Das Sediment wurde mit Standortwasser 1:1 gemischt. Die resultierende Suspension wurde zwecks Ausschluß der Makrofauna durch ein 1mm-Sieb gesiebt und mit abgesägten Spritzen wurden 60 cm³ in kleine Erlenmeyer-Kolben überführt.

2.4.2 Hälterung der Sediment-Mikrokosmen

Drei verschiedene Hälterungsbedingungen wurden für die Sediment-Suspensionen gewählt:

- 200 bis 300 mV (im folgenden als oxisch bezeichnet):
Um diesen Bereich einzustellen, mußten die Sediment-Suspensionen auf einem Schüttler mit 100 Umdrehungen min⁻¹ geschüttelt werden. Die Erlenmeyer-Kolben wurden mit luftdurchlässigen Steri-Stopfen abgeschlossen und erreichten nach 12 Stunden ein Redoxpotential über 200 mV. Eine Luftspülung der Sediment-Suspensionen mit Preßluft genügte nicht für die Einstellung auf ein positives Redoxpotential über 200 mV.
- -50 bis 50 mV (im folgenden als suboxisch bezeichnet):

In diesem Bereich war die Einstellung des Redoxpotentials am schwierigsten. Unterschiedlich geregelte Luftspülungen bzw. Schüttelfrequenzen ergaben nie Werte unter 50 mV. Die Erlenmeyer-Kolben wurden mit luftdurchlässigen Steri-Stopfen geschlossen. Nach 48 Stunden stellte sich der angestrebte Redoxbereich ohne Behandlung ein. Allerdings bildete sich ein Eh-Gradient aus (zu erkennen an einer oberen braunen und einer unteren schwarzen Schicht), der mit der Redoxsonde nicht genügend aufgelöst werden konnte. In einigen schmalen Erlenmeyer-Kolben konnte das Redoxpotential bestimmt werden. Es betrug an der Sedimentoberfläche zwischen 55 und 95 mV und über dem Kolben-Boden -50 bis -135 mV.

- -200 bis -300 mV (im folgenden als anoxisch bezeichnet):

Die Erlenmeyer-Kolben wurden 10 Minuten über eine Kanüle mit Argon begast (Hungate-Technik) und anschließend mit einem Viton-Stopfen luftdicht abgeschlossen. Nach 24 Stunden stellte sich ein Redoxpotential von unter -200 mV ein.

Von jedem Redoxpotential-Ansatz wurden drei Parallelen hergestellt. Alle Erlenmeyer-Kolben wurden zwei Wochen bei 18°C in einem temperaturkonstanten Raum gehältert. Probenahmen erfolgten unverzüglich nach Herstellung der Sediment-Suspensionen (zum Zeitpunkt „T₀“) und nach zwei Wochen Hälterung (oxisch, suboxisch, anoxisch).

Gemessen wurden

- Redoxpotential
- SO₄²⁻-Konzentration
- Sulfatreduktionsraten
- Kinetik der Mineralisierung und Inkorporation von ¹⁴C-markiertem Acetat, Laktat und Benzoat
- Konzentration freier Aminosäuren und Fettsäuren

2.4.3 Aufsalzungsversuche - Einfluß von Salinität und SO₄²⁻-Konzentration

Mit weiteren, anoxisch gehälterten Sediment-Suspensionen wurden Aufsalzungsversuche durchgeführt, um Salinitäts- und Sulfat-Einflüsse auf die dissimilatorische Sulfatreduktion und Mineralisierung organischen Kohlenstoffs zu untersuchen. Den Sediment-Suspensionen wurden vor der Hälterung folgende Zusätze zugefügt:

1. NaCl (bis zu einer Konzentration von ca. 32‰)
2. SO₄²⁻ (bis zu einer Konzentration von ca. 50 mM)
3. NaCl und SO₄²⁻ (bis zu einer Konzentration von 32‰)
4. Meersalz (bis zu einer Konzentration von 35‰)

Es wurden jeweils 3 Parallelansätze hergestellt.

HPLC-Analysen von Meersalz-Lösungen ergaben, daß diese hohe Konzentrationen an freien Fettsäuren enthielten. Die Sediment-Suspensionen mit Meersalz-Zusatz konnten folglich nicht zur Beurteilung des Salzeinflusses hinzugezogen werden, da hier mit einer größeren Beeinflussung des verfügbaren organischen Materials gerechnet werden mußte.

2.4.4 Hypertrophierung mit Glukose

Um den Einfluß zusätzlichen organischen Materials auf die dissimilatorische Sulfatreduktion zu überprüfen, wurden weiteren, unterschiedlich gehälterten Sediment-Suspensionen (s. 2.3.1 und 2.3.2) 50 mg Glukose zugesetzt. Bei einem Wassergehalt der Sediment-Suspensionen von 83 % (=50 cm³ Wasser) ergab sich eine Glukose-Konzentration von 5 mM.

Ferner wurden freie Aminosäuren und Fettsäuren gemessen, um in den jeweiligen Redoxpotential-Bereichen bevorzugte Abbauewege nachzuvollziehen.

2.5 EXPERIMENTE MIT GEL-STABILISIERTEN (AGAR-) SYSTEMEN

In Gel-stabilisierten Systemen beschränken sich die Austauschprozesse, die in natürlichen Sedimenten meist schwer zu beschreiben sind, auf einfache Diffusionsprozesse. Agar wurde hier als gelierendes Agens verwendet, weil es den natürlichen Sedimenten in den Diffusions-Eigenschaften ähnelt, denn die Polysaccharide des Agars verbinden sich in einem losen Netz durch Wasserstoff-Brücken, die dadurch ein „Höhlsystem“ bilden. Diffundierende Moleküle können somit nicht den direkten Diffusionsweg beschreiten, ähnlich wie im Lückensystem der Sedimente (Koch, 1990). Agar-Systeme dienen zur Einstellung von H₂S-(Redox-)Gradienten, in denen ihr Einfluß auf die dissimilatorische Sulfatreduktion natürlicher Bakterien-Populationen untersucht wurde. Das Prinzip des Versuchs-Aufbaus bestand in der Verwendung eines festen Depot-Agars, aus dem H₂S in den überliegenden halbfesten Agar diffundierte.

Die Vorgehensweise sowie die verwendeten Agar- und H₂S-Konzentrationen entsprachen denen zur Herstellung des J₂-Mediums für marine *Beggiatoa* spp. (Nelson *et al.*, 1986). Das verwendete Basis-Medium, die Vitamin-Lösungen, die Spurenelement-Lösung, die Resazurin-Lösung (zur Kontrolle des Gradienten) und der Carbonatpuffer wurden aus der Herstellung des in 2.7.1 beschriebenen Basis-Mediums entnommen. Der

Depot-Agar (15 g l⁻¹ Basis-Medium), der halbfeste Agar (2.5 g l⁻¹ Basis-Medium), Steri-Stopfen, große Reagenzgläser (3 cm Innendurchmesser), 20 cm³ Na₂S-Lösung (30 g l⁻¹, unter N₂) und der Carbonatpuffer (unter CO₂) wurden 20 Minuten autoklaviert. Nachdem 10 cm³ der Na₂S-Lösung, 2 cm³ NaHCO₃ und 1 cm³ Spurenelement-Lösung zu einem Liter Depot-Agar gegeben wurde, erfolgte die Überführung in die Reagenzgläser (1/4 Depot-Agar, 2/4 halbfester Agar, 1/4 Luft). Einem Liter halbfesten Agar wurden anschließend die Vitamin-Lösungen (jeweils 1 cm³), Carbonatpuffer (2 cm³), die Spurenelement-Lösung (1 cm³) und die Resazurin-Lösung zugegeben. Nach Zugabe des halbfesten Agars auf den Depot-Agar wurden die mit Steri-Stopfen versehenen Reagenzgläser zur Einstellung des Gradienten zwei bis drei Tage stehen gelassen.

Sobald sich der Gradient einstellte, d.h. wenn anhand der Resazurin-Färbung keine vertikale Verschiebung der O₂/H₂S-Grenzschicht mehr festgestellt werden konnte, wurden 1,5 cm³ Sediment-Suspensionen (1:1-Mischung aus Sediment und Standort-Wasser) der Untersuchungsgebiete aus jeweils zwei Sedimenttiefen gleichmäßig mit Hilfe eines Mikromanipulators und einer Spritze über eine Kanüle in die obersten fünf Zentimeter des halbfesten Agars injiziert. Redoxpotential- und O₂-Messungen (2.6.1 und 2.6.2) an den Duplikaten eines jeden Ansatzes fanden jeweils vor den Probennahmen zwei Tage und zwei Wochen nach Beimpfen der Agar-Systeme statt. Probennahmen für Messungen von Sulfatreduktions-Raten erfolgten mit einer abgeschnittenen Spritze, mit der Agar-Kerne gewonnen wurden. Für Bestimmungen der Sulfat-, Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen wurden mit einer Spritze und einer Kanüle aus der O₂/H₂S-Grenzschicht (ca. 0,5 cm unter der Oberfläche) und aus der H₂S-Schicht (4-5 cm unter der Oberfläche) 2,5 cm³ halbfester Agar gezogen.

Auf die Oberfläche des Agars von jeweils zwei Parallelen der verschiedenen Ansätze wurden zusätzlich 50 mg Cellulose-Pulver (reinst, SIGMA) gleichmäßig verteilt.

2.6 MESSUNG PHYSIKALISCH-CHEMISCHER PARAMETER

2.6.1 Redox- (Eh-) und pH-Messungen

Redox- (Eh-) und pH-Werte im Sediment wurden mit einem mV/pH-Meßgerät (WTW) und Redox- bzw. pH-Einstich-Elektroden (von der Firma INGOLD, später METTLER-TOLEDO, und von Dr. van Gemerden, Universität Groningen) gemessen.

Die Eh- und pH-Messungen an Sedimentkernen erfolgten am Stativ in Abständen von 0,5 oder 1 cm, beginnend mit dem überstehenden Wasser bzw. der Sedimentoberfläche. Die angegebenen Eh- und pH-Werte der einzelnen Sediment-Horizonte stellen den Me-

dianwert aus jeweils zwei Messungen dar. Konstante Meßwerte stellten sich nach ungefähr zwei Minuten bei der Redox-Elektrode und nach drei bis vier Minuten bei der pH-Elektrode ein. Das Eigenpotential der Redox-Elektrode (U_E , Referenz: Standard-Wasserstoff-Elektrode) betrug nach Hersteller-Angaben bei 15 °C meistens 250 mV und mußte vom angezeigten Wert abgezogen werden. Die Redox-Elektrode wurde vor ihrem Einsatz eine Stunde mit einer Ascorbinsäure-Lösung von ihrer Oxidschicht befreit, um die Trägheit der Messung zu verringern.

2.6.2 Bestimmung der O_2 -Konzentration im Porenwasser

Um den Einfluß von Sauerstoff auf die dissimilatorische Sulfatreduktion zu untersuchen, wurden in den Experimenten mit Gel-stabilisierten Systemen (2.5) und in einigen Freiland-Untersuchungen amperometrische Sauerstoff-Messungen durchgeführt.

Die an einem Stativ befestigte Sauerstoff-Elektrode mit eingebauter Referenz-Elektrode (DIAMOND ELECTRONICS) wurde hierzu mit Hilfe eines Mikromanipulators in Abständen von 0,25 bis 0,5 mm in das Sediment vorangetrieben. Ein Pico-Amperemeter (Bau: V. Martens, IfM) diente zur Messung des Stroms und ein Kompensations-Schreiber zur Aufzeichnung der Signale. Gemessen wurde die Sauerstoff-Sättigung, die unter Berücksichtigung der Temperatur und Salinität in die Sauerstoff-Konzentration umgerechnet wurde. Eine mit Argon begaste und mit Na-Sulfit (100 μ M) reduzierte NaCl-Lösung (15‰) wurde zur Nullpunkt-Einstellung und eine mit Luft-Sauerstoff gesättigte NaCl-Lösung zur 100%-Einstellung herangezogen. Nach jeweils vier Minuten stellte sich ein konstanter Meßwert ein.

2.6.3 Porenwasser-Gewinnung

Für die Bestimmung der Konzentrationen von H_2S und SO_4^{2-} sowie von freien Aminosäuren und Fettsäuren im Porenwasser wurde das Sediment aus den Stechrohren mit Hilfe eines Schiebers und eines in den Innendurchmesser der Stechrohre passenden Gummistopfens vorsichtig in Zentimeter-Segmenten herausgeschoben, so daß eine möglichst gleichmäßige Verschiebung des Sediments und des Porenwassers erfolgte. Die Segmente wurden in Zentrifugenröhrchen überführt und bei 3500 g und 0°C 20 Minuten zentrifugiert. Für H_2S -Bestimmungen wurden die Röhrchen randvoll mit Sediment gefüllt und mit einem Viton-Stopfen luftdicht abgeschlossen. Nach der Zentrifugation überstehendes Wasser wurde in mit 3M HCl und suprareinem Wasser (MILLIPORE, Milli-Q-UF-water system) gespülte Probengefäße (Eppendorf-caps) pipettiert und eingefroren (-80 °C), bzw. für eine sofortige Messung verwendet.

2.6.4 Ionen-chromatographische Bestimmung der SO_4^{2-} -Konzentration

Das Sulfat-Ion ist der wichtigste Elektronen-Akzeptor und damit potentielle Steuergröße der dissimilatorischen Sulfatreduktion. Weiterhin war eine exakte Bestimmung der SO_4^{2-} -Konzentration im Porenwasser notwendig, um die aus der ^{35}S -Methode erhaltenen radioaktiven Zerfallsraten in Sulfatreduktions-Raten umzurechnen (2.9.1.2). Eine gravimetrische Bestimmung (nach Bather & Riley, 1954) war wegen der geringen Proben-Volumina nicht sinnvoll. Daher wurde eine ionenchromatographische Messung (HPLC-High Performance Liquid Chromatography) mit Hilfe einer Einsäulen-Technik (SCIC-Single Column Ion Chromatography, mod. nach Gjerde *et al.*, 1980) vorgezogen.

Die Porenwasser-Proben der Küsten-Standorte und aus dem Gotland-Tief mußten zunächst 1:30 bzw. 1:20 mit Milli-Q-Wasser verdünnt werden, um eine Trennung der Sulfat-Ionen von anderen Anionen zu gewährleisten. Zur Herstellung des HPLC-Eluenten wurde die fertige Lösung (5 mM Kalium-Phtalat-/3 mM Borat-Puffer, pH 4,9, in Milli-Q-Wasser) durch PTFE-Filter (Porendurchmesser: 0,2 μm) filtriert. Nach Injektion von 0,2 cm^3 Meßlösung wurden die Sulfat-Ionen isokratisch (HPLC-Pumpe: KONTRON) mit einer Eluenten-Flußrate von 2 $\text{cm}^3 \text{min}^{-1}$ an einer Anionen-Säule (WESCAN, 250 x 4,6 mm, Silica-Matrix) bei 40°C getrennt. Der Eluent wurde dabei ständig mit Helium (He 5.0) begast.

Die Messung erfolgte mit einem Leitfähigkeits-Detektor (WESCAN) und einem PC-Integrations-Programm (KONTRON). Vor jeder Meßreihe wurde eine Eichung mit drei Na_2SO_4 -Lösungen (0,1, 0,5 und 1 mM) durchgeführt, die eine lineare Regressions-Gerade mit einer Korrelation von $r=0,96$ bis $r=0,99$ ergab.

2.6.5 Bestimmung der H_2S -Konzentration

Für die Bestimmung der H_2S -Konzentration im Porenwasser wurde eine auf der Methylenblau-Färbung basierende Methode (modifiziert nach Cline, 1969) verwendet.

Eine proportionale Verringerung der Reagenzien-Volumina im Verhältnis zu den Proben-Volumina der Original-Vorschrift erlaubte eine Messung von kleinen Proben-Mengen. Das Mischreagenz wurde durch Lösen von 2 g N,N-Dimethyl-p-Phenylendiamin-Sulfat und 3 g $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ in 50 cm^3 50% -iger Salzsäure (v/v) hergestellt. 20 Minuten nach Zugabe von 80 μl dieses Reagenzes auf einen Milliliter in 5% Zn-Acetat fixierter Probe (1:1) wurde die Meßlösung auf insgesamt 1:50 verdünnt und mit einem Spektralphotometer (BECKMANN) in einer Halbmikro-Küvette bei einer Wellenlänge von 670 nm gemessen. Eine Eichung über den Konzentrations-Bereich von 100 bis 1000 μM wurde mit vier Na_2S -Lösungen verschiedener Konzentration unter Verwendung von

Argon-begastem *aqua dest.* durchgeführt. Die resultierende Regressionsgerade hatte einen Korrelationskoeffizienten von $r=0,98$.

2.6.6 Bestimmung der Konzentration freier Aminosäuren

Freie Aminosäuren wurden nach einer Vorsäulen-Derivatisierung als Phenylthio-carbamate (PTC) gemessen. Die einzelnen Aminosäuren wurden dann nach HPLC-Trennung photometrisch bei 254 nm erfaßt (Bidlingmeyer *et al.*, 1984). Diese Methode hatte gegenüber der verbreiteten, aber weitgehend nur automatisiert einsetzbaren Derivatisierung mit *o*-Phtaldialdehyd den Vorteil, daß die Derivate länger stabil blieben und sowohl primäre als auch sekundäre Aminosäuren erfaßt werden konnten. Alle wässrigen Lösungen wurden mit suprareinem Wasser (Milli-Q-UF-water system, MILLIPORE) hergestellt und alle Proben- und Meßgefäße mit 3N HCl und Milli-Q-Wasser gespült.

2.6.6.1 Derivatisierung

Lyophilisate der Proben ($0.2 - 1.0 \text{ cm}^3$) wurden mit 20 - 100 μl einer EtOH-H₂O-Triethylamin(TEA)-Lösung (2:2:1) aufgenommen, auf dem Whirl-Mix geschüttelt und erneut gefriergetrocknet (12-24h). Anschließend wurden mit 20 μl des Reaktionsgemisches EtOH-TEA-H₂O-Phenylisothiocyanat (PITC) (7:1:1:1) bei 20°C die PTC-Derivate gebildet. Nach einem weiteren Gefriertrocknungsschritt blieben die Derivate bei -80°C mindestens 14 Tage lang stabil. Zur Messung wurde die derivatisierte Probe mit 100 μl Na-Acetat-Puffer aufgenommen.

2.6.6.2 HPLC-Messung

Als günstigste Eluenten erwiesen sich

A: 0.14 M Natrium-Acetat-Puffer (0.5 % TEA, pH 6.35) und

B: 60% Acetonitril, 40% Milli-Q-Wasser

Dagegen lieferte ein Eluentengemisch aus Phosphatpuffer und Acetonitril/Phosphatpuffer sowohl bei isokratischer als auch bei Gradienten-Trennung unbefriedigende Trennungsergebnisse .

Die Eluenten wurden vor jeder Meßreihe durch PTFE-Filter filtriert (0,2 μm), im Ultraschallbad 15 Minuten unter Vakuum entgast und während der Messung mit Helium (He 5.0) begast.

Das Einspritzvolumen der membranfiltrierten Proben (0,2 µm) betrug 20 µl.

Zwei verschiedene Eluentenpaare wurden hinsichtlich ihrer Trennleistung mit einer C₁₈-Säule überprüft: Phosphatpuffer und Acetonitril (Fürst *et al.*, 1990) und NaAcetat-Puffer und Acetonitril (Bidlingmeyer *et al.*, 1984). Beide Eluentenpaare und aus der Literatur übernommenen Gradienten erwiesen sich als unbrauchbar unter den Randbedingungen der verwendeten HPLC. Für die Trennung von PTC-Derivaten auf einer reversed-phase-Säule (250 mm x 4.6 mm, 5 µm, C₁₈) bei 35°C und einer Flußrate von 1 cm³ min⁻¹ wurde daher folgender Gradient entwickelt:

min.	Eluent A	Eluent B	
	% A	% B	
0	90	10	Gradient
7	79	21	
14	72	28	
17	64	36	
23	47	53	
23.2	0	100	Spüllauf
28	0	100	
28.2	90	10	
33	90	10	

Zur Trennung bzw. Messung wurde eine HPLC-Pumpe für binäre Gradienten und ein UV-VIS-Spektralphotometer mit angeschlossenem PC mit Integrations-Programm (KONTRON) benutzt.

2.6.6.3 Identifizierung, Retentionszeiten und Eichung

Zur Identifizierung der Aminosäuren wurden zunächst Einzelstandards hergestellt, derivatisiert und an der HPLC-Anlage gemessen. Zur Eichung, zur Feststellung der Retentionszeiten und zur Entwicklung eines Gradienten dienten Misch-Standards unterschiedlicher Zusammensetzung und Konzentration, deren Stammlösungen (10 und 1 mM) bei -80°C gelagert wurden.

Die Trennung eines Misch-Standards von 15 Aminosäuren lieferte die folgenden Retentionszeiten (Abbildung 3).

Nr.	Aminosäure	min.
1	Hydroxyprolin	7,41
2	Serin	9,18
3	Glycin	9,85
4	Histidin	10,78
5	Threonin	11,75
6	Arginin	11,94
7	Alanin	12,40
8	Prolin	12,61
9	Reagenz	14,52
12	Valin	19,74
13	Methionin	20,82
14	Cystein	22,04
16	Isoleucin	22,83
17	Leucin	23,07
19	Phenylalanin	24,18
20	Lysin	24,63

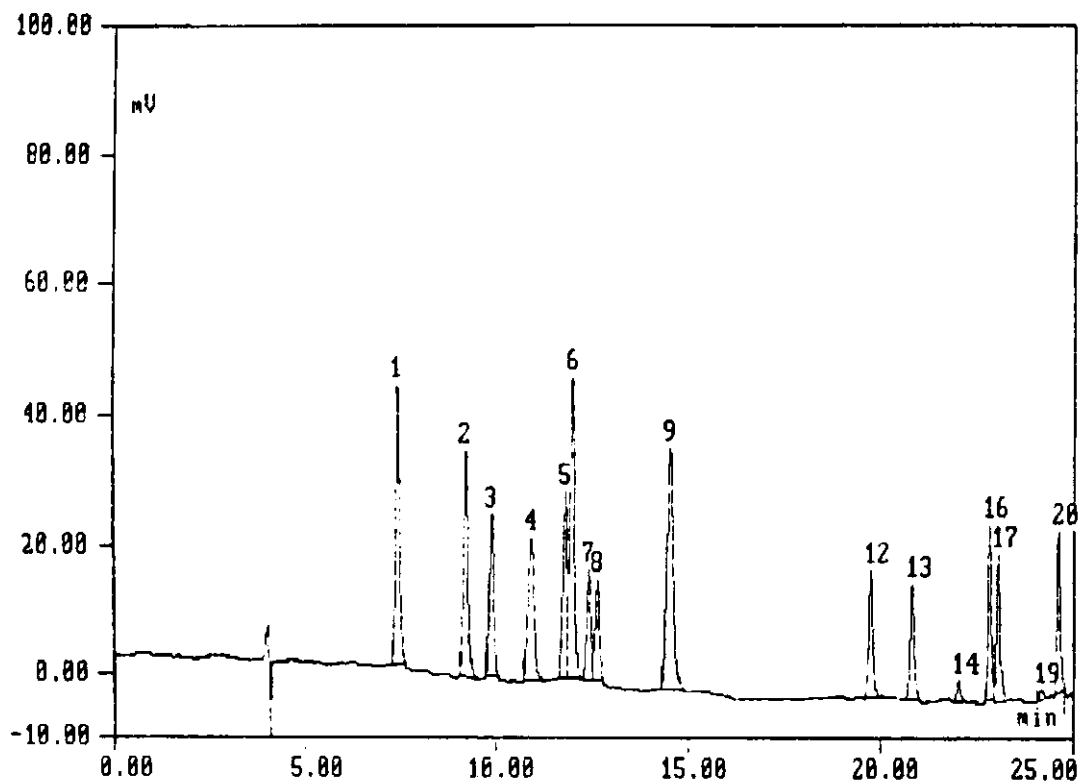


Abbildung 3: Chromatogramm eines Aminosäure-Misch-Standards (Injektionsmenge je Aminosäure: 50 pmol; Aminosäure-Identifizierung: siehe Text).

Eine umfangreiche Eichung mit acht verschiedenen Konzentrationen und jeweils drei Parallelen (5 bis 1000 pmol/20 μ l Derivat, entsprechend 0.5-50 μ M) wurde nach jedem Austauschen der Trennsäule und eine Kontroll-Eichung (vier Konzentrationen) vor jeder Meßreihe durchgeführt. Die Integral-Flächen der Peaks zeigten für alle Aminosäuren eine lineare Konzentrationsabhängigkeit ($r=0.89-0.98$) im ausgewählten Meßbereich.

Die Nachweisgrenze (peak-to-noise-ratio: 3:1) lag bei den meisten Aminosäuren bei 2 bis 5 pmol, bei Cystein und Phenylalanin über 20 pmol.

2.6.6.4 Einfluß der Salzmatrix auf die Messung

Sechs verschiedene Konzentrationen eines Aminosäuren-Misch-Standards (1000, 500, 200, 100, 50, 10 pmol pro Injektion) wurden in Porenwasserproben überführt, derivatisiert und gemessen. Ein Vergleich mit den gleichen Proben ohne internen Standard sowie die gleiche Versuchsanordnung mit einer NaCl-Lösung (15%) sollte Aufschluß über einen eventuellen Effizienz-Verlust durch die Salzmatrix geben.

2.6.6.5 Einfluß der Aufkonzentrierung auf die Messung

Die Aufkonzentrierung mußte quantitativ erfolgen, um den Überschuß an Derivatisierungs-Reagenzien, die störende peaks im Chromatogramm erzeugen, weitgehend zu eliminieren. Deshalb wurden drei verschiedene Arten der Aufkonzentrierung auf ihre Wirksamkeit hin überprüft:

1. unter Vakuum und Erwärmung (40°C),
2. unter N₂-Begasung und Erwärmung (40°C),
3. durch Gefriertrocknung.

Unter Verwendung eines Misch-Standards wurden die resultierenden integrierten Flächen unter den peaks bei den drei Eindampfungsarten, sowie die Flächen unter den Reagenzienpeaks miteinander verglichen.

2.6.7 Bestimmung der Konzentration niederkettiger Fettsäuren

In einer Vorsäulen-Derivatisierung mit 2-Nitrophenylhydrazin (2-NPH; ALDRICH) und 1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl)Carbodiimid Hydrochlorid (EDC; MERCK) als Koppelungsreagenz wurden die Fettsäuren zu Hydrazonium-Ionen umgesetzt. Anschließend wurden diese Derivate über eine C₁₈-Säule mit Hilfe eines Phosphatpuffer-Methanol-

Gradienten nach dem Prinzip der Ionenpaar-Umkehrphasen-Chromatographie getrennt und photometrisch bei 400 nm gemessen. Als Gegen-Ion wurde Tetraethylammoniumbromid (TEAB) eingesetzt (Miwa, 1985; Miwa & Yamamoto, 1990).

2.6.7.1 Derivatisierung

Anfängliche Schwierigkeiten bei der Derivatisierung mit 2-NPH verzögerten die Entwicklung einer zufriedenstellenden Analyseprozedur. Das Derivatisierungsreagenz 2-NPH Hydrochlorid war weder im in- noch im ausländischen Chemikalienhandel zu erhalten. Im eigenen Labor synthetisiertes 2-NPH Hydrochlorid war nicht wasserlöslich genug, um es nach der Originalvorschrift (Miwa, 1985) einzusetzen. Schließlich wurde eine ethanolische Lösung von 2-NPH erfolgreich für die Derivatisierung eingesetzt. Für die Derivatisierung war eine Kontrolle des pH entscheidend. Auch zu diesem Zweck waren Abweichungen von der Originalvorschrift nach Miwa (1985) unumgänglich.

0,1 cm³ Probe wurden mit 0,4 cm³ einer Mischung (1:1) von 0,25 M EDC in Ethanol und 3% Pyridin in Ethanol versetzt und unverzüglich unter Zugabe von 0,2 cm³ 0,02M 2-NPH 60 Minuten bei 25°C derivatisiert. Durch die Zugabe von 0,05 cm³ 15% (w/v) KOH in 80% MeOH und 20% Milli-Q-Wasser (pH 14) und nach 15-minütiger Inkubation bei 60°C erzeugten die ionisierten Hydrazide eine intensive violette Farbe. Nach pH-Korrektur auf pH 7 erfolgte die Injektion von 20 µl Derivatvolumen in die HPLC-Anlage.

2.6.7.2 HPLC-Messung

Zur Elution diente ein Gemisch aus A: Phosphatpuffer (in Milli-Q-Wasser: 195 cm³ 0,005 M KH₂PO₄ + 435 cm³ 0,005 M K₂HPO₄, pH 7) und B: Methanol (MERCK, LiChrosolv Gradient grade). Als Gegen-Ion wurde Tetraethylammoniumbromid gewählt (0,005 M im Methanol und im Phosphatpuffer).

Ein isokratisches Gemisch aus diesen Eluenten führte zu keiner erfolgreichen Trennung von Ameisensäure, Laktat und Essigsäure sowie Buttersäure und Succinat. Mit Hilfe eines Gradienten konnten jedoch die zehn im Misch-Standard verwendeten Fettsäuren getrennt werden (Abbildung 4).

Die Eluenten wurden vor dem Einsatz durch PTFE-Filter (0,2 µm Porenweite) membranfiltriert, anschließend 15 Minuten im Ultraschallbad unter Vakuum entgast und während des Laufes mit Helium (He 5.0) begast.

Gradient zur Trennung der Fettsäuren-Derivate:

min.	%A	%B	
0	100	0	Gradient
4	80	20	
8	75	25	
9	70	30	
14	60	40	
18	50	50	
19	40	60	
20	30	70	Spüllauf
20.2	0	100	
25	0	100	
25.5	100	0	
30	100	0	

Die Flußrate betrug $1,2 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ und die Säulentemperatur 50°C . Die photometrische Messung erfolgte bei 400 nm . Es wurden die gleichen Geräte und Trennsäulen benutzt wie unter 2.6.6.2 beschrieben.

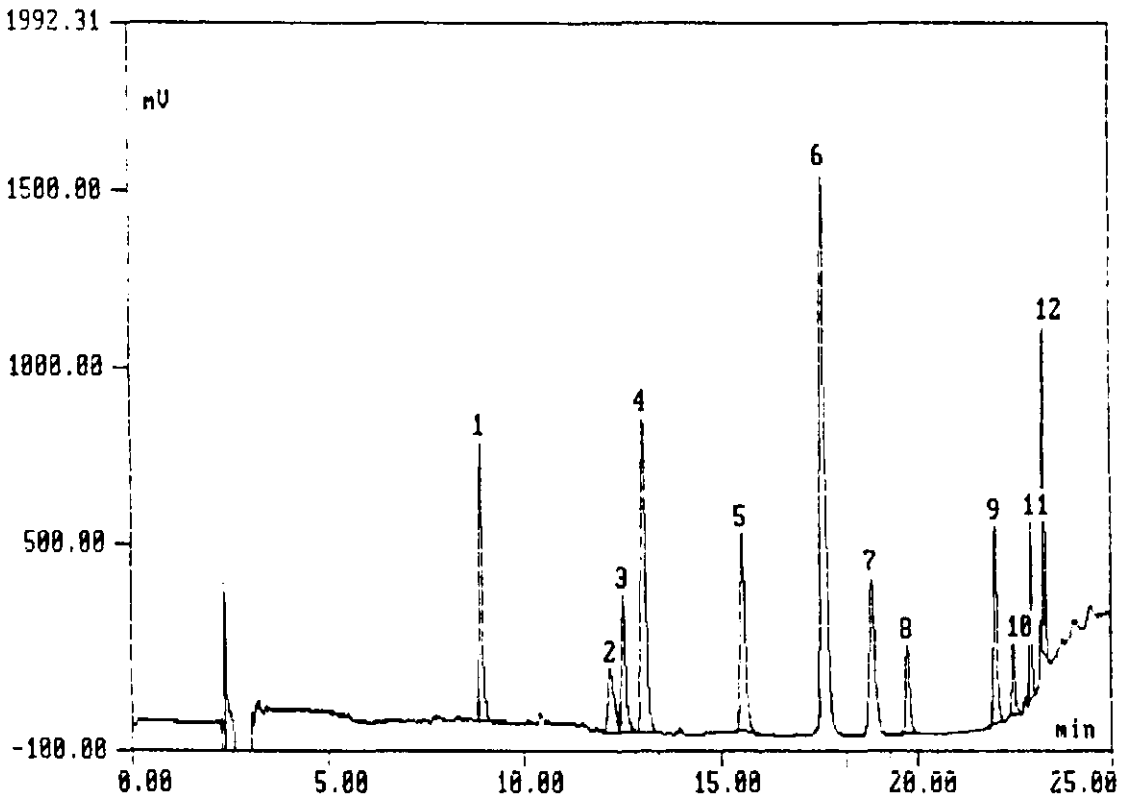


Abbildung 4: Chromatogramm eines Fettsäure-Misch-Standards (Injektionsmenge je Fettsäure: 200 pmol; Fettsäure-Identifizierung: siehe Text).

2.6.7.3 Identifizierung, Retentionszeiten und Eichung

10 verschiedene Fettsäuren wurden für die Herstellung von Einzel- bzw. Misch-Standards verwendet (MERCK, ALLTECH):

Ameisensäure, Succinat, Buttersäure, Buthylelessigsäure, Capronsäure, Essigsäure, Ethyl-Buttersäure, Laktat, Propionsäure, Valeriansäure.

Einzel-Standards wurden derivatisiert, in die HPLC-Anlage injiziert und die relativen Retentionszeiten festgehalten. Durch eine Modifizierung des Gradienten (2.6.7.2) wurde eine befriedigende Trennleistung bewirkt. An einem Misch-Standard ergaben sich somit folgende Retentionszeiten:

Nr.	Fettsäure	min.
1	Reagenz	8,92
2	Ameisensäure	12,21
3	Laktat	12,55
4	Essigsäure	13,06
5	Propionsäure	15,59
6	Reagenz	17,66
7	Buttersäure	18,87
8	Succinat	19,77
9	Valeriansäure	22,04
10	Ethylbuttersäure	22,51
11	Buthylelessigsäure	22,97
12	Capronsäure	23,30

Zur Eichung dienten 10 Konzentrationen eines Misch-Standards der oben aufgeführten Fettsäuren bzw. deren Salze, die sowohl in Milli-Q-Wasser als auch in einer NaCl-Lösung in Milli-Q-Wasser (15%) gelöst wurden. Von beiden Ansätzen wurden Eichgeraden erstellt. Die Nachweisgrenze der untersuchten Fettsäuren war unterschiedlich. Sie bewegte sich zwischen 10 (Acetat) und 100 pmol (Succinat). Die Varianzen der Eichkurven lagen zwischen 0,5 und 5 %.

2.6.7.4 Einfluß der Salzmatrix auf die Messung

Um den Einfluß der Salzmatrix in den Proben auf die Derivatisierungsreaktion zu untersuchen, wurden Misch-Standards verschiedener Konzentrationen auf Porenwasserproben und eine NaCl-Lösung (15%) aufgebracht, derivatisiert und gemessen, und mit den Ergebnissen aus den Messungen der in Milli-Q-Wasser angesetzten Misch-Standards verglichen.

2.6.7.5 Einfluß der Aufkonzentrierung auf die Messung

Erste chromatographische Bestimmungen von Porenwasserproben ergaben, daß die natürlichen Fettsäure-Konzentrationen an der Nachweisgrenze der Methode lagen. Die Proben sollten deshalb vor der Derivatisierung schonend lyophilisiert werden, um eine Detektion der unterhalb von 0.5 µM vorliegenden Fettsäuren zu ermöglichen. Alle niederkettigen Fettsäuren sind flüchtig. Ob und in welchem Ausmaß bei der Lyophilisierung ein Verlust von Fettsäuren in den Proben zu verzeichnen ist, wurde ebenfalls an Misch-Standards in Milli-Q-Wasser, einer NaCl-Lösung und Porenwasserproben untersucht. Alternativ wurde der Einfluß von Stickstoff-Begasung zur Aufkonzentrierung auf die Wiederfundrate untersucht. Der Einfluß der Lyophilisierung und der Stickstoff-Begasung wurde sowohl für die Aufkonzentrierung der Original-Proben als auch für die derivatisierten Proben getrennt bestimmt.

2.7 ABUNDANZEN SULFAT-REDUZIERENDER BAKTERIEN

Keimzahlbestimmungen für Sulfat-reduzierende Bakterien (SRB) erfolgten mittels MPN-(most probable number-) Methode in anaerobem SRB-Flüssigkultur-Medium (Widdel, 1980; Bussmann & Reichardt, 1991). Die MPN-Methode basiert auf der statistischen Auswertung des Bakterien-Wachstums mehrerer Parallelen von Verdünnungsreihen. Die Wachstums-Ereignisse in drei aufeinanderfolgenden Verdünnungsreihen mit ihren jeweiligen Parallel-Ansätzen werden in einer Zahl ausgedrückt, die, multipliziert mit dem Potenz-Betrag der geringsten ausgewählten Verdünnung, die wahrscheinlichste Zellzahl im Inokulum repräsentiert (Reichardt, 1978).

2.7.1 Herstellung von Flüssigkultur-Medien

Kulturmedien für Sulfat-reduzierende Bakterien wurden nach Angaben von Widdel (1980) aus folgenden Teilmedien angesetzt:

1. Basis-(Brackwasser-)Medium:

In einem trichterförmigen 2 l-Glaskolben wurden die unten aufgeführten Salze in *aqua dest.* gelöst. Dieser „Widdel-Kolben“ besaß drei Schraubverschlüsse für die Zugabe weiterer Bestandteile des Mediums und für die Entnahme von Flüssigkeit zur pH-Kontrolle, ferner einen Gummi-Stopfen mit Anschluß-Möglichkeiten für die Zuführung eines N₂/CO₂-Gemisches und eine Glasrohr-Schlauch-Verbindung mit Abfüll-Glocke zum Abfüllen des sterilen Mediums.

Zusammensetzung des Basis-Mediums (Brackwasser-Medium):

	g l ⁻¹
NaCl	13,15
MgCl x 6 H ₂ O	2,05
KCl	0,50
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0,15
KH ₂ PO ₄	0,20
NH ₄ Cl	0,25
Na ₂ SO ₄	3,00

2. Spurenelemente:

	mM
HCl	50,0
H ₃ BO ₃	1,0
MnCl ₂ x 4H ₂ O	0,5
FeCl ₂ x 4H ₂ O	7,5
CoCl ₂ x 6H ₂ O	0,5
NiCl ₂ x 6H ₂ O	0,1
CuCl ₂ x 2H ₂ O	0,1
ZnCl ₂	0,5
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0,2

Nach Lösen des Eisenchlorids in Salzsäure erfolgte die Zugabe der anderen Salze und *aqua dest.*

3. Carbonat-Puffer:

Zur Pufferung des Kultur-Mediums diente eine 1M NaHCO₃-Lösung, die 10 Minuten mit CO₂ zur Sättigung begast wurde.

4. Reduktionsmittel

Um ein für das Wachstum Sulfat-reduzierender Bakterien günstiges Redoxpotential einzustellen, wurde unter Begasung mit N₂/CO₂ eine 0,5 M Stammlösung von Na₂S hergestellt.

5. Redox-Indikator

Als Indikator für Kontaminationen mit Luftsauerstoff wurde eine 1 mM Stammlösung von Resazurin hergestellt, autoklaviert und dem Kultur-Medium bis zur Endkonzentration von 1µM zugegeben.

6. Vitamine

Zwei Vitamin-Lösungen wurden dem Kultur-Medium hinzugefügt:

		mg l ⁻¹
Vitamingemisch (nach Pfennig, 1965)	4-Aminobenzoensäure	40
	D(+)-Biotin	10
	Nikotinsäure	100
	Ca-D(+)-Pantothenat	50
	Pyridoxamindihydrochlorid	150
	Thiaminiumdichlorid	100
Vitamin B₁₂-Lösung	Cyanocobalamin	50

Biotin wurde zunächst in heißem *aqua dest.* gelöst. Nach Abkühlung erfolgte die Zugabe der übrigen Vitamine; Cyanocobalamin wurde in *aqua dest.* gelöst. Beide Lösungen wurden membran-filtriert (0,1 µm Porengröße) und in einer dunklen Flasche kühl aufbewahrt.

7. Kohlenstoff-Quellen

Als Kohlenstoff-Quellen dienten Acetat, Laktat und Benzoat, die als Natrium-Salze bzw. als 50%-ige Na-Laktat-Lösung in 0,2 µm-membran-filtrierten 1 M Stammlösungen dem Kultur-Medium zugefügt wurden.

Teilmedium 1 wurde nach dem Autoklavieren während des Abkühlens mit einem N₂/CO₂-Gemisch (70:30) über einen Tygon-Schlauch begast. Um ein Eindringen von Luftsauerstoff während des Abkühlens zu verhindern, wurden die mit den Teilmedien 3 und 4 gefüllten 100 cm³-Kulturflaschen mit Viton-Stopfen vor dem Autoklavieren zwischen zwei Metallplatten geklemmt, die durch Flügelmuttern und Gewindestangen gegeneinander gedrückt wurden. Die Einzel-Bestandteile wurden nun dem Basis-Medium mit sterilen Glaspipetten in folgenden Mengen hinzugefügt:

Teilmedium	Menge [cm ³]
Spurenelementlösung	1
NaHCO ₃ -Lösung	30
Na ₂ S-Lösung	3
Vitamin-Gemisch	1
Vitamin-B ₁₂ -Lösung	1
alternativ	
Na-Acetat-Lösung	10
Na-Laktat-Lösung	10
Na-Benzoat-Lösung	10

Nach einer pH-Kontrolle und einer eventuellen Korrektur auf pH 7,2 wurde das fertige Kultur-Medium über einen Tygon-Schlauch mit Quetschhahn und Abfüllglocke durch den über der Lösung befindlichen Gasdruck herausgedrückt und in sterile Reagenzgläser (20 cm³) ohne Luftblasen abgefüllt. Die Kulturflaschen wurden mit einem Alu-Schraubverschluß und Gummi-Dichtung luftdicht verschlossen.

2.7.2 Herstellung der MPN-Verdünnungen

Zwei cm³ Sediment bzw. Sediment-Suspension wurden unter Begasung mit einem N₂/CO₂-Gemisch (70:30) in 18 cm³ des oben beschriebenen Kultur-Mediums auf einem Magnetrührer eine Stunde lang gerührt (Busmann & Reichardt, 1991). Ausgehend von dieser Suspension wurden acht Verdünnungsstufen (jeweils 1:10) mit je drei Parallelen in Reagenzgläsern hergestellt.

Nach acht Wochen Dunkel-Inkubation bei 18°C wurden die Wachstums-Ereignisse pro Verdünnungsstufe bestimmt. Als Wachstums-Kriterien dienten Trübung (OD₆₅₀) und H₂S-Bildung (H₂S-Schnelltest nach Cord-Ruwisch, 1985). Die resultierende Keimzahl (MPN) wurde mit Hilfe einer Wahrscheinlichkeits-Tabelle ermittelt (Reichardt, 1978).

2.7.3 Miniaturisierte (Multidisk)-MPN für Sulfat-reduzierende Bakterien

Die konventielle Methode (Widdel, 1980) erwies sich wegen der zahlreichen anaerob durchzuführenden Arbeitsgänge als äußerst zeitraubend und für größere Probenserien nicht praktikabel. Daher wurde ein miniaturisiertes Testsystem auf der Basis einer Multi-disk-Kultur erarbeitet (mod. nach Rowe *et al.*, 1977).

Hierzu wurden Titerplatten mit 8 x 12 Vertiefungen verwendet, deren Volumen jeweils ein cm³ betrug. Das benutzte Kultur-Medium wurde wie unter 2.7.1 beschrieben hergestellt. Als Reduktionsmittel wurde jedoch nicht eine Na₂S-Lösung hinzugefügt, sondern ein cm³ pro Liter Basis-Medium einer membranfiltrierten (0,2 µm Porengröße) Mischlösung aus Thioglycolat und Ascorbinsäure (jeweils 10g *ad* 100 cm³ *aqua dest.*), um bei der Inkubation (s.u.) ein Austreiben des Sulfids als H₂S zu umgehen. Zur Detektion der H₂S-Bildung (als Wachstums-Kriterium, s.u.) wurde zusätzlich ein cm³ einer membranfiltrierten (0,2 µm Porengröße) Eisensulfat-Lösung (10g *ad* 100 cm³ *aqua dest.*) hinzugefügt.

Mit Hilfe einer Pipetten-Dispensette, deren benetzbare Teile autoklaviert waren, wurden 0,9 cm³ Kultur-Medium in die einzelnen Vertiefungen der Titerplatten überführt. Eine Titerplatte diente zur Herstellung von zwei MPN-Ansätzen mit je acht Verdünnungsstufen und je fünf Parallelen. Der ersten Verdünnungsstufe wurden 0,1 cm³ Titer aus einer

Kultur oder einer Sediment-Suspension (2.7.2) zugegeben. Die nachfolgenden Verdünnungen (jeweils 1:10) wurden durch die Überführung mit einer 8-Kanal-Pipette (BRANDT) hergestellt, wobei mittels dreimaligem Ein- und Auspipettierens in der jeweiligen Verdünnungsstufe für eine sorgfältige Durchmischung gesorgt wurde. Nach luftdichtem Abschluß durch den Titerplatten-Deckel wurden die MPN-Ansätze in einem Vakuum-Trockenschrank bei 18°C unter Argon-Atmosphäre acht Wochen inkubiert. Der Luftsauerstoff mußte dabei zunächst dreimal unter Vakuum entfernt und durch Argon ersetzt werden. Um ein Entgasen des Mediums, das zu einer pH- und Redoxpotential-Änderung geführt hätte, zu verhindern, wurden die Titerplatten mittels Flügelmutter und Gewindestangen zwischen zwei Metallplatten gepreßt. Verdünnungen, in denen sich ein schwarzes Präzipitat (FeS) bildete, wurden zur Auswertung (2.7.2) herangezogen.

2.7.4 Sauerstoff-Empfindlichkeit und Wiederfundrate der Multidisk-MPN

Trotz der einfachen Herstellung von Multisk-MPN-Ansätzen war die Verarbeitung in einer Anaeroben-Kammer mit Armschuh-Einsätzen und Sichtfenster unter Formiergas-Atmosphäre hinderlich. Deswegen wurde überprüft, ob die MPN-Arbeitsschritte ohne Anaeroben-Kammer durchzuführen sind. Dazu wurden von einer Kultur von *Desulfovibrio vulgaris* (DSM Nr.1744), die in einem Kultur-Medium (2.7.1) mit Laktat als Kohlenstoff-Quelle herangewachsen war, sowie von einer Sediment-Suspension (2.7.2) MPN-Ansätze mit jeweils vier Parallelen hergestellt (ebenfalls mit Laktat als C-Quelle). Je ein Ansatz wurde in der Anaeroben-Kammer und unter Luftsauerstoff verarbeitet. Ein Vergleich der Keimzahlen nach der Inkubation sollte zeigen, ob eine Luftsauerstoff-Exposition während der Verarbeitung zu einer Verringerung der Wachstums-Ereignisse in den Verdünnungen führte.

2.7.5 Gesamt-Bakterienzahl

Die Keimzahlen der Multidisk-MPN (unter Argon-Atmosphäre verarbeitet) wurden mit denen der Gesamtbakterien-Zahl (AODC-Acridine Orange Direct Count; Hobbie *et al.*, 1977) verglichen, um die Effizienz der MPN-Methode zu überprüfen. Hierzu wurden vier Parallelen eines MPN-Ansatzes hergestellt. Das Inokulum stammte von einer Kultur in stationärer Phase des oben beschriebenen Stammes (*D. vulgaris*).

1 cm³ dieser Kultur wurde durch einen mit Irgalan-Schwarz gefärbten Polycarbonat-Filter (NUCLEOPORE; Porendurchmesser:0,2 µm) filtriert. Nacheinander wurden 1 cm³ 1N HCl und 1 cm³ einer 0,01%igen Acridine-Orange-Lösung (beide sterilfiltriert) zugesetzt und nach jeweils fünf Minuten abfiltriert. Nach Trocknung wurden die Filter in

Immersions-Öl (CARGILL) unter einem Epifluoreszenz-Mikroskop (Leitz, Dialux 20, Hg-Lampe) mit Hilfe eines Zählgitters (NEW PORTON) ausgezählt.

Die Gesamt-Bakterienzahl N pro cm^3 Kultur wurde wie folgt berechnet:

$$N = \frac{323,655 \cdot MW \cdot 10^6}{693}$$

mit

323 655: Filter-Fläche [mm^2]

MW: Mittelwert der Bakterienzahl aus 50 zufällig ausgewählten Feldern

693: Fläche des Zahlfeldes [μm^2]

2.8 HETEROTROPHE BIOMASSE-PRODUKTION

Bestimmungen der heterotrophen Bakterien-Biomasse-Produktionsraten basierten auf dem Einbau ^3H -markierten Leucins in Bakterien-Proteine (Chin-Leo & Kirchman, 1988) oder auf der Inkorporation ^3H -markierten Thymidins in Bakterien-DNA (Findlay *et al.*, 1984; Piker, 1989, 1990).

2.8.1 Probennahme und Inkubation

Sedimentproben unterschiedlicher Sedimenttiefe mit einem Volumen von jeweils $0,2 \text{ cm}^3$ wurden aus Sedimentkernen mit abgeschnittenen Einmal-Spritzen entnommen und unter Argon-Begasung Zentrifugenröhrchen (12 cm^3) zugeführt, die mit Viton-Stopfen luftdicht verschlossen wurden. Im Gegensatz zu Piker (1989) wurden keine Suspensionen mit einem reduzierten Brackwasser-Medium hergestellt. Der Wassergehalt der untersuchten Sedimente war groß genug, um eine regelmäßige Verteilung der Zusätze zu gewährleisten. Aus drei verschiedenen Sedimenttiefen wurden jeweils drei Ansätze mit drei Parallelen hergestellt, denen folgende Zusätze hinzugefügt wurden:

1. $20 \mu\text{l}$ 37%-iges boratgepuffertes Formaldehyd zu einer Endkonzentration von 3,5% zur Erfassung nicht-biologischer Prozesse (z.B. Adsorption),
2. $20 \mu\text{l}$ einer sterilen NaMoO_4 -Lösung (200mM) zu einer Endkonzentration von 20 mM zur spezifischen Inhibition der dissimilatorischen Sulfatreduktion und
3. $20 \mu\text{l}$ einer sterilen künstlich hergestellten Brackwasser-Lösung.

Nach Zugabe einer Mischlösung von ^3H -markiertem Tymidin (NEN; $3,15 \text{ TBq mmol}^{-1}$, 37 kBq je Ansatz) und „kaltem“ Thymidin zu einer Endkonzentration von 30 nM wurden die Ansätze bei *in-situ*-Temperatur 20 Minuten inkubiert. Eine Isotopen-Verdünnungs-Analyse wurde an den untersuchten Sedimenten nicht durchgeführt, doch reichten 30 nM aus, um die *de-novo*-Synthese von Thymidin in Sediment-Bakterien der Kieler Bucht (Piker, 1990) und anderer Sedimente (Moriarty, 1986) zu blockieren, so daß eine Isotopen-Verdünnung von dieser Quelle ausschied. Anschließend wurden Ansätze mit ^3H -markiertem Leucin versetzt (NEN; $3,57 \text{ TBq mmol}^{-1}$, 37 kBq je Ansatz) und wie oben inkubiert.

2.8.2 DNA-/Protein-Extraktion und Messung der Radioaktivität

Nach Beendigung der Inkubation durch ein Eisbad fand eine Säure-Base-Hydrolyse zur Extraktion der Makromoleküle (RNA, DNA, Proteine) statt (modifiziert nach Marmur, 1961, und Findlay *et al.*, 1984). Die Radioaktivität des Thymidins und des Leucins in der DNA bzw. in den Proteinen wurde als Fraktions-Überstand mit Hilfe eines Flüssigkeits-Szintillations-Zähler (PACKARD, 1900CA Tri-Carb) in einem Szintillations-Cocktail für wässrige Lösungen gemessen („Lumagel“ von BAKER). Eine Quench-Korrektur erfolgte sowohl für TCA- als auch für NaOH-Extrakte nach der externen Standardkanal-Verhältnis-Methode (externer Standard: ^{137}Cs). Thymidin- bzw. Leucin-Inkorporationsraten wurden berechnet nach:

$$R_{\text{ink}} = \frac{dpm_{\text{gem}}}{SA}$$

mit:

R_{ink} : Menge an inkorporiertem Thymidin bzw. Leucin [mol]
 dpm_{gem} : gemessene und korrigierte *disintegration per minute*
 SA : spezifische Aktivität

2.9 BESTIMMUNG VON SULFATREDUKTIONS-RATEN

Einer der Kernpunkte dieser Arbeiten war die Bestimmung von Raten der dissimilatorischen Sulfatreduktion in den untersuchten Sedimenten. Das Prinzip der angewendeten Methode besteht in der Inkubation des Sediments mit Tracer-Mengen von $^{35}\text{SO}_4^{2-}$, nach welcher die gebildeten ^{35}S -Sulfide fixiert und diese in der anschließenden Rückdestillation zu H_2^{35}S reduziert und gemessen werden. Die im Laufe der Zeit entwickelten unterschiedlichen Techniken dieser Methode unterscheiden sich hauptsächlich in der Einbringung des $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ (Sorokin, 1962: Sediment-Suspensionen, Ivanov, 1968: Injektion in Sedimentkerne, Jørgensen & Fenchel, 1974: Mehrfach-Injektion) und der Schwefel-Destillation.

2.9.1 Standard-Prozedur der ^{35}S -Methode

2.9.1.1 Probennahme und Injektion

Für Freiland-Untersuchungen an intakten Sedimentkernen (2.2) und für Experimente mit Gel-stabilisierten Systemen (2.5) erwies sich eine Injektions-Technik aufgrund der Gradienten-erhaltenden Eigenschaften für zweckmäßig. Aus Sedimentkernen wurden zwei bis drei Unterkerne mit einer Länge von fünf Zentimetern mit Hilfe einer abgeschnittenen Einmal-Spritze (5 cm^3) gewonnen. Der beprobte Sedimenthorizont wurde verworfen, aus dem nachfolgenden wiederum ein Unterkern gewonnen und so fort. Mit Hilfe eines Mikromanipulators an einer Stativ-Vorrichtung (2.6.2) fand an jedem Unterkern eine dreimalige vertikale Injektion von insgesamt 185 kBq statt. Das entsprach $3 \times 9\text{ }\mu\text{l}$ einer 1:10fachen Verdünnung der $\text{Na}^{35}\text{SO}_4$ -Stammlösung (NEN; carrier free) und einer Aktivität von 37 kBq pro Zentimeter Sedimenthorizont. Diese Injektions-Technik ermöglichte gegenüber der Verwendung des gesamten Original-Sedimentkerns (Jørgensen, 1978) die gleichzeitige Verwendung des Sediments für die Bestimmung anderer Parameter im gleichen Kern. In parallele Unterkerne wurden $3 \times 130\text{ }\mu\text{l}$ einer NaMoO_4 -Lösung (200 mM) als spezifischer Inhibitor der dissimilatorischen Sulfatreduktion zu ungefähr 20 mM Endkonzentration im Porenwasser (bei einem Wassergehalt von 80%) injiziert.

Nach einer Inkubation von vier bis sechs Stunden im Dunkeln bei *in-situ*-Temperatur wurden die ^{35}S -Sulfide von jeweils 1 cm^3 -Segmenten (entsprechend einem Sedimenthorizont von einem Zentimeter) in vier cm^3 einer 20% igen Zink-Acetat-Lösung in Zentrifugenröhrchen fixiert. Eine mehrtägige Fixierung bei 20°C sollte die Überführung von Pyrit und anderen nicht-flüchtigen Sulfiden zu ZnS gewährleisten (H. Fossing, pers. Mitteilung).

2.9.1.2 Rück-Destillation von Zn^{35}S und Messung der Radioaktivität

Nach Zentrifugation bei 3500 g wurden $100\text{ }\mu\text{l}$ des Überstandes in Szintillations-Flüssigkeit („Lumagel“, BAKER) pipettiert und gemessen, deren Radioaktivität in die Berechnung der Sulfatreduktions-Raten einging (s.u.). Anschließend wurde das Sediment mit dem ZnS dreimal durch Zentrifugation und Dekantieren mit Leitungswasser gewaschen, um verbliebenes $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ zu eliminieren, und 12 Stunden bei 60°C getrocknet. Schließlich wurden die Pellets gewogen, mit einem Mörser homogenisiert und in die Reaktions-Kolben der Destillations-Anlage überführt.

Zur Rück-Destillation des Zn^{35}S wurde die TRIS-Methode (Total Reduction of Inorganic Sulfur; Fossing & Jørgensen, 1989) gewählt. Hier wird im Gegensatz zur fraktionier-

ten Destillation der säurelöslichen und durch Cr^{2+} -reduzierbaren Schwefelverbindungen der gesamte anorganische Schwefel in einem Schritt zu H_2S reduziert. Ein Vergleich der fraktionierten Destillation mit der TRIS-Methode ergaben gleiche Aktivitäten von ^{35}S (Fossing & Jørgensen, 1989). Eine Anwendung der TRIS-Methode bei biologischen Fragestellungen (Bestimmung von Sulfatreduktions-Raten) erscheint praktikabler als eine fraktionierte Destillation, die bei geochemischen Fragestellungen (Verteilung reduzierter Schwefelverbindungen) vorzuziehen wäre.

Eine Cr^{2+} -Lösung wurde aus stabilerem Cr^{3+} hergestellt, indem unter N_2 -Durchfluß eine Lösung von $1\text{M CrCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ in $0,5\text{ N HCl}$ durch ein Jones-Reduktor unter Verwendung von amalgamiertem Zink („mossy zinc“, ALDRICH) perkuliert wurde. Die Cr^{2+} -Lösung wurde in eine 50 cm^3 -Einmal-Spritze gezogen.

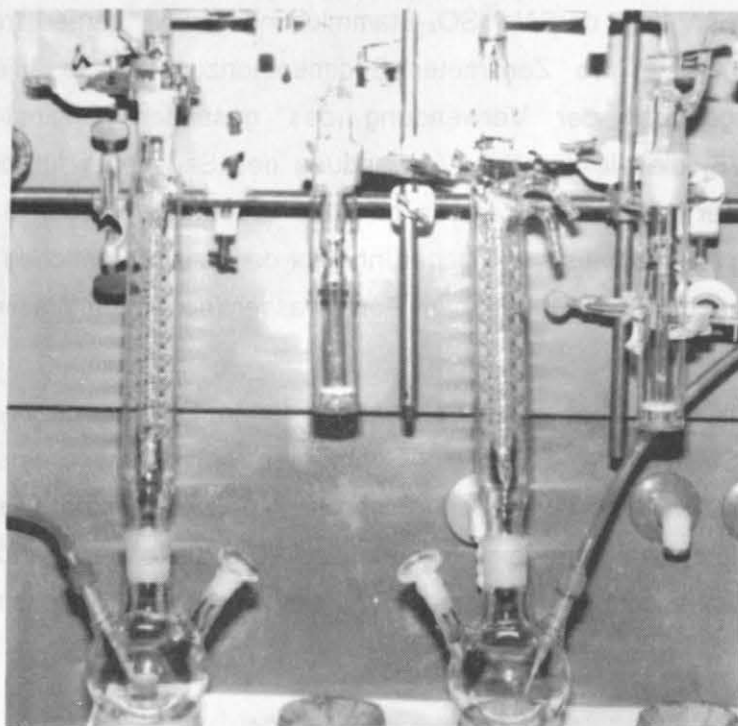


Abbildung 5: Zwei von vier verwendeten Reaktionskolben mit Rückfluss-Kühlern und „Sulfid-Fallen“.

Die Destillations-Anlage (Abbildung 5) bestand aus vier Reaktions-Kolben, in dessen Innenraum N_2 -zuführende Pasteur-Pipetten hineinragten, vier aufgesetzten Rückfluß-Kühlern und jeweils zwei angeschlossenen Sulfid-Fallen mit je 5 cm^3 5% Zink-Acetat-Lösung (0,1 % Essigsäure, ein Tröpfchen „anti-foam“). Nach Zugabe von 20 cm^3 einer Ethanol- H_2O -Lösung (1:1) in den Reaktions-Kolben auf die Pellets wurde die Destillations-Anlage zunächst 20 Minuten mit N_2 begast, um den Luftsauerstoff zu entfernen. Anschließend wurden 16 cm^3 der Cr^{2+} -Lösung und 8 cm^3 12 N HCl zugefügt. Das Reak-

tions-Gemisch köchelte 40 Minuten unter N₂-Durchfluß, wobei das ausgetriebene H₂S in der Zink-Acetat-Lösung der Sulfid-Fallen aufgefangen wurde. Ein Aliquot dieser Lösung wurde in Szintillations-Flüssigkeit überführt und die Radioaktivität im Szintillationszähler gemessen (2.8). Die Sulfatreduktions-Raten wurden nach folgender Gleichung berechnet (Fossing & Jørgensen, 1989):

$$R = \frac{[SO_4^{2-}] \cdot a \cdot 24 \cdot 1,06}{(A + a) \cdot h}$$

mit:

R : Sulfatreduktions-Rate [nmol cm⁻³ d⁻¹]

a : Gesamt-Radioaktivität des Zn³⁵S,

A : Gesamt-Radioaktivität des ³⁵SO₄²⁻ im Überstand,

h : Inkubationsdauer,

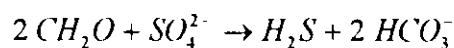
[SO₄²⁻]: Sulfat-Konzentration im Porenwasser [nmol cm⁻³],

1,06: Isotopen-Korrekturfaktor (Jørgensen & Fenchel, 1974)

2.9.1.3 Berechnung von Sulfatreduktions-Raten anhand eines einfachen Diffusionsmodells

Bei der Betrachtung von größeren Systemen und bei bestimmten Fragestellungen, z.B. zur Bilanzierung des S- und C-Kreislaufs kann die Beschreibung frühdiagenetischer Prozesse und der Beteiligung der dissimilatorischen Sulfatreduktion anhand von Modellen sinnvoll sein. Es fand anhand eines Vergleichs mit der ³⁵S-Methode eine Überprüfung statt, ob das von Berner beschriebene Diffusionsmodell (1964) auf die untersuchten Sedimente anwendbar ist.

Eine wichtige Annahme des Diffusionsmodells nach Berner (1964) ist, daß die Sulfatreduktions-Raten in folgender Beziehung steht:



In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß trotz der oft komplexen Abbauege diese Beziehung insgesamt in vielen Sedimenten besteht.

Das Modell beschreibt nun die Abnahme der SO₄²⁻-Konzentration mit der Sedimenttiefe als eine Funktion von auf dem Fick'schen Diffusions-Gesetz basierenden Diffusions-Prozessen, von der Sedimentation (Zuführung) organischen Materials und der dissimilatorischen Sulfatreduktion :

$$\frac{\delta C}{\delta t} = D_s \cdot \frac{\delta^2 C}{\delta x^2} - \omega \cdot \frac{\delta C}{\delta x} - f(x)$$

Vorausgesetzt also C_{org} würde mit einer Kinetik 1. Ordnung abgebaut (s.o.) resultiert folgende exponentielle Abnahme der Sulfatreduktions-Raten mit der Sedimenttiefe :

$$f(x) = a \cdot e^{-bx}$$

a und b sind Konstanten, die man berechnen kann.

b aus der exponentiellen Funktion, die die Abnahme der Sulfat-Konzentration am besten beschreibt und a, indem man die oben gezeigte Gleichung ableitet und die bestimmte Situation an der Sediment-Oberfläche betrachtet:

$$C_0 = \frac{a}{D_s \cdot b^2 + \omega \cdot b} \cdot e^{-bx} + C_r$$

wobei $e^{-bx} = 1$ ist und $C_r = 0$.

2.9.2 Methodische Untersuchungen zur Schwefel-Destillation

2.9.2.1 Vergleich der TRIS-Methode mit einer „passiven“ Destillation

Trotz einer Vereinfachung durch die Rück-Destillation von ZnS in einem Schritt blieb diese Methode arbeits- und zeitintensiv und war nur mit relativ großem apparitiven Aufwand zu bewältigen. Aus diesem Grund wurde eine „passive“ Destillation (nach Rosser & Hamilton, 1983), bei der ausgetriebenes H_2S an einen mit Zink-Acetat getränkten Filter in einem geschlossenen Gefäß absorbierte, mit der Reduktion durch Cr^{2+} kombiniert und getestet. Diese Methode wurde mit der TRIS-Methode (2.9.2) durch Verwendung des gleichen Probenmaterials (jeweils zwei Sediment-Schichten) verglichen.

Bei der Filter-Methode wurde das H_2S in der sauren Cr^{2+} -Sediment-Suspension sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei $100^\circ C$ sechs Stunden lang ausgetrieben. Eine Messung der Aktivität von ^{35}S erfolgte an den Filtern bzw. an der Zink-Acetat-Lösung der Destillations-Anlage.

2.9.2.2 Effizienz der Schwefel-Destillation in Gegenwart von Molybdat

Zur spezifischen Inhibition der dissimilatorischen Sulfatreduktion wurde in die Sedimentproben eine $NaMoO_4$ -Lösung injiziert. Um zu testen, ob Sulfid in Gegenwart eines

Phosphor-Molybdän-Komplexes, der durch das im Porenwasser enthaltene PO_4^{3-} entstand, während der Destillation nicht freigesetzt wurde (Banat *et al.*, 1981), wurde folgende Versuchs-Anordnung konzipiert:

Acht Sediment-Suspensionen aus jeweils 10 cm^3 Standort-Wasser und 10 cm^3 Sediment vom Standort Hiddensee wurden 20 Minuten mit Argon begast und anschließend mit jeweils $1 \text{ mM Na}_2\text{S}$ versetzt. Vier Suspensionen erhielten zusätzlich 20 mM Molybdat. Nach einer Stunde Einwirkzeit wurden $2 \times 5 \text{ cm}^3$ der jeweiligen Suspensionen in 10 cm^3 Zink-Acetat-Lösung (20 %) überführt. Die Weiterverarbeitung erfolgte bis zur Destillation wie unter 2.9.2 beschrieben und die Parallelen wurden sowohl nach der TRIS-Methode (2.9.2) als auch in zwei Schritten (säure-lösliche und Cr^{2+} -reduzierbare Schwefel-Fraktion) destilliert. Anschließend wurde der Schwefelwasserstoff in der Zink-Acetat-Lösung der Sulfid-Fallen gemessen (2.6.5) und eine Wiederfundrate der verschiedenen Ansätze bestimmt.

2.10 MINERALISIERUNGS- UND INKORPORATIONS-RATEN ^{14}C -MARKIERTER TESTSUBSTRATE

Substrat-spezifische Mineralisierungs-Raten wurden für eine Auswahl von ^{14}C -markierten Testsubstraten (NEN) ermittelt. Diese waren entweder selbst als vorherrschende Elektronen-Donatoren Sulfat-reduzierender Bakterien bekannt (Acetat, Laktat und Benzoyl) oder eher als Fermentations-Substrate und Vorstufen jener Elektronen-Donatoren anzusehen (Leucin, Glukose). Gemessen wurde die Rate der Freisetzung von $^{14}\text{CO}_2$ aus den uniform markierten Test-Substraten (Reichardt & Morita, 1982) durch Proben aus verschiedenen Sedimenthorizonten bei der *in-situ* vorherrschenden Temperatur und durch Proben aus Sediment-Mikrokosmen.

2.10.1 Standard-Prozedur der Mineralisierungs-Messungen

Sediment- oder Mikrokosmos-Proben von $0,17 \text{ cm}^3$ wurden mit abgeschnittenen Einmal-Spritzen unter Argon-Begasung in Zentrifugenröhrchen überführt, die mit einem mit Körbchen und Phenylethylamin-getränktem Filterpapier versehenen Silikon-Stopfen verschlossen wurden. Mit folgenden Zusätzen wurden die Sedimentproben unter Zugabe von jeweils $18,5 \text{ kBq}$ der ^{14}C -markierten Testsubstrate inkubiert:

1. 20 mM NaMoO₄ zur Erfassung Sulfatreduktions-abhängiger Mineralisierungs- bzw. Inkorporations-Raten.
2. 3.7 % Formaldehyd zur Erfassung nicht-biologischer ¹⁴CO₂-Freisetzung oder
3. einer O₂-freien 15 ‰ NaCl-Lösung zum Volumen-Ausgleich.

Mit der Zugabe von 1N HCl *ad* pH 2 wurde die einstündige Dunkel-Inkubation gestoppt und das CO₂ 12 Stunden auf einem Schüttler aus den Proben ausgetrieben, das so vom Phenylethylamin absorbiert werden konnte. Nach Überführung des Filterpapiers in Szintillations-Flüssigkeit (Permafluor E+, PACKARD) wurde die Radioaktivität im Szintillations-Zähler (s. 2.8.2) gemessen. Eine Quench-Korrektur und die Bestimmung einer Wiederfundrate von ¹⁴CO₂ wurde mit Hilfe verschiedener Konzentrationen von ¹⁴C-markiertem Bicarbonat durchgeführt. Die Wiederfundraten lagen zwischen 94 und 99%. Die Berechnung erfolgte nach folgender Gleichung:

$$R_{\text{min}} = \frac{dpm_{\text{gem}} \cdot 60 \cdot 10^9}{SA \cdot t \cdot V}$$

mit:

R_{min} : Mineralsierungs-Rate [$\mu\text{mol cm}^{-3} \text{h}^{-1}$]

dpm_{gem} : gemessene und korrigierte dpm

SA: Spezifische Aktivität [dpm mol^{-1}]

t : Inkubationsdauer [min]

V : Sedimentvolumen

Um zu testen, innerhalb welcher Inkubationsdauer eine lineare Zunahme der ¹⁴CO₂-Freisetzung erfolgte, wurde eine Zeitreihe mit den untersuchten Sedimenten durchgeführt. Hierzu wurden die verwendeten Testsubstrate in einer Endkonzentration von ca. 50 μM eingesetzt und jeweils Duplikate 2, 10, 20, 40, 60, 120 und 240 Minuten lang bei 18 °C inkubiert. Alle untersuchten Sedimente und Substrate zeigten bis 60 Minuten einen zeitlich linearen Anstieg der Radioaktivität in den CO₂-absorbierenden Filtern.

2.10.2 Konzentrations-Kinetik ¹⁴C-markierter Testsubstrate

Mit Hilfe von Konzentrationsreihen wurden unter Anwendung einer linearen Transformation der Michaelis-Menten-Kinetik (Lineweaver & Burk, 1934; Reichardt, 1978) Turnover-Zeiten, Michaelis-Menten-Konstante (K_m) und maximale Umsetzungs-Raten (V_{max}) bestimmt. Aus der ermittelten Turnover-Zeit und den Acetat-Konzentrationen im Porenwasser der entsprechenden Sedimentprobe wurde die Turnover-Rate bestimmt.

Die in 2.10.1 aufgeführten Ansätze (s. 2.10.1) wurden je Sedimenttiefe bzw. Mikrokosmos-Probe mit acht Konzentrationen der ^{14}C -markierten Testsubstrate Acetat, Laktat und Benzoat im Bereich von ca. 0,5 μM bis 25 mM wie unter 2.10.1 inkubiert und das $^{14}\text{CO}_2$ gemessen. Dazu mußten entsprechende Misch-Lösungen aus markiertem und nicht markiertem Testsubstrat hergestellt werden. Die aus parallelen Sedimentkernen bzw. aus denselben experimentellen Ansätzen gemessenen Acetat- und Laktat-Konzentrationen gingen in die Berechnung der Turnover-Raten mit ein (Beispiel s. Tabelle 2).

2.10.3 Inkorporation ^{14}C -markierter Testsubstrate

Um den Einfluß unterschiedlicher Redoxpotentiale auf die Inkorporation organischen Kohlenstoffs zu untersuchen, wurde in einem Experiment mit Sediment-Mikrokosmen (2.4.2) die Proben aus den Mineralisierungs-Ansätzen (2.10.2) weiterverarbeitet.

Tabelle 2: Radioaktivität des zugesetzten ^{14}C -Acetats (in Bq bzw. dpm), Konzentrationen markierten („heiß“) und nicht markierten („kalt“ und „in situ“) Acetats sowie die Endkonzentration und spezifische Aktivitäten in den Mineralisierungs-Ansätzen am Beispiel der Probennahme vom 3.11.1993 (Hiddensee, 0-1 cm Sedimenttiefe).

Nr.			"heiß"	"kalt"	in situ	Endkonz.	spez. Akt.
	Bq	dpm	A	B	C	A+B+C	
				[μM]		[μM]	[dpm mmol $^{-1}$]
1	8	494	0,02	0,05	0,6	0,67	3,71E+09
2	40	2372	0,13	0,19	0,6	0,92	1,29E+10
3	197	11804	0,64	0,96	0,6	2,20	2,69E+10
4	985	59100	3,19	4,80	0,6	8,59	3,44E+10
5	4977	298620	16,14	24	0,6	40,74	3,67E+10
6	5009	300540	16,24	240	0,6	257	5,85E+09
7	5193	311580	16,84	2400	0,6	2417	6,44E+08
8	5160	309600	16,73	24000	0,6	24017	6,45E+07

Hierzu wurden nach der Filter-Entnahme die Proben durch Zentrifugation bei 3500 g und Dekantieren mit einer 15% NaCl-Lösung dreimal gewaschen, um die gelösten Testsubstrate zu eliminieren, und anschließend bei 60°C 18 Stunden getrocknet. Das Sediment wurde gewogen, mit einem Mörser homogenisiert und zusammen mit einer Löffelspitze Cellulose-Pulver zu Tabletten gepreßt. Diese wurden mit Hilfe eines Verbrennungs-Gerätes (PACKARD) verbrannt und das entstandene CO_2 über N_2 als

Trägervgas in eine CO₂-Absorbens-Flüssigkeit (Carbosorb, PACKARD) geleitet, deren Radioaktivität in Szintillations-Flüssigkeit mit einem Szintillations-Zähler gemessen wurde. Eine Bestimmung von Wiederfundraten wurde nach jeweils zehn Messungen durchgeführt, mit denen die nachfolgenden Messungen korrigiert wurden. Die Wiederfundrate variierte insgesamt zwischen 73 und 95%. Die Berechnung erfolgte wie in 2.10.1.

3 ERGEBNISSE

3.1 METHODISCHE UNTERSUCHUNGEN

3.1.1 Methodische Untersuchungen zur ^{35}S -Methode

3.1.1.1 Vergleich der TRIS-Methode mit einer „passiven“ Destillation

Ein Methoden-Vergleich zwischen der einstufigen Chrom-Reduktions-Methode (TRIS-Total Reduction of Inorganic Sulfur, 2.9.1.2) und der „passiven“ Destillation (2.9.2.1.) ergab, daß die Ausbeute an ^{35}S -markiertem Sulfid nach der „passiven“ Destillation signifikant niedriger war als bei der TRIS-Methode. Nach dem Austreiben des Sulfids durch 1N H_2SO_4 bei Zimmertemperatur erreichte die im Filter gemessene Radioaktivität 47%, bei 100°C 65% des Wertes der TRIS-Methode (Abbildung 6). Daher wurde die TRIS-Methode fortan zur Routine-Messung der Sulfatreduktions-Raten herangezogen.

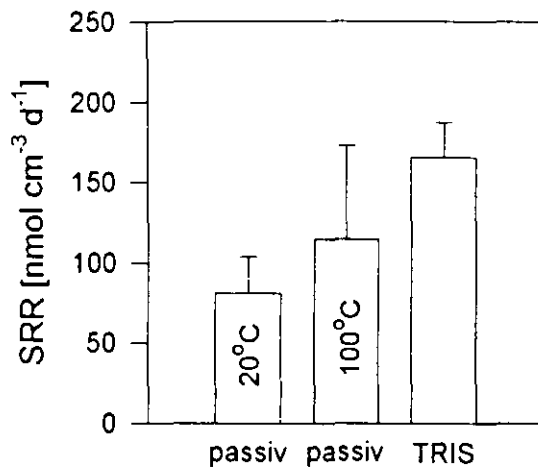


Abbildung 6: Vergleich der Sulfatreduktions-Raten in anoxischem homogenisiertem Sediment nach passiver Destillation bei unterschiedlichen Temperaturen und nach TRIS-Destillation.

3.1.1.2 Effizienz der Schwefel-Destillation in Gegenwart von Molybdat

Gelöstes anorganisches ortho-Phosphat lag im Porenwasser des untersuchten Sediments in Konzentrationen von durchschnittlich 10 μM an der Sedimentoberfläche und 250 μM in 10 cm Tiefe vor (Daten des BMFT-Projektes DYSMON im Zeitraum April 1992 bis November 1993). Es bestand die Möglichkeit der Ausbildung eines Phosphor-Molybdän-Komple-

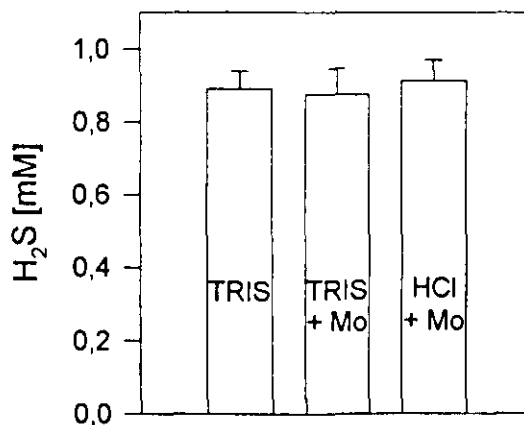


Abbildung 7: Konzentrationen von H_2S als interner Standard (1 mM) nach unterschiedlicher Destillation ohne und mit 20 mM Molybdat (Mo).

xes, der die Effizienz der „Schwefel-Destillation“ beim Einsatz von Molybdat herabgesetzt hätte (Banat *et al.*, 1981). Die unter 2.9.2.2 beschriebene Versuchsdurchführung ergab keine nennenswerten Unterschiede in der Sulfid-Wiederfundrate (Abbildung 7). Molybdat hatte demnach keinen Einfluß auf die Sulfid-Wiederfundrate in unterschiedlichen Tiefen des Sedimentes von der Station „Hiddensee K“. Zudem spielte die Zugabe einer Cr^{2+} -Lösung nach der Destillation mit HCl als alleinigem Reduktionsmittel keine Rolle. Dies war durch die Wahl des säurelöslichen Na_2S als internem Standard auch nicht zu erwarten. Ein eventueller Einfluß des Phosphor-

Molybdän-Komplexes auf die Sulfid-Wiederfundrate hätte jedoch durch die Wahl des stärkeren Reduktionsmittels Cr^{2+} verringert werden können.

3.1.1.3 Wirkungsgrad der Molybdat-Hemmung im Sediment

Um einen Rückschluß auf die Hemmung Sulfatreduktions-abhängiger Prozesse, wie z.B. die Mineralisierung organischen Kohlenstoffs durch Sulfatreduzierende Bakterien, ziehen zu können, war es notwendig, die Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion durch 20 mM Molybdat zu quantifizieren. Dazu wurden Unterkerne der Sedimente von der Station „Fährdorf“ (13.6.1992) und von der Station „Hiddensee K“ (19.5.1994) mit einer NaMoO_4 -Lösung versetzt (2.9.1.1) und nach einer Einwirkzeit von einer halben Stunde mit $\text{Na}^{35}\text{SO}_4$ inkubiert.

Vergleichsmessungen zeigten, daß die Sulfatreduktions-Raten in Gegenwart von Molybdat mindestens um 94% gehemmt wurden. Das galt im Prinzip für beide Standorte (Abbildung 8). Eine unvollständige Hemmung in 9-10 cm

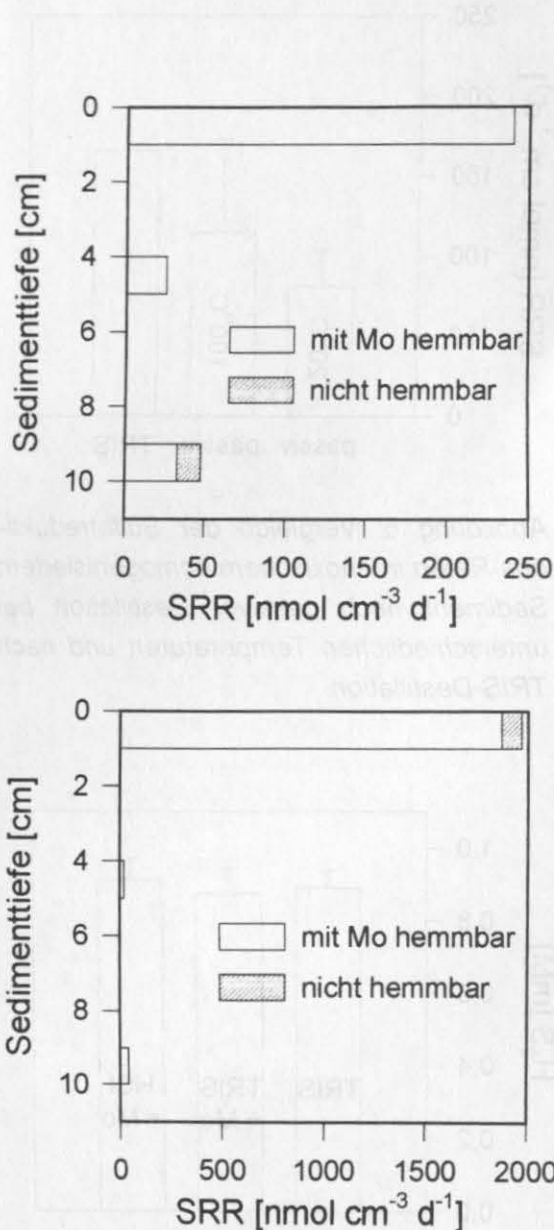


Abbildung 8: Sulfatreduktions-Raten mit und ohne Injektion von Molybdat in ausgewählten Sedimentschichten am Standort Fährdorf (13.6.1992) und Hiddensee (19.5.1994).

Sedimenttiefe im Fährdorf-Sediment war darauf zurückzuführen, daß zu diesem Probenahme-Termin die Länge der für die Molybdat-Injektion verwendete Injektionsnadel mit der Länge der miniaturisierten Stechrohre (5 cm³-Spritzen) nicht kompatibel war. Eine gleichmäßige vertikale Verteilung war somit nicht gewährleistet.

3.1.2 Randbedingungen bei der Bestimmung von Aminosäuren

Die mit 15 verschiedenen Aminosäuren in suprapurem Wasser durchgeführten Eichungen lieferten Regressionsgeraden mit guter Korrelation ($r=0,89-0,98$; s. 2.6.6.3). Inwieweit aber eine komplexe Proben-Matrix und die für die Bestimmung unverzichtbare Aufkonzentrierung der Proben die Messung beeinflusste, soll in folgenden Abschnitten dargestellt werden.

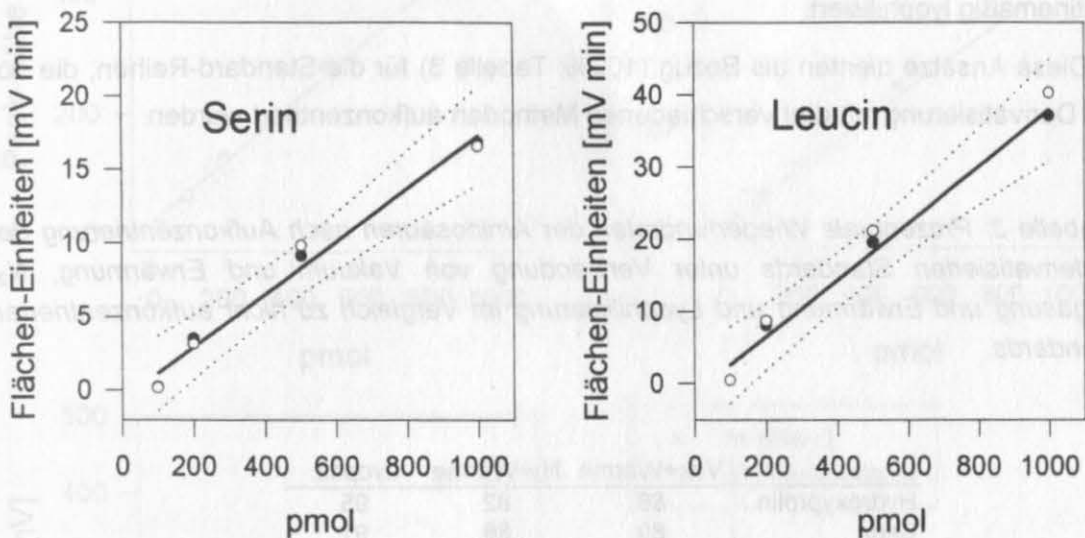


Abbildung 9: Vergleich der Eichgeraden von Aminosäuren als Standards in suprapurem Wasser (geschlossene Kreise mit 95%-Vertrauensbereich; gestrichelte Linie) und im Porenwasser als interner Standard (offene Kreise).

3.1.2.1 Einfluß der Salzmatrix auf die Messung

Zur Eichung wurden neben externen Aminosäure-Standards in suprapurem Wasser auch interne Standards eingesetzt. Die Unterschiede zwischen internen und externen Standards waren bei 12 von 15 Aminosäuren vernachlässigbar klein. Denn die Flächen-

Integrale der verschiedenen Konzentrationen dieser Aminosäuren in der Porenwasser-Probe lagen im Vertrauensbereich (95%) der Regressionsgeraden des Milli-Q-Standards (Abbildung 9). Die Flächen-Integrale von Methionin, Cystein und Phenylalanin des 100 pmol und 200 pmol-Standards lagen außerhalb des Vertrauensbereichs.

3.1.2.2 Einfluß der Aufkonzentrierung auf die Messung

Um die Wiederfundrate zu ermitteln, wurden jeweils vier verschiedene Konzentrationen eines Aminosäure-Mischstandards nach Aufkonzentrierung mit drei verschiedenen Methoden und ohne Aufkonzentrierung (Referenz) derivatisiert und gemessen (2.6.6.1). Die Wiederfundraten der Aminosäuren hielten sich bei allen drei Arten der Aufkonzentrierung in akzeptablen Grenzen, d.h. im 90%-Vertrauensbereich der Regressionsgeraden, die aus den Referenz-Messungen hervorgingen. Da die Abweichungen nach Gefriertrocknung am geringsten waren, wurden die Proben routinemäßig lyophilisiert.

Diese Ansätze dienten als Bezug (100%; Tabelle 3) für die Standard-Reihen, die vor der Derivatisierung mit drei verschiedenen Methoden aufkonzentriert wurden.

Tabelle 3: Prozentuale Wiederfundraten der Aminosäuren nach Aufkonzentrierung der underivatisierten Standards unter Verwendung von Vakuum und Erwärmung, N₂-Begasung und Erwärmung und Lyophilisierung im Vergleich zu nicht aufkonzentrierten Standards.

	Vak+Wärme	N ₂ +Wärme	Lyophil.
Hydroxyprolin	86	82	95
Serin	89	86	91
Glycin	96	95	103
Histidin	92	99	93
Threonin	97	99	89
Arginin	91	92	99
Alanin	95	86	95
Prolin	96	89	87
Valin	92	98	96
Methionin	94	105	92
Cystein	86	108	93
Isoleucin	101	94	92
Leucin	108	93	92
Phenylalanin	92	101	92
Lysin	92	110	92

3.1.3 Randbedingungen bei der Bestimmung von niederkettigen Fettsäuren

Ebenso wie die HPLC-Methode zur Bestimmung von Aminosäuren war die verwendete Fettsäuren-Bestimmung ursprünglich nicht für die Untersuchung natürlicher Proben entwickelt worden, sondern stammt aus der Lebensmittel- und Biochemie (Miwa *et al.*, 1985; Miwa & Yamamoto, 1990). Zwar wurde diese Methode schon einmal für Porenwasser-Analysen im Porenwasser mariner Sedimente angewendet (Mueller-Harvey & Parkes, 1987), doch waren die Chromatogramme nicht überzeugend. Daher erschien es notwendig, diese Methode auf die Anwendbarkeit für die Porenwasser-Proben der untersuchten Sedimente zu überprüfen.

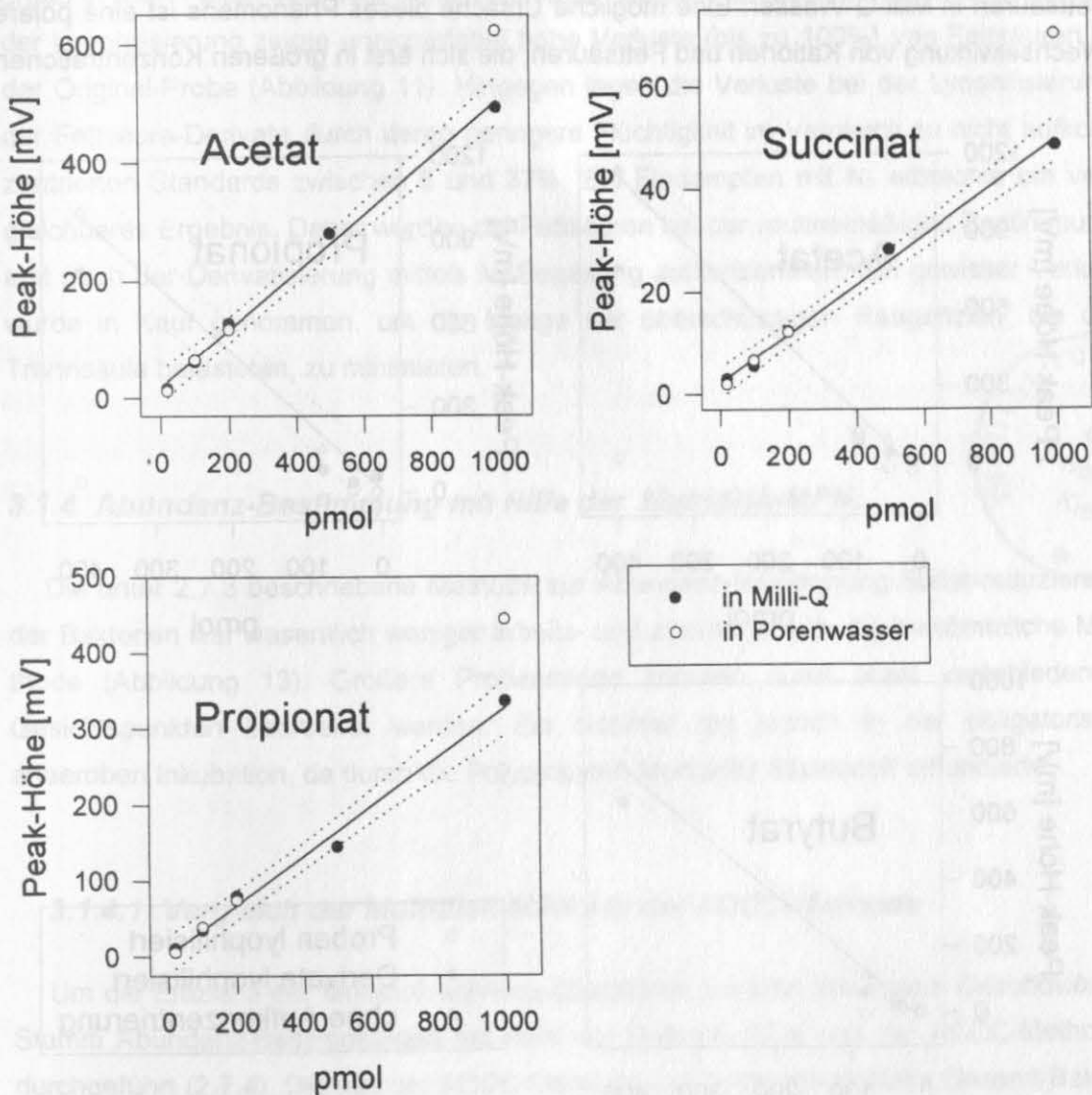


Abbildung 10: Vergleich der Eichgeraden von Fettsäure-Standards in suprapurem Wasser (geschlossene Kreise, $r=0,98-0,99$) und in Porenwasser als interne Standards (offene Kreise) am Beispiel von Acetat, Succinat und Propionat.

Durch die Verwendung eines Gradienten und der Ionenpaar-Umkehrphasen-Chromatographie (mod. nach Miwa, 1985) gelang es, die Trennleistung, Nachweisgrenzen und Varianzen der Eichkurven so zu verbessern, daß sie früher veröffentlichten Analysedaten (s.o.) für niederkettige Fettsäuren im Porenwasser überlegen war (s. 2.6.7).

3.1.3.1 Einfluß der Salzmatrix auf die Messung

Messungen von Mischstandards in suprareinem Wasser und in Porenwasser zeigten, daß kein signifikanter Einfluß der Salzmatrix zwischen 20 und 200 pmol Injektionsmenge der einzelnen Fettsäuren bestand (Abbildung 10). Bei 1000 pmol wiesen die Chromatogramm-Säulen aller Fettsäuren im Porenwasser eine größere Höhe auf als die der Fettsäuren in Milli-Q-Wasser. Eine mögliche Ursache dieses Phänomens ist eine polare Wechselwirkung von Kationen und Fettsäuren, die sich erst in größeren Konzentrationen

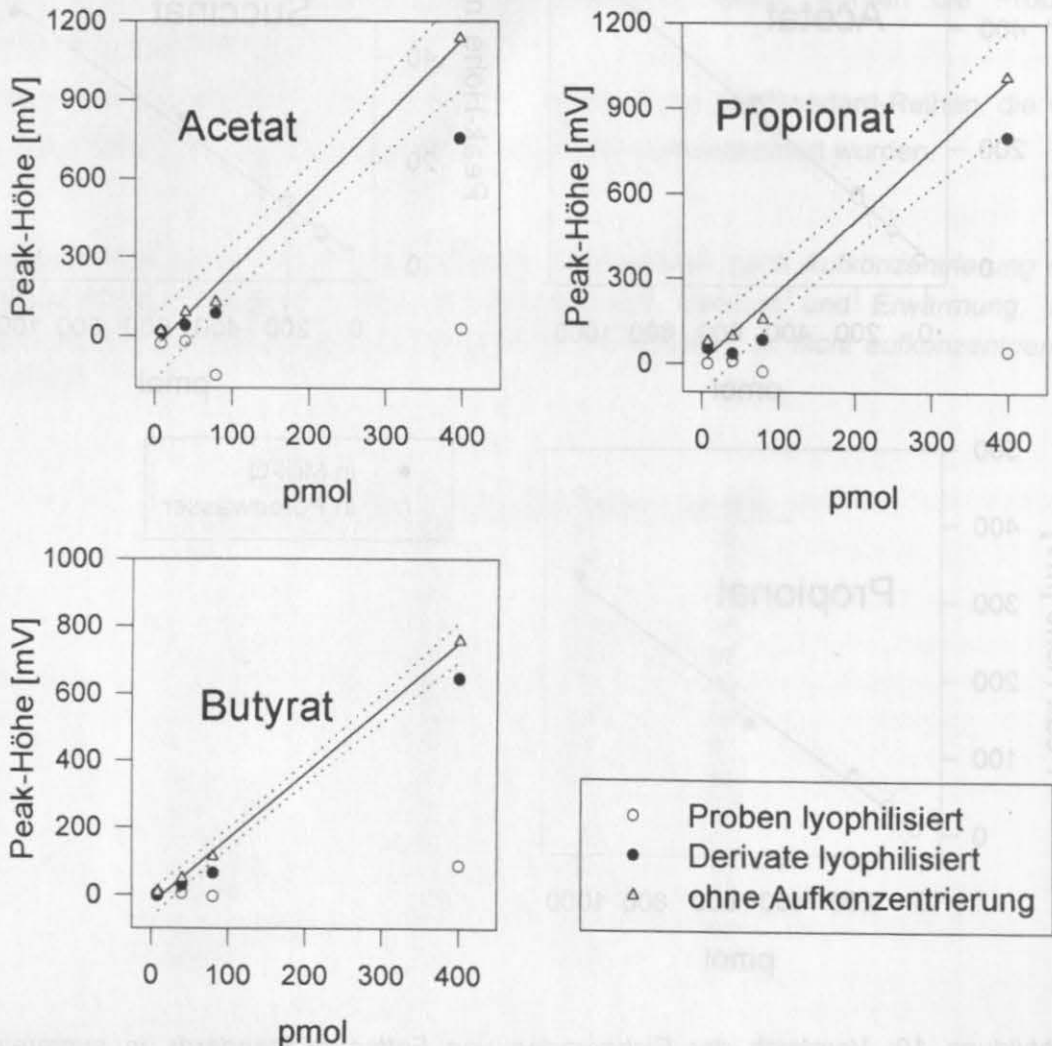


Abbildung 11: Vergleich der Meßpunkte von Eichungen an Standards in Porenwasser, die vor (offene Kreise) und nach der Derivatisierung (geschlossene Kreise) lyophilisiert wurden, sowie Eichungen ohne Aufkonzentrierung (Dreiecke; mit Eichgerade und 95%-Vertrauensbereich, $r=0,95-0,99$).

bemerkbar macht und sich in anderen chromatographischen Eigenschaften äußert. Eine Eichung mit einer NaCl-Lösung ergab ein ähnliches Bild, so daß tatsächlich von einem Salz-Effekt auszugehen ist. Da in Freiland-Untersuchungen selten Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren von über 5 µM auftraten, wurde eine Eichung mit Fettsäuren in der Probenmatrix nur für Experimente durchgeführt, die hohe Konzentrationen erwarten ließen.

3.1.3.2 Einfluß der Aufkonzentrierung auf die Messung

Eine Aufkonzentrierung der Original-Proben mit unterschiedlichen Methoden (2.6.7.5) ergab in allen Fällen eine sehr hohe Verlustrate. Sogar das relativ schonende Verfahren der Lyophilisierung zeigte unakzeptabel hohe Verluste (bis zu 100%) von Fettsäuren in der Original-Probe (Abbildung 11). Hingegen lagen die Verluste bei der Lyophilisierung der Fettsäure-Derivate durch deren geringere Flüchtigkeit im Vergleich zu nicht aufkonzentrierten Standards zwischen 5 und 37%. Ein Eindampfen mit N₂ erbrachte ein vergleichbares Ergebnis. Daher wurden die Fettsäuren bei der routinemäßigen Bestimmung erst nach der Derivatisierung mittels N₂-Begasung aufkonzentriert. Ein gewisser Verlust wurde in Kauf genommen, um die Menge der überschüssigen Reagenzien, die die Trennsäule belasteten, zu minimieren.



3.1.4 Abundanz-Bestimmung mit Hilfe der Multidisk-MPN

Die unter 2.7.3 beschriebene Methode zur Abundanz-Bestimmung Sulfat-reduzierender Bakterien war wesentlich weniger arbeits- und zeitintensiv als die herkömmliche Methode (Abbildung 13). Größere Probenserien konnten somit unter verschiedenen Gesichtspunkten bearbeitet werden. Ein Nachteil lag jedoch in der obligatorisch anaeroben Inkubation, da durch die Polypropylen-Multidisks Sauerstoff diffundierte.

3.1.4.1 Vergleich der Multidisk-MPN mit der AODC-Methode

Um die Effizienz der Multidisk-MPN zu überprüfen, wurden von einem *Desulfovibrio*-Stamm Abundanz-Bestimmungen mit Hilfe der Multidisk-MPN und der AODC-Methode durchgeführt (2.7.4). Die aus der AODC-Methode (2.7.5) direkt ermittelte Gesamt-Bakterienzahl lag mit $4 \cdot 10^6$ 15 bis 18 mal höher als der MPN-Wert (Abbildung 12). Eine mehrfache Unterschätzung ist Ausdruck von Methoden-immanenten Problemen, wie z.B. die Wahl des Mediums und der Abtrennung der Bakterien von Partikeln vor der Beimpfung

(Gibson *et al.*, 1987). Diese Unterbestimmung befindet sich im Rahmen der in anderen Untersuchungen festgestellten Unsicherheit der Methode (Jørgensen & Bak, 1991). Auch die MPN-Werte von Sulfat-reduzierenden Bakterien in den untersuchten Sedimenten von bis zu $3,5 \cdot 10^6$ sprechen für eine relativ gute Abschätzung. Diese liegen um 1-3 Größenordnungen höher als die zuvor beobachteten Abundanzen Sulfat-reduzierender Bakterien in marinen Sedimenten (Gibson *et al.*, 1987; Fossing & Jørgensen, 1990).

3.1.4.2 Sauerstoff-Empfindlichkeit der Multidisk-MPN

Eine Überimpfung unter Luft-Atmosphäre zeigte nach einem t-Test keinen signifikanten Einfluß auf die MPN-Werte (Abbildung 12; $n=4$, $p=0,05$). Somit konnte auf die Verarbeitung unter Sauerstoff-Ausschluß und unter Argon- bzw. Formiergas-Atmosphäre verzichtet werden.

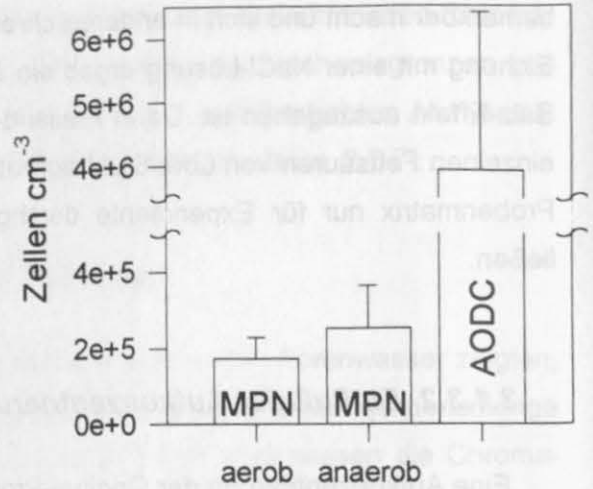


Abbildung 12: Vergleich von Abundanz-Bestimmungen mit Hilfe der AODC-Methode und der MPN-Methode (aerob und anaerob überimpft) an einem Stamm von *Desulfovibrio vulgaris*.

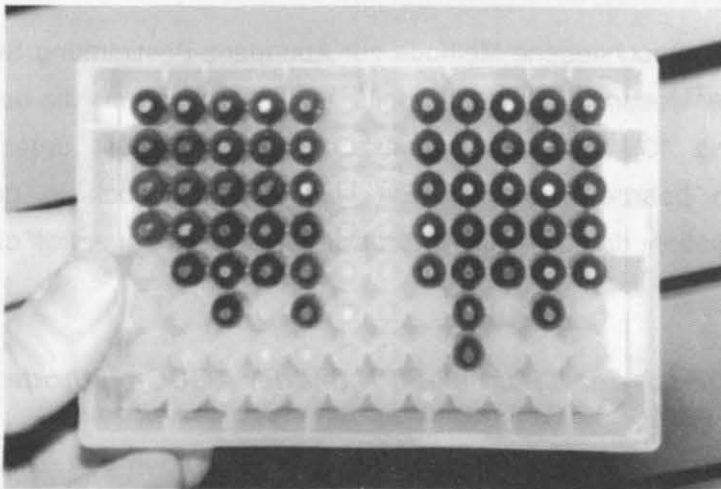


Abbildung 13: Multidisk-MPN (Laktat-verwertende Sulfatreduzierer) nach acht Wochen Inkubation. Schwarze FeS-Präzipitate signalisieren Wachstums-Ereignisse.

3.2 FREILAND-UNTERSUCHUNGEN

3.2.1 Fährdorf

3.2.1.1 Probennahme am 1.4.1992

Bei einem Sauerstoffgehalt von 12 mg l^{-1} im Oberflächenwasser entwickelte sich ein Redox-Gradient von $+170 \text{ mV}$ bis -180 mV in $0-7 \text{ cm}$ Tiefe. In anschließenden Sedimentschichten blieb der Eh-Wert konstant niedrig. Die Sulfat-Konzentration im Porenwasser schwankte un stetig zwischen 6 mM unter der Sediment-Oberfläche und 13 mM in $9-10 \text{ cm}$ Sedimenttiefe. Nochmalige Messungen von Porenwasser-Proben bestätigten die unerwartete Zunahme der Sulfat-Konzentration mit der Sedimenttiefe.

Sulfatreduktions-Raten lagen zwischen 4 und $165 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ und wiesen ein deutliches Maximum zwischen drei und fünf Zentimetern auf (Abbildung 14). Die Gesamtkonzentration von Aminosäuren stieg in den meisten Sedimenttiefen nicht über $5 \text{ }\mu\text{M}$, hatte jedoch in $6-7 \text{ cm}$ Sedimenttiefe ein ausgeprägtes Maximum mit $110 \text{ }\mu\text{M}$. Alanin und Leucin waren in allen Sedimenttiefen die wichtigsten Aminosäuren. Die Gesamtkonzentration von Fettsäuren betrug in der Regel um $0,5 \text{ }\mu\text{M}$. Succinat war in den Sedimenthorizonten $0-1$, $2-3$ und $8-9 \text{ cm}$ besonders stark vertreten und erhöhte die Gesamtkonzentration in diesen Sedimenttiefen auf $1-2,5 \text{ }\mu\text{M}$ (Abbildung 15). Fettsäure- und Aminosäure-Konzentrationen hatten in Sedimenthorizonten mit hohen Sulfatreduktions-Raten die niedrigsten Werte.

6.7	8	24	8	0	2.5
6.7	11	17	12	3	1.5
6.9	7	8	1	10	1.5
6.9	13	25	10	4	1.5

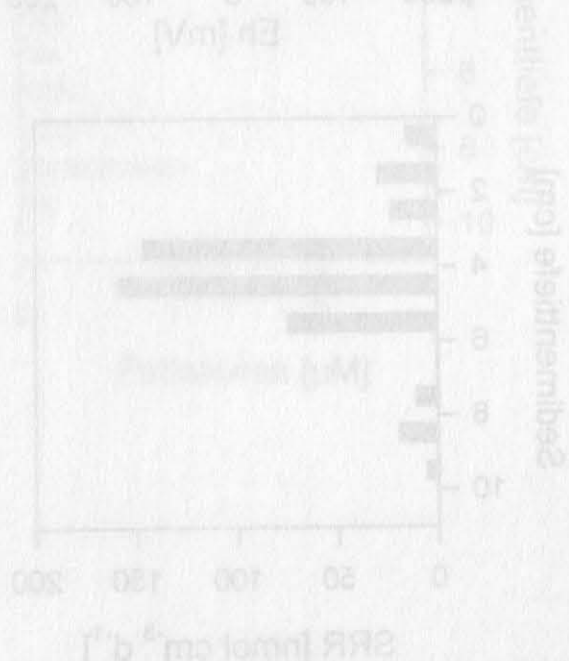


Abbildung 15: Gesamtkonzentration von Aminosäuren (µM) in Sedimentproben aus Fährdorf am 1.4.1992. Die Konzentrationen sind in Abhängigkeit der Sedimenttiefe (cm) dargestellt. Die höchsten Konzentrationen wurden in den Sedimenthorizonten 6-7 cm Tiefe beobachtet.

Datum	1.4.1993
Uhrzeit	11:00
Lufttemperatur [°C]	5.0
Luftdruck [mbar]	---
Wassertiefe [cm]	17
Wassertemperatur [°C]	3,6
Salinität [‰]	11,2
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	12
Sedimenttemperatur [°C]	---

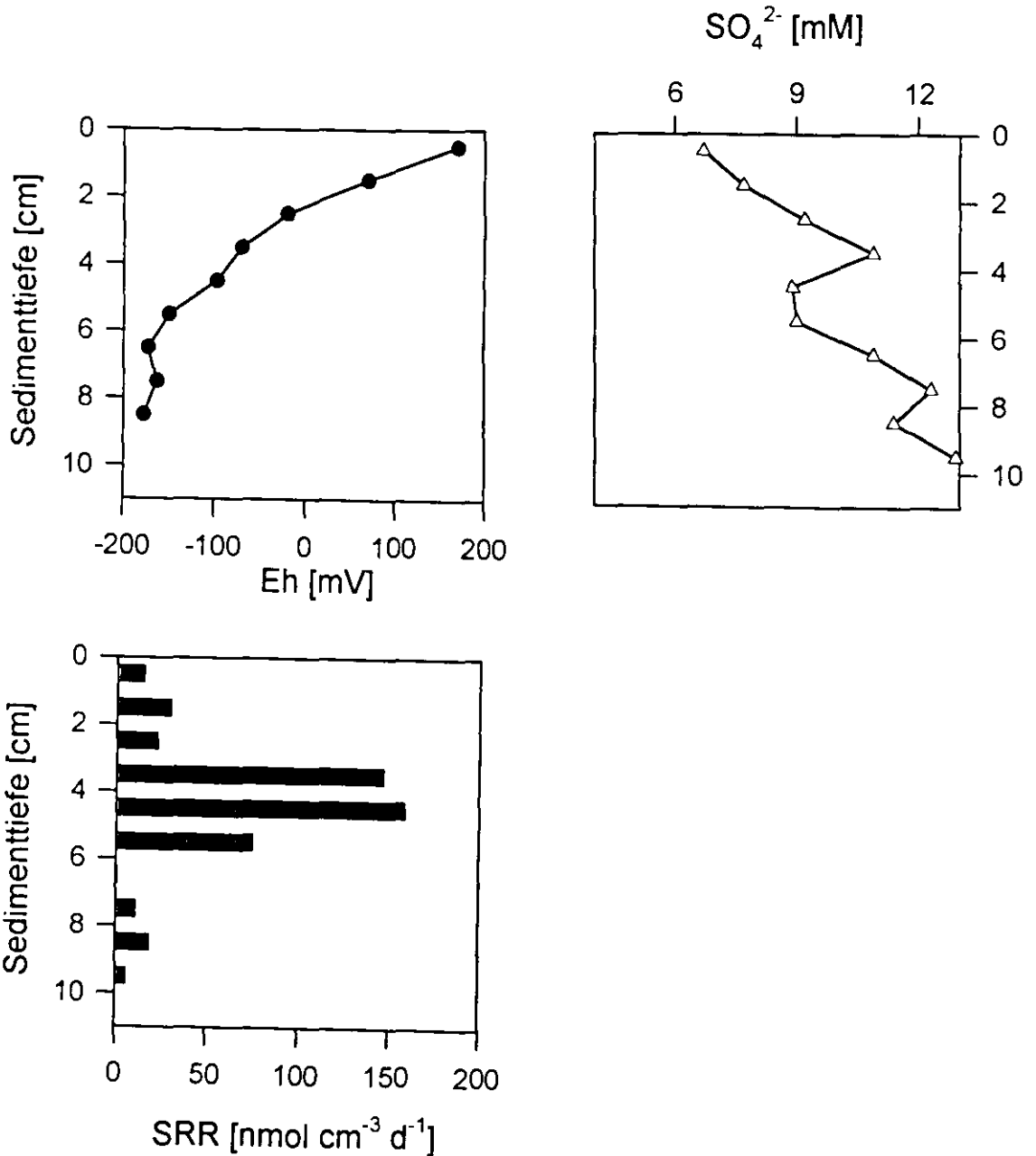
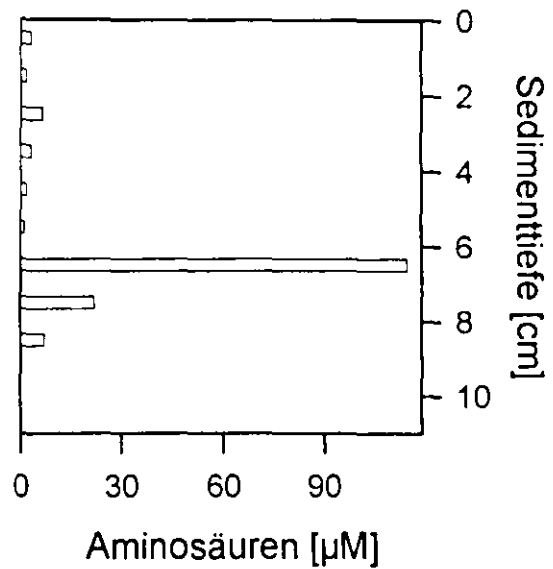


Abbildung 14: Redoxpotential (links oben), Sulfatkonzentration (rechts oben) und Sulfatreduktions-Raten (links unten) im Sediment-Vertikalprofil von der Probenahme am 1.4.1992 am Standort Fährdorf.

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Ala	Pro	Val	Met	Ile	Leu	Pha	Lys
0-1	8		13	17						62
1-2			25							75
2-3	5	6	23	7				13	18	28
3-4	12	10							30	48
4-5	12		29							59
5-6										10
6-7	3	7	39	6	8		7	15	10	5
7-8	2	3	40	13	7	3	5	11	9	7
8-9		6	10		12	6	8	18	18	21
9-10						n.b.				



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet	Prop	Buty	Succ	Vale	E.but
0-1	4	5	6	8		76	1	
1-2	24	8	26	11				31
2-3	4	2	4	3		87		
3-4	17	17	23	10				33
4-5	11	11	22	8				48
5-6	10		32	17				41
6-7	6	24	31	9				30
7-8		17	17	12	2	31	2	19
8-9	7	1	6	1		75		
9-10	13		25	18				5 39

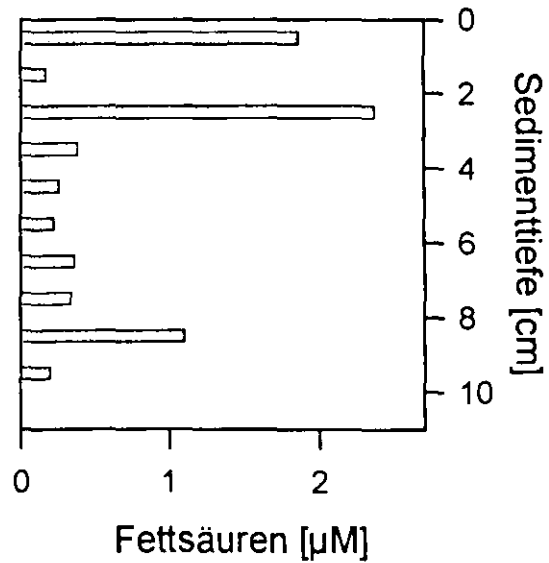


Abbildung 15: Gesamt-Konzentrationen freier Aminosäuren (oben) und niederkettiger Fettsäuren (unten) im Porenwasser und prozentualer Anteil einzelner Komponenten am Standort Fährdorf (1.4.1992) im Sediment-Vertikalprofil.

3.2.1.2 Probennahme am 13.6.1992

Bioturbation der massenhaft vorkommenden Individuen von *Corophium volutator* führte zu einem durchgehend positiven Redoxpotential bis in 7-8 cm. Der pH-Wert sank von 8,6 im Oberflächenwasser bzw. 8,6 unmittelbar unter der Sedimentoberfläche auf 6,9 in 2-3 cm Sedimenttiefe. Bis in diese Tiefe sank auch der Sulfatgehalt des Porenwassers auf 4 mM von 12 mM in 0-1 cm Sedimenttiefe. Unregelmäßige Schwankungen kennzeichneten den weiteren Verlauf des SO_4^{2-} -Vertikalprofils, das in 4-5 cm Sedimenttiefe zusammen mit der H_2S -Konzentration ein weiteres Maximum aufwies (Abbildung 16).

Sulfatreduktions-Raten waren an der Sedimentoberfläche mit $250 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ eindeutig am höchsten und stiegen in den übrigen Sedimenttiefen nicht über $50 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Laktat-verwertende Sulfat-reduzierende Bakterien hatten im Horizont der höchsten Sulfatreduktions-Raten mit $4,5 \cdot 10^5$ maximale Abundanzen (Abbildung 16).

Die Gesamt-Konzentration von Aminosäuren lag an der Sedimentoberfläche mit $6 \text{ }\mu\text{M}$, diejenige der Fettsäuren in 1-2 cm mit $16 \text{ }\mu\text{M}$ am höchsten. Die einzelnen Aminosäuren waren in etwa gleichen Anteilen in den einzelnen Sediment-Horizonten (bis auf die Tiefe 2-3 cm) vertreten, während Laktat an der Sedimentoberfläche und zusammen mit Succinat auch in den übrigen Tiefen die dominante Fettsäure war (Abbildung 17).

Datum	13.6.1992
Uhrzeit	12:00
Lufttemperatur [°C]	15.9
Luftdruck [mbar]	1080
Wassertiefe [cm]	2-3
Wassertemperatur [°C]	17,0
Salinität [‰]	12,8
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	10
Sedimenttemperatur [°C]	17,6

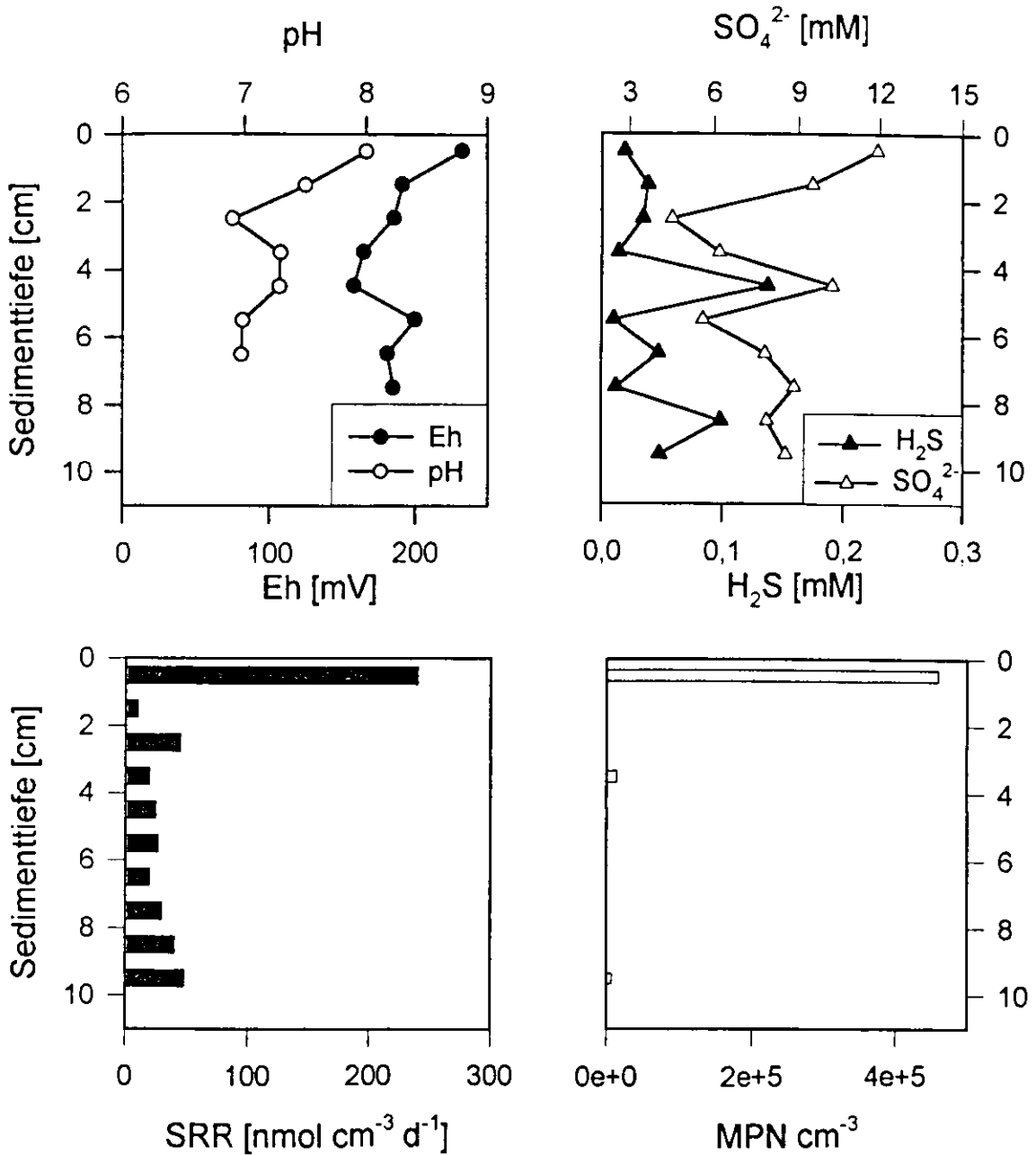
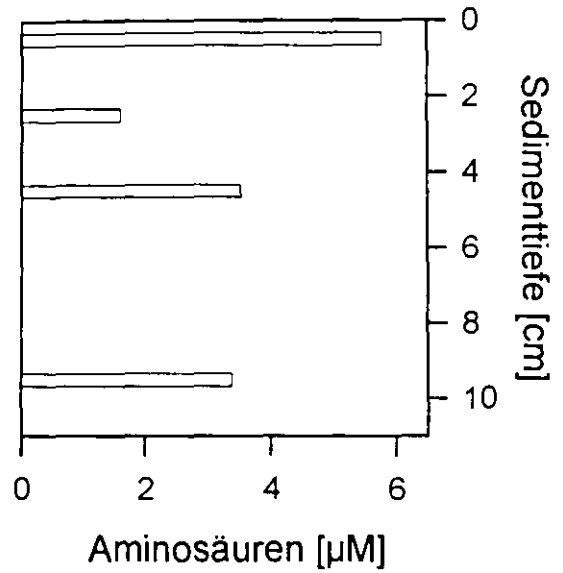


Abbildung 16: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H₂S-Konzentration (rechts oben), Sulfatreduktions-Raten (links unten) sowie Abundanzen Laktat-verwertender Sulfatreduzierer im Sediment-Vertikalprofil am Standort Fährdorf (13.6.1992).

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Ala	Pro	Ile	Lys
	[%]					
0-1	9	13	21	23		34
1-2				n.b.		
2-3				49		51
3-4				n.b.		
4-5	9	12	13	34	12	20
5-6				n.b.		
6-7				n.b.		
7-8				n.b.		
8-9				n.b.		
9-10	18	16	24	20		22



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet	Prop	Succ	Vale	E but
	[%]						
0-1	20	51	5	3	15	6	
1-2	6	21	2	6	63		2
2-3				n.b.			
3-4				n.b.			
4-5	18	11	8	3	60		
5-6				n.b.			
6-7				n.b.			
7-8				n.b.			
8-9				n.b.			
9-10	11	45	3		41		

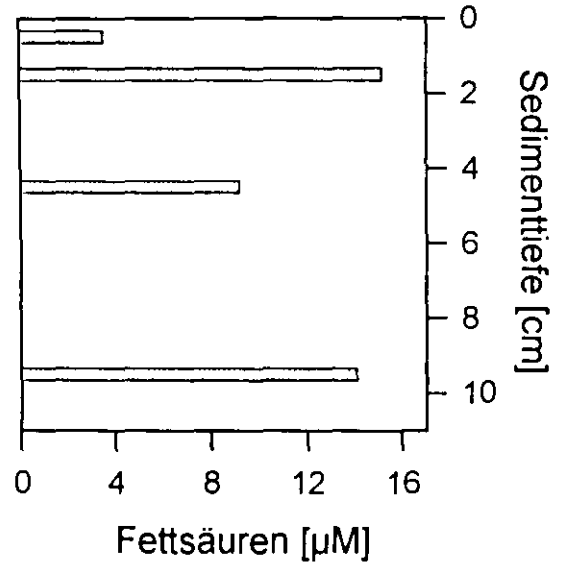


Abbildung 17: Gesamt-Konzentration von freien Aminosäuren und niederkettigen Fettsäuren im Porenwasser des Standorts Fährdorf am 13.6.1992 und prozentualer Anteil einzelner Komponenten im Sediment-Vertikalprofil (n.b. nicht bestimmt).

3.2.1.3 Probennahme am 25.8.1992

Der Eh-Gradient zeichnete sich durch zwei Redox-Sprungschichten bei ca. 1 cm und 4 cm Sedimenttiefe aus (Abbildung 19). Der pH nahm von 7,9 an der Sedimentoberfläche auf 7 in 4-6 cm ab und anschließend bis auf 7,4 wieder zu. H₂S war ab ca. 4 cm Sedimenttiefe meßbar und stieg bis auf 0,4 mM (Abbildung 19). Die Sulfat-Konzentrationen im Vertikalprofil wiesen ähnlich unetstetige Schwankungen auf wie in den vorhergehenden Probennahmen an diesem Standort.

Die dissimilatorische Sulfatreduktion wies mit 77 bzw. 67 nmol cm⁻³ d⁻¹ in 0-1 cm und 2-3 cm Sedimenttiefe zwei distinkte Raten-Maxima auf, die halb so hoch ausfielen wie diejenigen der Probennahmen im April und Juni. Mit steigender Sedimenttiefe konnte anhand von Leucin- und Thymidin-Inkorporations-Raten eine abnehmende Biomasse-Produktion beobachtet werden. Beide Methoden wiesen nahezu identische mit Molybdat hemmbare Anteile an der Gesamt-Inkorporation auf (Abbildung 18). Die Gesamt-Konzentration von Aminosäuren lag meist zwischen 5 und 10 µM, stieg aber in dem Sediment-Horizont 3-4 cm auf 35 µM an. Die Gesamt-Konzentration von Fettsäuren bewegte sich zwischen 2 und 4 µM bei tendenzieller Zunahme mit der Sedimenttiefe. Wichtigste Fettsäure war Succinat (Abbildung 20).

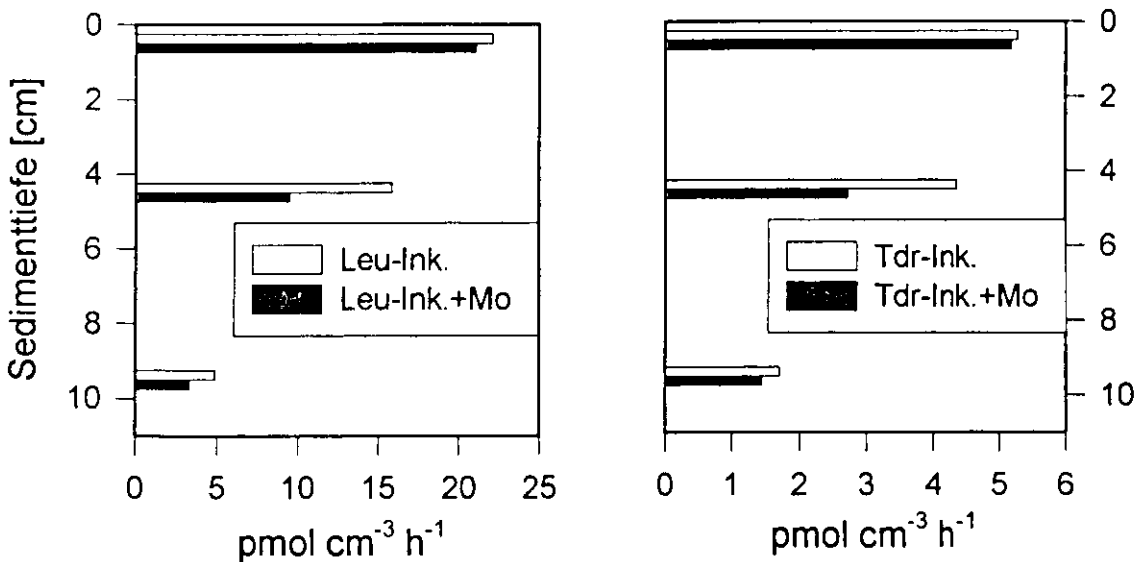


Abbildung 18: Thymidin (rechts)- und Leucin-Inkorporation (links) als Maß der heterotrophen Biomasse-Produktion mit (+Mo) und ohne Molybdat-Zusatz im Sediment-Vertikalprofil des Standorts Fährdorf am 25.8.1992.

Datum	25.8.1992
Uhrzeit	14:00
Lufttemperatur [°C]	22
Luftdruck [mbar]	1015
Wassertiefe [cm]	1-5
Wassertemperatur [°C]	16,8
Salinität [‰]	14,7
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	9,3
Sedimenttemperatur [°C]	17,6

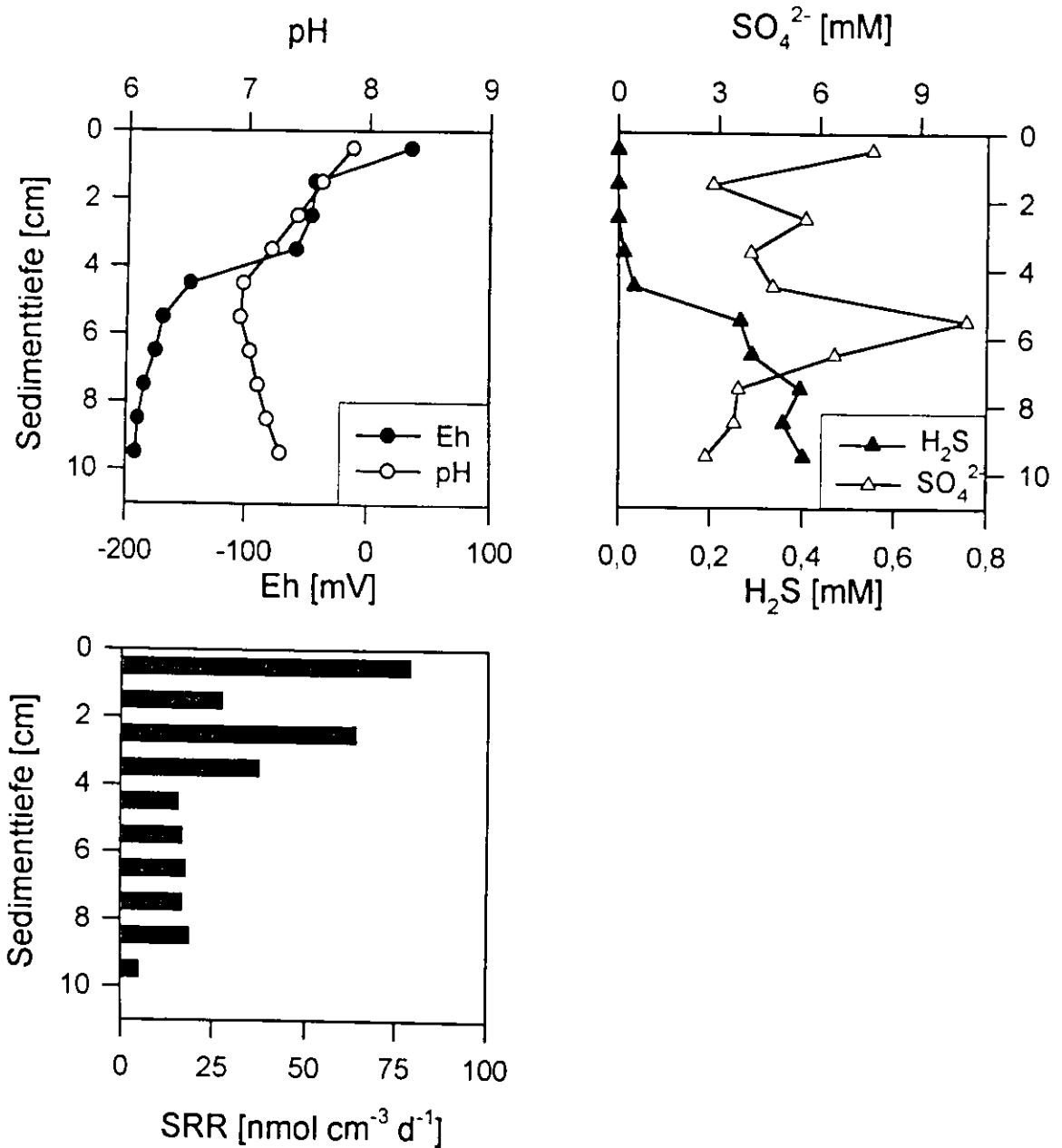
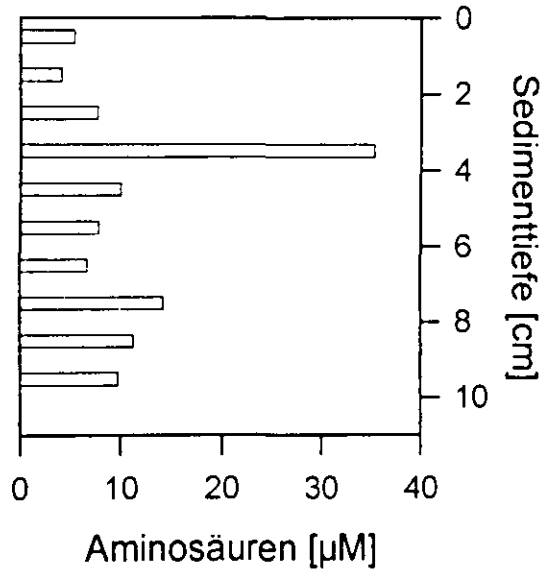


Abbildung 19: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H_2S -Konzentration (rechts oben) sowie Sulfatreduktions-Raten (links unten) im Sediment-Vertikalprofil des Standorts Fährdorf (25.8.1992).

Tiefe [cm]	Ser	Glv	Thr	Ara	Ala	Pro [%]	Val	Ile	Leu	Pha	Lvs
0-1	4	5				10		11	16		54
1-2	6			7	15	5					67
2-3	8	7		5	15	9		7	12	13	24
3-4	4	3	3	5	6	3	11	39		20	6
4-5	9	6	7	7	10	9	9	28			15
5-6	7	5		10	12	6		36			24
6-7		5	5		8			42		22	18
7-8	3	3	13	1	12	8	13	31		8	8
8-9	6	3	12	5	21	7	7	30			9
9-10	5	7	7		20	9	9		14	13	16



Tiefe [cm]	Form	Ace	Prop [%]	Succ	Capr
0-1	38	3	14	46	
1-2	36	3	10	51	
2-3	23	2	17	58	
3-4	26	2	15	57	
4-5	17	3	14	66	
5-6	10	4	20	66	
6-7	42	3	9	46	
7-8	13	8		76	3
8-9	31	4	13	51	1
9-10			n.b.		

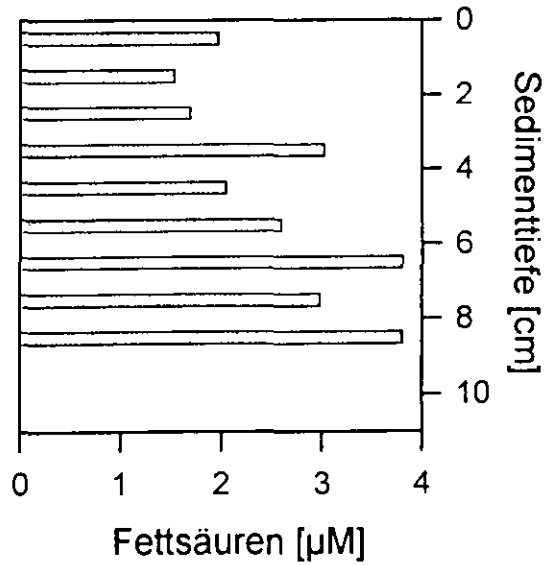
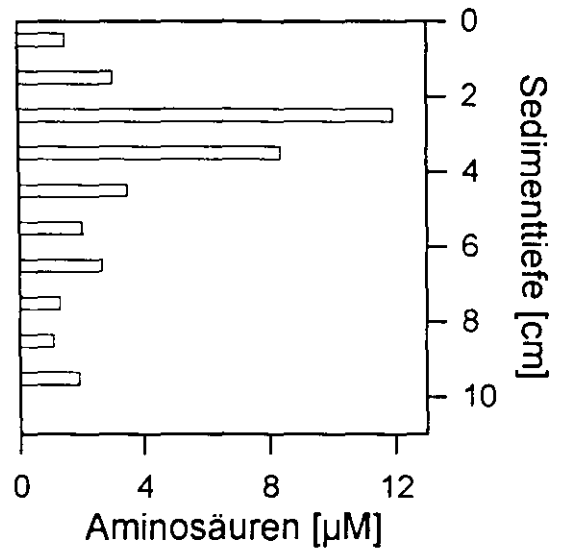


Abbildung 20: Gesamt-Konzentration von freien Aminosäuren und niederkettigen Fettsäuren im Porenwasser des Standorts Fährdorf am 25.8.1992 und prozentualer Anteil einzelner Komponenten im Sediment-Vertikalprofil (n.b. nicht bestimmt).

3.2.1.4 Probennahme am 24.4.1993

Eine exponentielle Abnahme des Redoxpotentials mit der stärksten Abnahme von 0-4 cm Sedimenttiefe und eine lineare Abnahme des pH-Werts mit steigender Sedimenttiefe charakterisierte das physikalisch-chemische Milieu. Unterhalb des Horizonts 3-5 cm, in dem die höchsten Sulfatreduktions-Raten beobachtet wurden, stieg die H_2S -Konzentration stark an und hatte die Sulfat-Konzentration ein Minimum (Abbildung 22). Hier waren außerdem die höchsten Fettsäure-Konzentrationen mit Acetat als dominanter Fettsäure zu verzeichnen, während die Aminosäure-Konzentrationen bei 2-4 cm am höchsten lagen (Abbildung 21).

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Thr	Ala	Pro	Val	Ile	Leu
0-1	6	7	6	21	11	11	12	26
1-2	3	4	4	28	10	8	10	33
2-3	1	3	2	18	15	6	17	38
3-4	1	3	1	23	23	4	16	29
4-5	2	5	2	13	11	13	17	37
5-6	3	6	7	17	11	10	14	32
6-7	3	4	4	20	11	10	11	37
7-8	5	7	7	26	13	13	10	19
8-9	6	7	7	20	16	13	9	21
9-10	3	4	7	16	8	19	19	24



Tiefe [cm]	Form	Acet	Prop	Buty	Succ	Vale	Capr
0-1	40	26	2			26	6
1-2		28	3	2		27	20
2-3	20	16	1		27	33	3
3-4	16	33	2		24	23	2
4-5	12	39	3		25	20	2
5-6	12	55	6		6	19	2
6-7	14	49	4			29	4
7-8				n.b.			
8-9				n.b.			
9-10				n.b.			

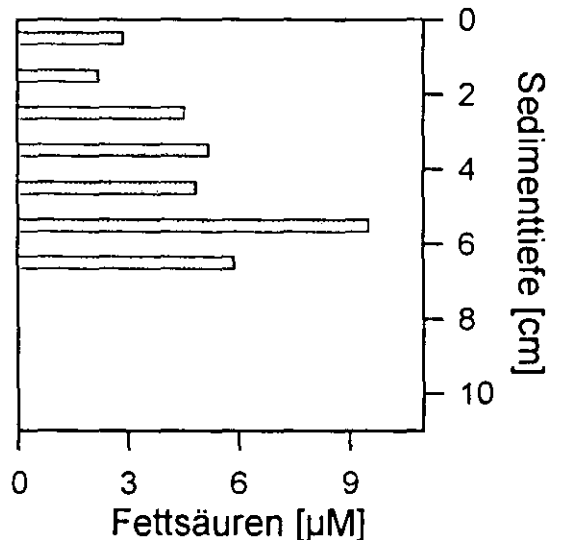


Abbildung 21: Gesamt-Konzentrationen freier Aminosäuren (oben) und niederkettiger Fettsäuren (unten) im Porenwasser und prozentualer Anteil einzelner Komponenten am Standort Fährdorf (24.4.1993) im Sediment-Vertikalprofil (n.b. nicht bestimmt).

Datum	24.4.1992
Uhrzeit	14:00
Lufttemperatur [°C]	14,8
Luftdruck [mbar]	1015
Wassertiefe [cm]	1-5
Wassertemperatur [°C]	---
Salinität [‰]	14,0
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	---
Sedimenttemperatur [°C]	---

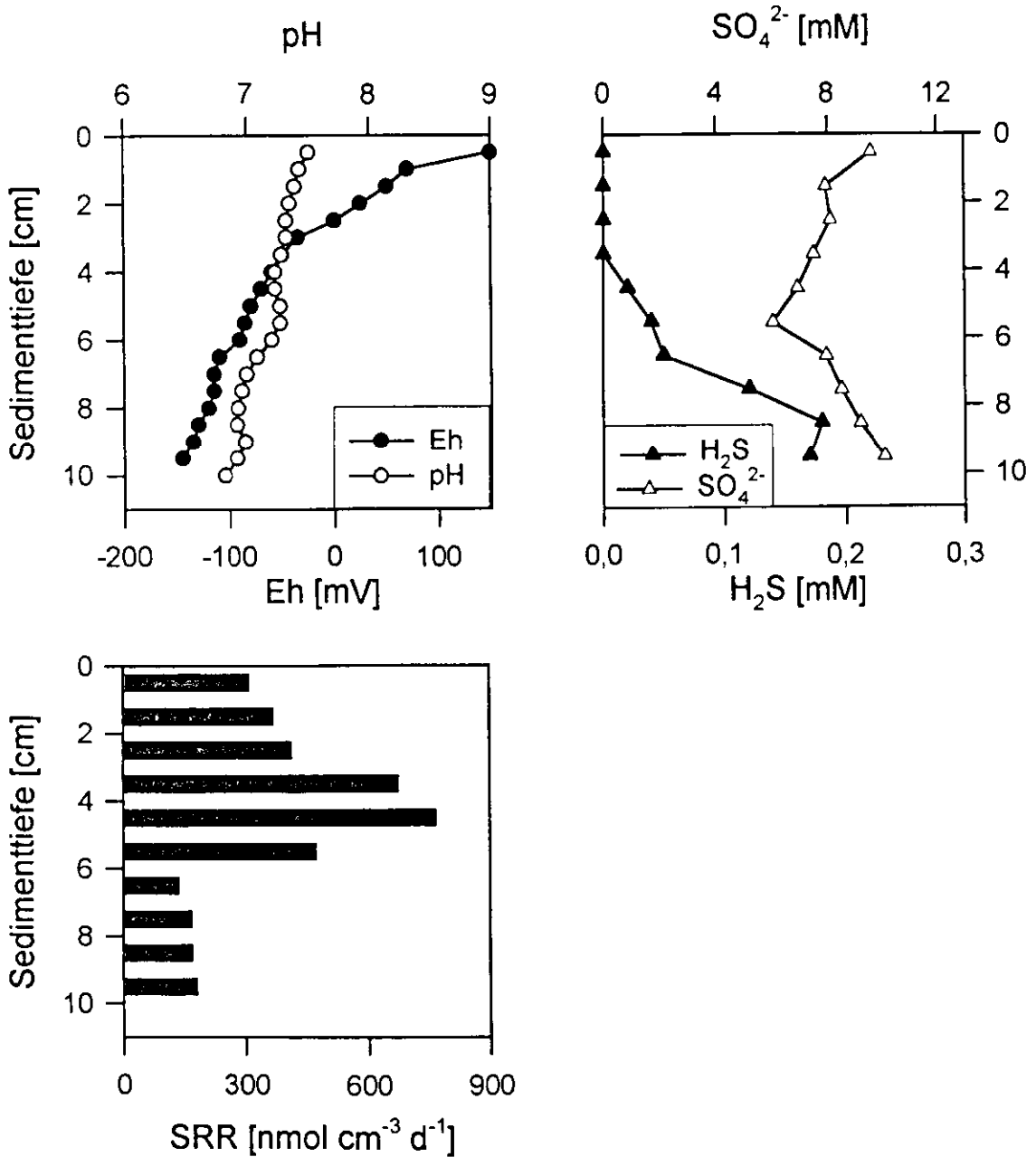


Abbildung 22: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H₂S-Konzentrationen (rechts oben) sowie Sulfatreduktions-Raten im Vertikalprofil des Standorts Fährdorf (24.4.1993).

3.2.1.5 Probennahme am 19.5.1994

Das Redoxpotential war in den obersten vier Zentimetern von 200 auf -250 mV gesunken. In dieser Schicht wurden maximale Sulfatreduktions-Raten gemessen. In den darauffolgenden Sediment-Horizonten wurden Minimalwerte bis zu -370 mV beobachtet (Abbildung 23). Eine exponentielle Abnahme der Sulfat-Konzentration von 7 auf 2,4 mM wurde durch einen leichten Anstieg in ca. 5-7 cm unterbrochen. Die Abundanz Laktat-verwertender Sulfatreduzierer erreichte mit fast 0,9 Mio. Zellen cm^{-3} in den obersten zwei Zentimetern die höchsten MPN-Werte, während Acetat-verwertende Sulfatreduzierer in tieferen Schichten relativ stärker vertreten waren.

Die Gesamt-Aminosäure-Konzentrationen variierten nur wenig um 10 μM und wies ein Minimum in 4-7 cm Tiefe auf. Alanin, Isoleucin und Leucin hatten den größten Anteil an der Gesamt-Konzentration, wobei Isoleucin und Leucin fast in jeder Schicht in einem Verhältnis von etwa 1:3 vorkamen. Die Fettsäure-Konzentration nahm, vor allem durch den Anstieg der Succinat-Konzentration, tendenziell mit der Sedimenttiefe zu. Ein Minimum lag tiefenversetzt zum Minimum der Aminosäure-Konzentration zwischen 2 und 5 cm Tiefe (Abbildung 24).

Datum	19.5.1994
Uhrzeit	20:00
Lufttemperatur [°C]	14
Luftdruck [mbar]	---
Wassertiefe [cm]	5
Wassertemperatur [°C]	---
Salinität [‰]	14,9
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	---
Sedimenttemperatur [°C]	---

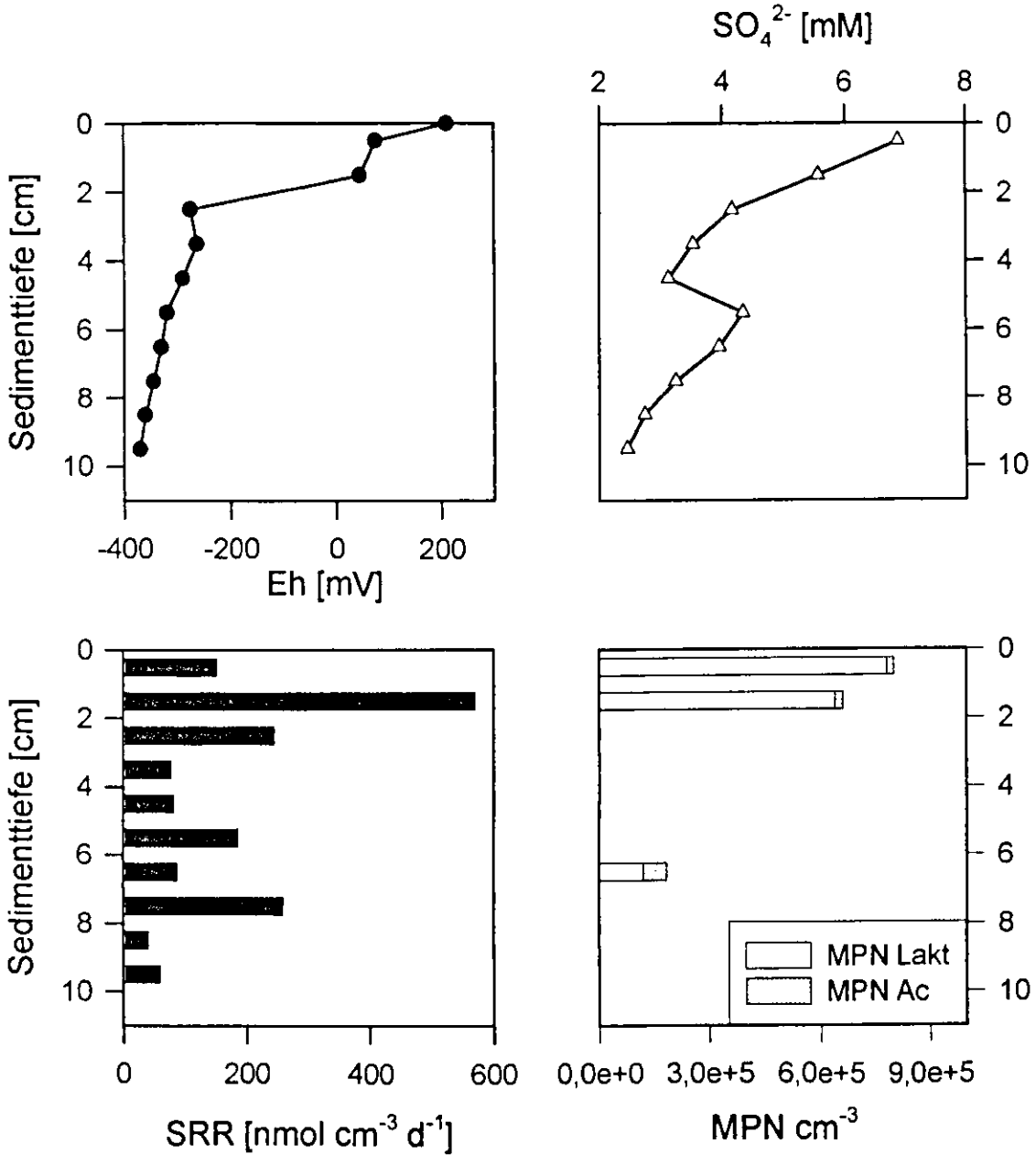
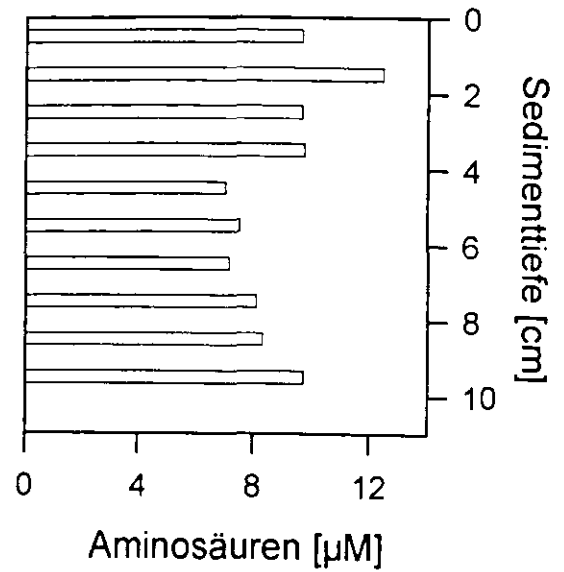


Abbildung 23: Redoxpotential (links oben), Sulfat-Konzentrationen (rechts oben), Sulfatreduktions-Raten sowie Abundanzen von Laktat- (MPN Lakt) und Acetat-verwertenden (MPN Ac) Sulfatreduzierern im Vertikalprofil des Standorts Fährdorf am 19.5.1994.

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Ala	Pro	Val	Met	Cys	Ile	Leu	Pha	Lys
	[%]										
0-1		3	21	2	4	4		15	47		4
1-2	4	5	28	7	7	5		14	30		
2-3	3	5	14	5	5	7		19	38	4	
3-4	4	2	22	3	2	5		17	40	5	
4-5	3	5	19	7	6	8		50		2	
5-6		2	15	3	5	5		21	45		4
6-7		3	16	2	2	6		23	44		4
7-8	1	2	15	4	5	6		23	40		4
8-9		2	18	4	3	7		24	38		4
9-10		3	11	1	4	7	19	19	34		3



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet	Prop	Succ	Capr
	[%]					
0-1	12		27	4	48	9
1-2	9	15	21	8	41	6
2-3	7		31		62	
3-4	18	7	27		48	
4-5	12		26		62	
5-6	10		21		69	
6-7	8	5	17		70	
7-8	7	2	15		76	
8-9	7	6	13		74	
9-10	6		12		82	

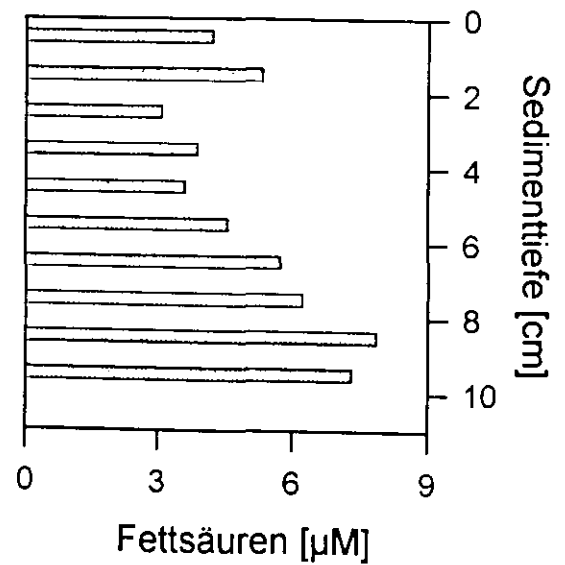


Abbildung 24: Gesamt-Konzentrationen freier Aminosäuren (oben) und niederkettiger Fettsäuren (unten) im Porenwasser und prozentualer Anteil einzelner Komponenten am Standort Fährdorf (19.5.1994) im Sediment-Vertikalprofil.

3.2.2 Hiddensee

3.2.2.1 Probennahme am 10.6.1992

Im Laufe des Frühjahrs entwickelte sich an dem Standort Hiddensee ein Sulfuretum. Das Sediment war durchgehend reduziert (-215 in 0-1 cm bis -275 mV in 7-8 cm Sedimenttiefe) und durch eine relativ starke pH-Abnahme von 7,7 auf 6,9 in den obersten zwei Zentimetern gekennzeichnet. Die Sulfatreduktions-Raten hatten mit 250 bis 270 nmol cm⁻³ d⁻¹ zwischen 6 und 8 cm ein Maximum, das sich mit dem H₂S-Maximum (0,67 mM) deckte. Die höchsten Abundanzen Laktat-verwertender Sulfat-reduzierer wurden an der Sedimentoberfläche bestimmt. Die MPN-Werte waren hier mindestens doppelt so hoch wie in tieferen Schichten (Abbildung 25).

Die Aminosäure-Konzentrationen nahmen mit der Sedimenttiefe von 6 auf 0,5 µM ab, die Fettsäure-Konzentrationen, an denen Succinat den Hauptanteil ausmachte, änderten sich jedoch nur geringfügig (2-3 µM; Abbildung 26).

Datum	10.6.1992
Uhrzeit	12:00
Lufttemperatur [°C]	18
Luftdruck [mbar]	1005
Wassertiefe [cm]	15
Wassertemperatur [°C]	21
Salinität [‰]	10,5
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	10,5
Sedimenttemperatur [°C]	24

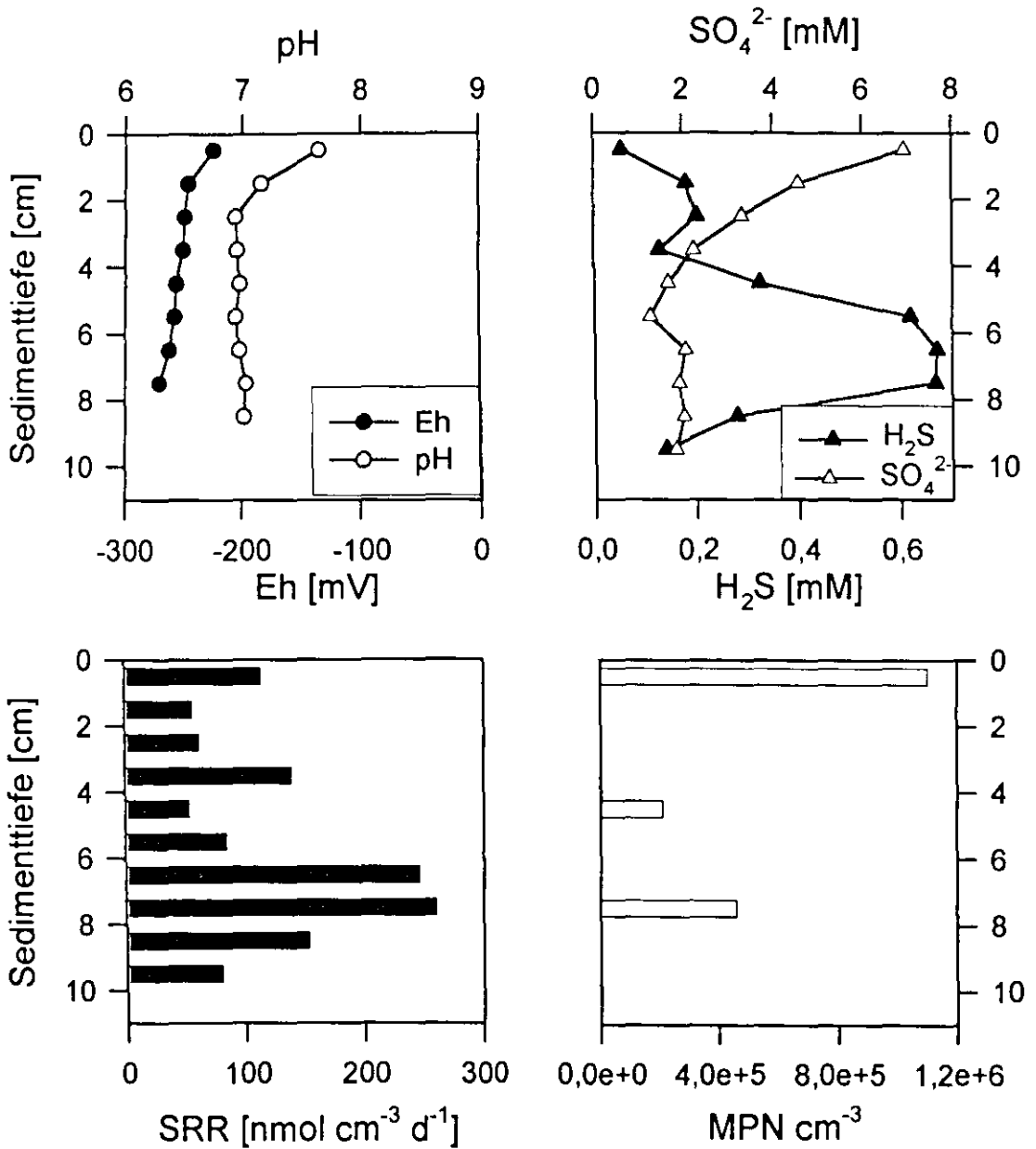
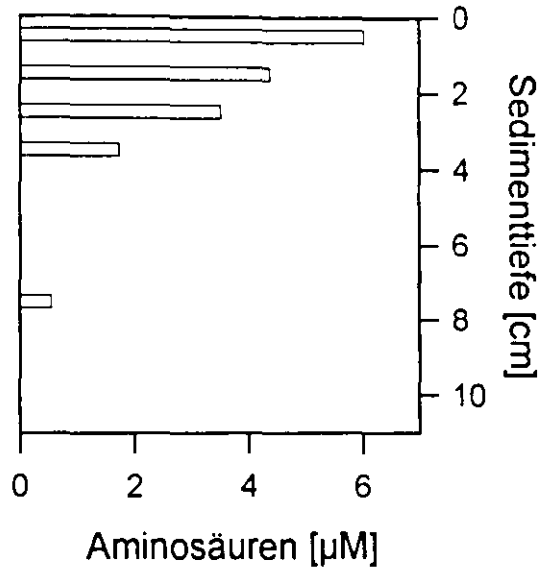


Abbildung 25: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H₂S-Konzentrationen (rechts oben), Sulfatreduktions-Raten (links unten) sowie Abundanz von Laktat-verwertender Sulfatreduzierer im Sediment-Vertikalprofil des Standorts Hiddensee am 10.6.1992.

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Ala [%]	Pro	Lys
0-1	4	6	12	11	67
1-2	4	8	18	19	51
2-3	5	9	28	20	38
3-4			25	19	56
4-5			n.b.		
5-6			n.b.		
6-7			n.b.		
7-8			37	20	43
8-9			n.b.		
9-10			n.b.		



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet [%]	Prop	Succ
0-1	4	3	5		88
1-2	4	2	3		91
2-3	3	3	3		91
3-4	3	3	4		90
4-5	3	2	5		90
5-6	4	3	4		89
6-7	4	2	4	1	89
7-8	3		1	1	95
8-9			n.b.		
9-10			n.b.		

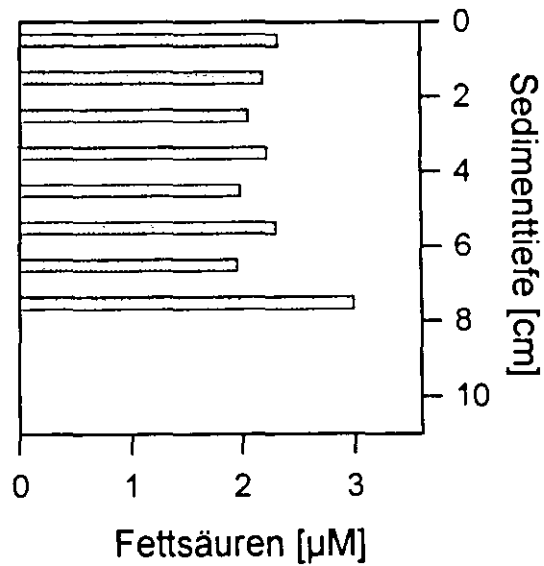


Abbildung 26: Konzentrationen von freien Aminosäuren und niederkettigen Fettsäuren im Porenwasser des Standorts Hiddensee und prozentualer Anteil einzelner Komponenten im Sediment-Vertikalprofil am 10.6.1992 (n.b. nicht bestimmt).

3.2.2.2 Probennahme am 16.6.1992

Eine Vergleichs-Untersuchung zur Probennahme vom 10.6.1992 wurde sechs Tage später durchgeführt, um die Auswirkungen hoher Temperaturen auf die Sulfatreduktions-Raten zu erfassen. Denn zu diesem Zeitpunkt hatte die Sedimenttemperatur mit 30 °C an der Oberfläche durch die starke Sonneneinstrahlung einen Extremwert erreicht (1100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, J. Rethmeier, Uni Bremen, persönliche Mitteilung). Gradienten von Sulfat-Konzentration und Redoxpotential waren vergleichbar mit denen vom 10.6.1992. Auch die Sulfatreduktions-Raten lagen weiterhin im Sediment-Horizont zwischen 6 und 8 cm am höchsten und hatten etwas zugenommen (Abbildung 27).

Datum	16.6.1992
Uhrzeit	12:00
Lufttemperatur [°C]	22
Luftdruck [mbar]	1018
Wassertiefe [cm]	5
Wassertemperatur [°C]	26
Salinität [‰]	10,5
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	13
Sedimenttemperatur [°C]	30

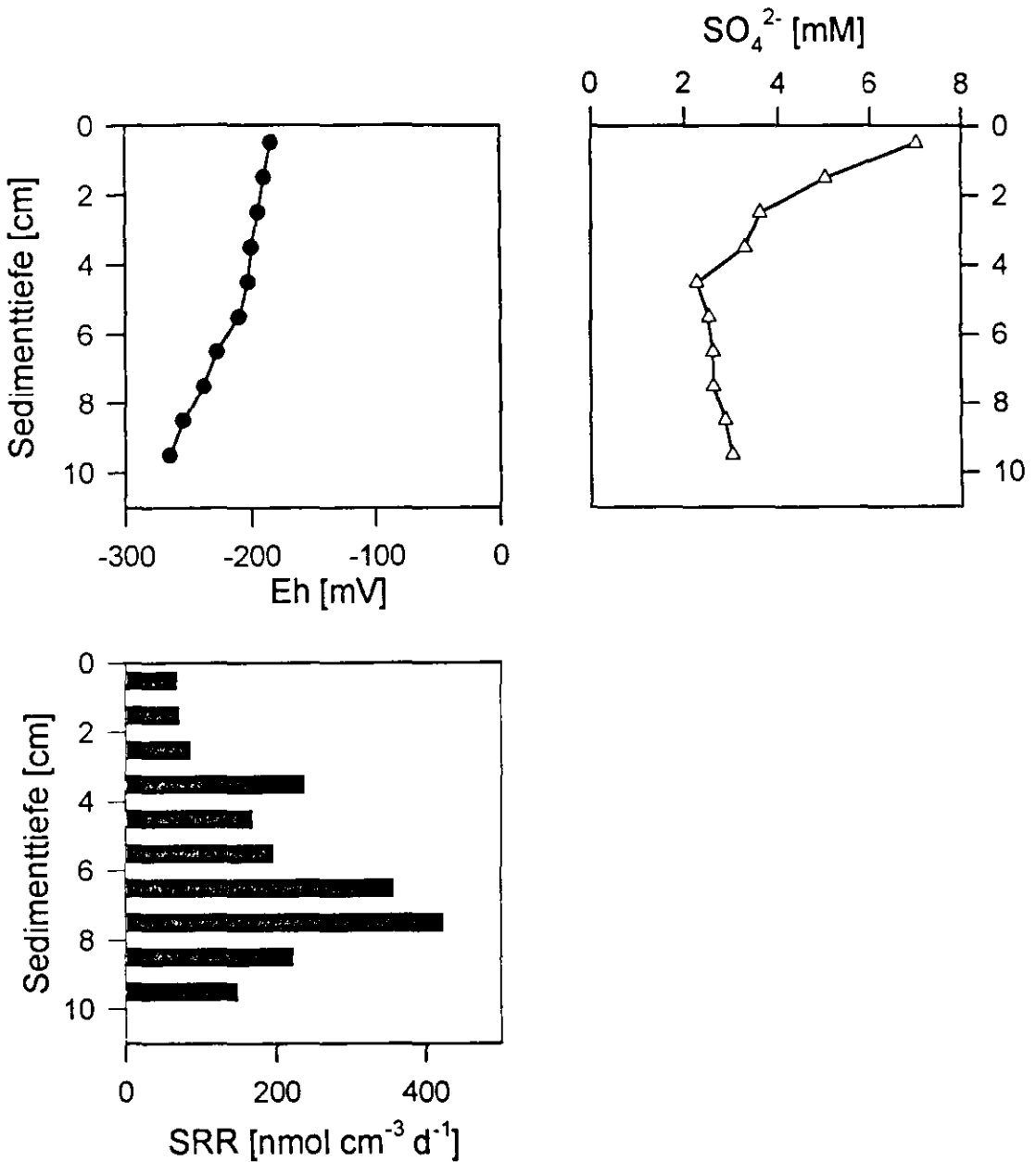


Abbildung 27: Redoxpotential (links oben), Sulfat-Konzentrationen (rechts oben) sowie Sulfatreduktions-Raten im Sediment-Vertikalprofil am Standort Hiddensee(16.6.1992).

3.2.2.3 Probennahme am 23.8.1992

Das Redoxpotential war gekennzeichnet durch einen steilen Gradienten im obersten Zentimeter (von 200 mV auf -140 mV) mit maximalen Sulfatreduktions-Raten und nahm in den tiefer gelegenen Sediment-Horizonten nur unwesentlich ab. Die pH-Werte zeigten einen oft beobachteten charakteristischen Verlauf mit einem Minimum in 4-6 cm Sedimenttiefe (Abbildung 29). Die Sulfat-Konzentration sank dort am stärksten, wo die höchsten Sulfatreduktions-Raten verzeichnet wurden, d.h. im Sediment-Horizont 0-3 cm.

Während die Zone der aktivsten dissimilatorischen Sulfatreduktion in den obersten vier Zentimetern zu finden war und sich dies in einem H₂S-„Peak“ in 3-4 cm Tiefe äußerte, wurde die höchste H₂S-Konzentration in 9-10 cm Sedimenttiefe gemessen. In dieser Schicht wurde andererseits die geringste Sulfatreduktions-Rate bestimmt. Thymidin- und Leucin-Inkorporations-Raten waren mit denen vom Standort Fährdorf am 25.8.1992 zu vergleichen (Abbildung 28).

In dem Sediment-Horizont mit den höchsten Sulfatreduktions-Raten wurden die niedrigsten Aminosäure-Konzentrationen gemessen, bei den Fettsäuren war dieser Trend nicht eindeutig zu erkennen. Die Zusammensetzung der Fettsäuren war in allen Sedimenttiefen relativ gleichförmig (Abbildung 30)

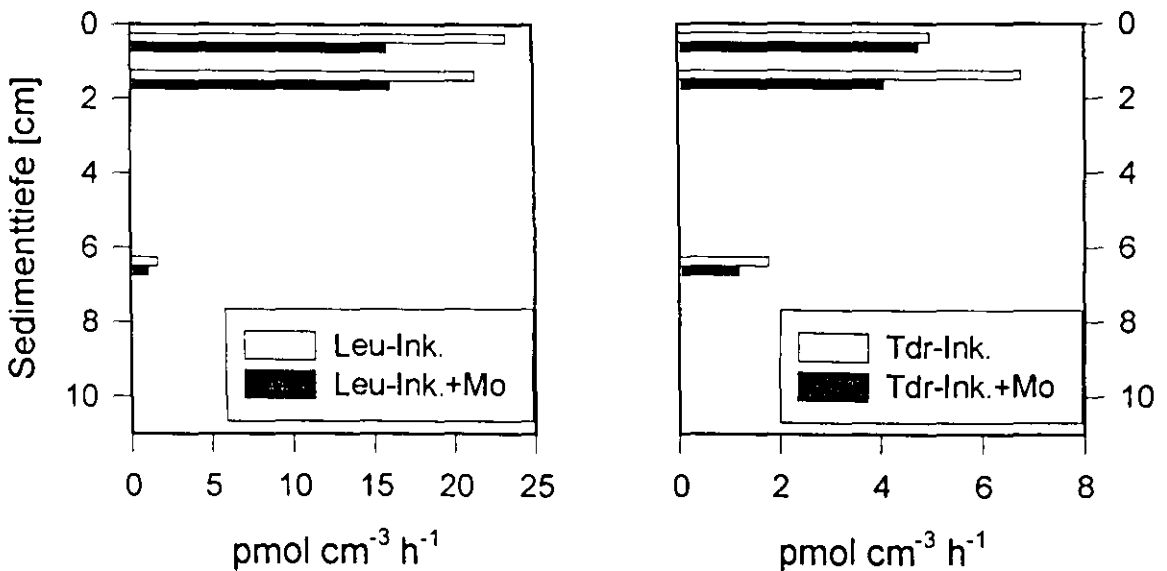


Abbildung 28: Thymidin- (rechts) und Leucin-(links) Inkorporationsraten im Sediment-Vertikalprofil unter Zugabe von 20 mM Molybdat (+Mo) im Vergleich zu Kontrollen ohne Molybdat am Standort Hiddensee am 23.8.1992.

Datum	23.8.1992
Uhrzeit	11:00
Lufttemperatur [°C]	19
Luftdruck [mbar]	1014
Wassertiefe [cm]	40
Wassertemperatur [°C]	17
Salinität [‰]	9,6
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	7,6
Sedimenttemperatur [°C]	---

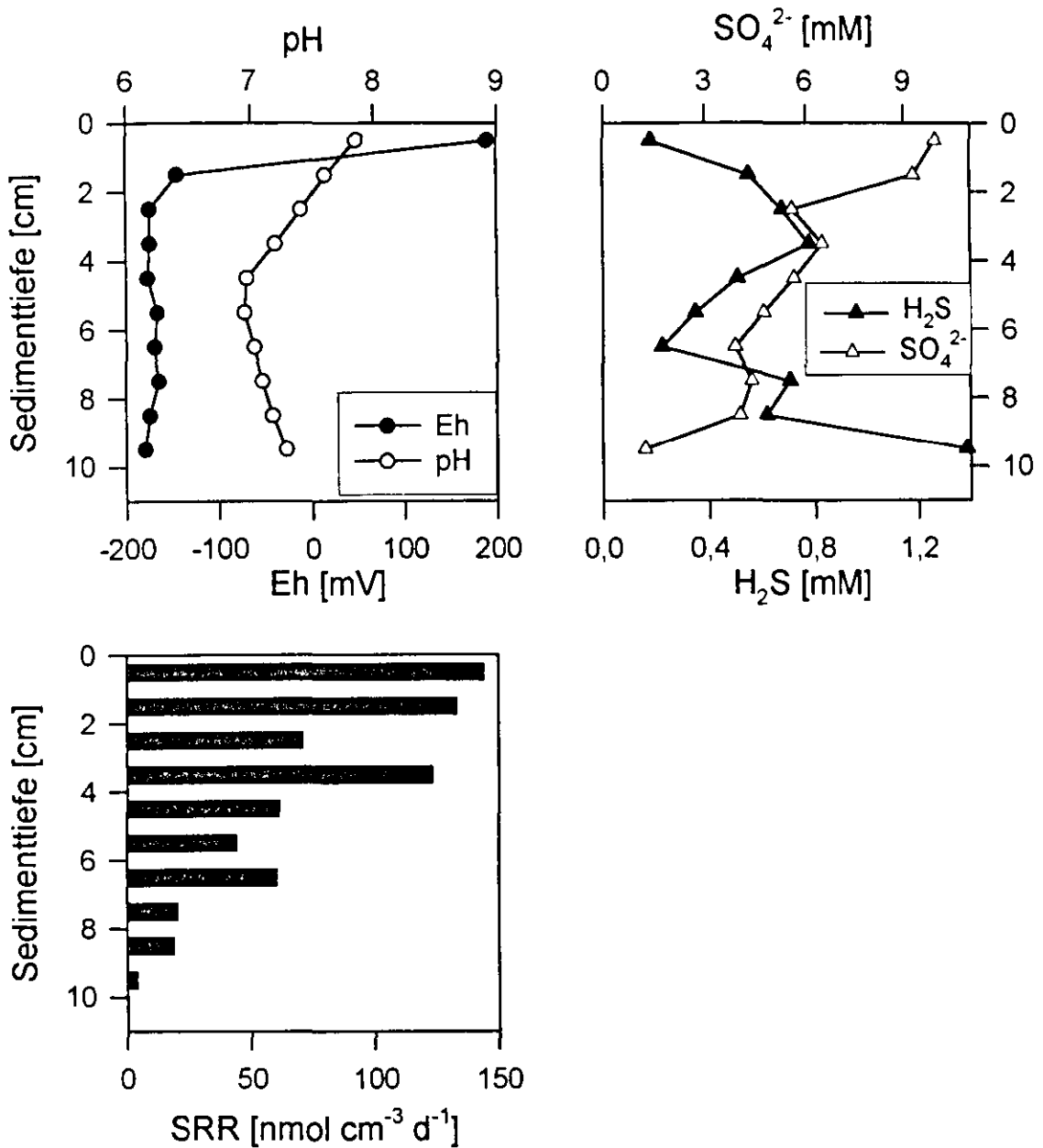
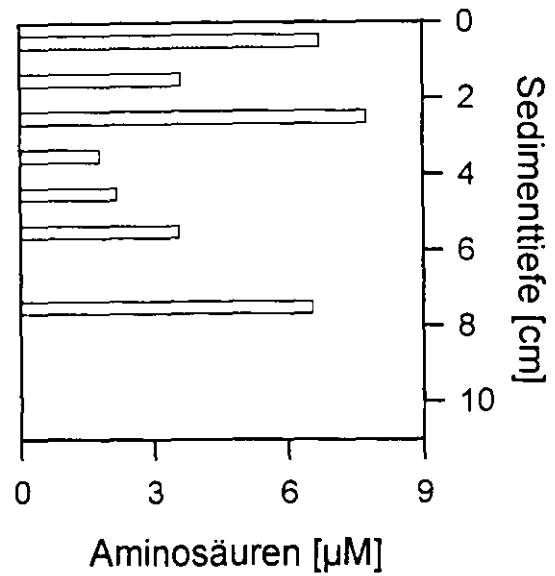


Abbildung 29: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H₂S-Konzentrationen (rechts oben) sowie Sulfatreduktions-Raten am Standort Hiddensee am 23.8.1992.

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Ala	Leu	Pha	Lys
	[%]					
0-1	3	6	16			75
1-2	5	9	18			68
2-3	5	5	14	38	21	17
3-4						100
4-5	11					89
5-6	7	10				83
6-7			n.b.			
7-8	9	10	15		16	50
8-9			n.b.			
9-10			n.b.			



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet	Prop	Buty	Succ	Vale
	[%]						
0-1	18	6	23	2		43	8
1-2	25	12	23	2	1	31	6
2-3	25	13	19	1		35	7
3-4	24	8	24	2		25	7
4-5	28	11	20	3	1	31	6
5-6				n.b.			
6-7				n.b.			
7-8				n.b.			
8-9				n.b.			
9-10				n.b.			

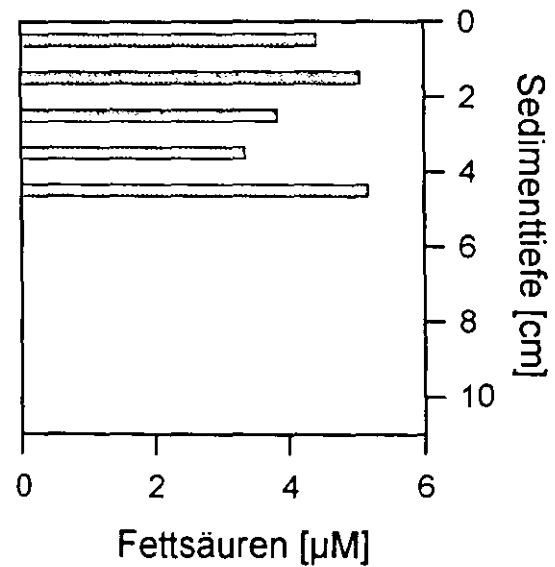


Abbildung 30: Konzentrationen freier Aminosäuren und niederkettiger Fettsäuren im Porenwasser sowie prozentualer Anteil einzelner Komponenten im Sediment-Vertikalprofil des Standorts Hiddensee am 23.8.1992 (n.b. nicht bestimmt).

3.2.2.4 Probennahme am 25.4.1993

Mit fast $1500 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ fiel ein deutliches Maximum der Sulfatreduktions-Raten in den Oberflächen-Horizont, wo der Eh-Gradient sehr steil war. Wie bei vielen anderen Probennahmen am Standort Hiddensee fiel der pH-Wert in den obersten zwei Zentimetern am stärksten (von 7,9 auf 7,0). Auch eine besonders starke Abnahme der Sulfat-Konzentration und eine Akkumulation von Aminosäuren (hauptsächlich vertreten waren Alanin, Isoleucin und Leucin) fiel in diese Tiefe (Abbildung 32). Dagegen war die Gesamt-Konzentration von niederkettigen Fettsäuren erst in 3-4 cm Sedimenttiefe am höchsten. Ein leichter Anstieg der Sulfat-Konzentration im Horizont von 3-6 cm könnte mit anaerober Thiosulfat-Oxidation zu Sulfat zusammenhängen (s. 4.3.4.1). Insgesamt fiel die Abnahme der Sulfat-Konzentration über zehn Zentimeter Sedimenttiefe von 9 auf 5 mM recht gering aus. Die H_2S -Konzentration nahm erst im Sediment-Horizont von 9-10 cm deutlich zu und schwankte ansonsten zwischen 0,05 und 0,18 mM (Abbildung 31).

Datum	25.4.1993
Uhrzeit	11:00
Lufttemperatur [°C]	14
Luftdruck [mbar]	1016
Wassertiefe [cm]	17
Wassertemperatur [°C]	14,9
Salinität [‰]	10,2
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	7,5
Sedimenttemperatur [°C]	---

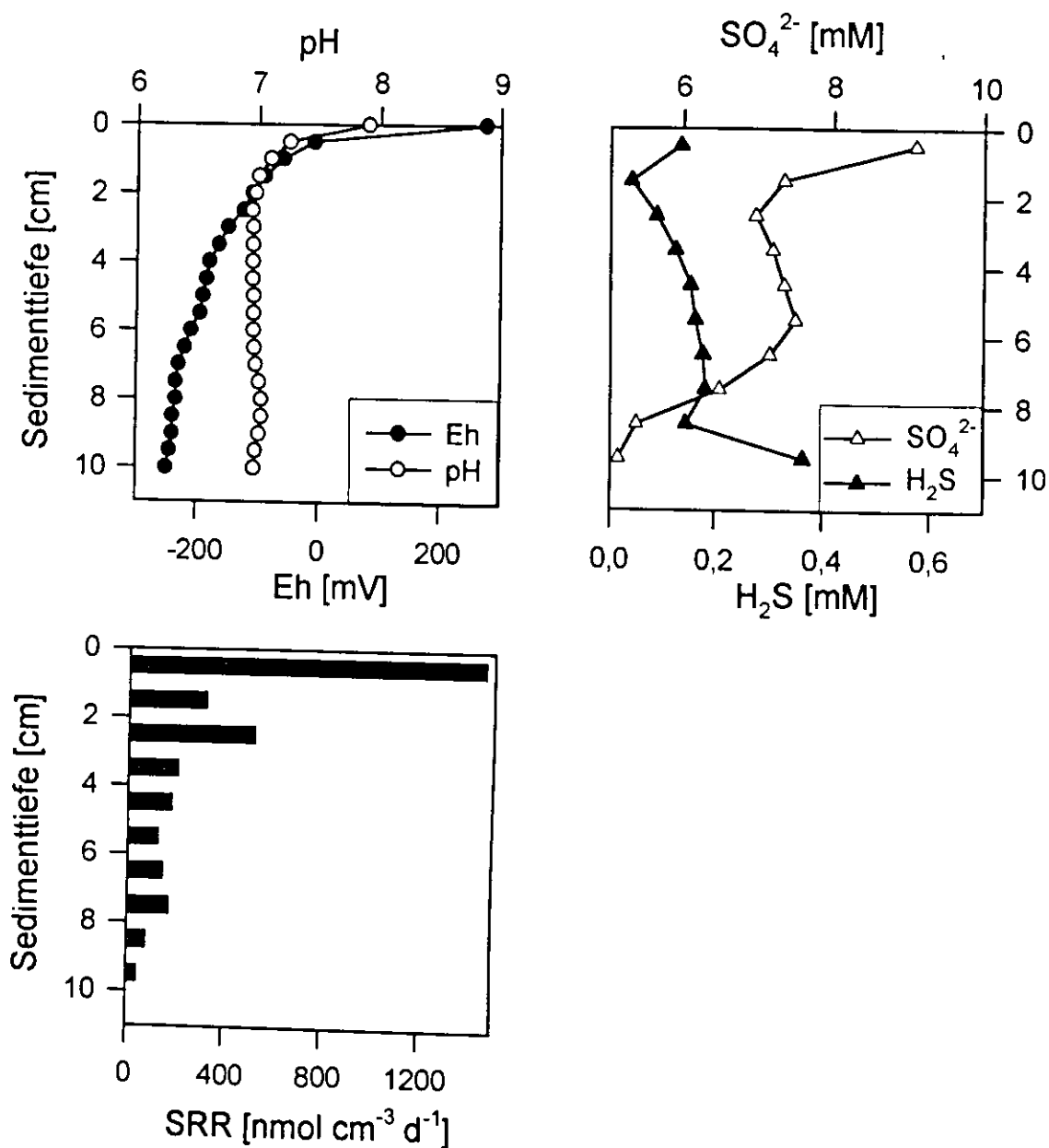
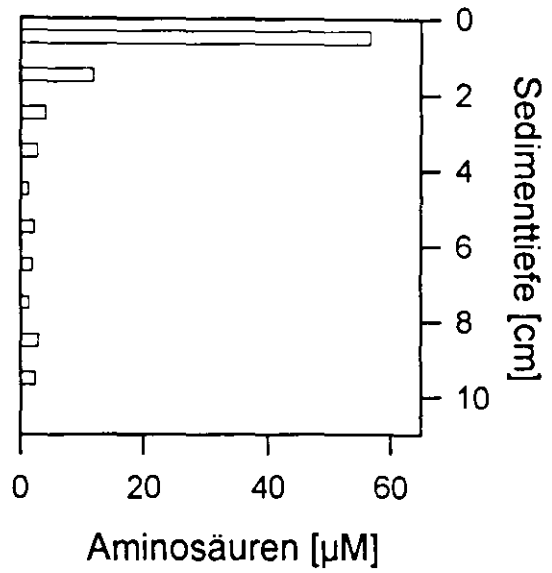


Abbildung 31: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H₂S-Konzentrationen (rechts oben) sowie Sulfatreduktions-Raten am Standort Hiddensee am 25.4.1993.

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Thr	Arg	Ala	Pro	Val	Ile	Leu	Pha	Lys
	[%]										
0-1	5	8	3	1	15	9	6	17	28		7
1-2	6	16	6	2	16	7	3	16	28		
2-3	4	2	3	2	17	7	5	14	46		
3-4	4	2	1	1	11	4	2	17	49		9
4-5	5	3	6	3	17	6	8	14	25		13
5-6	4	2	2	1	16	6	6	11	39		13
6-7	3	2	6	5	11	3	8	9	31		13
7-8	2	1	4	2	4	2	12	10	26		37
8-9	1	1	2	1	1	1	6	6	11	24	46
9-10	3	1			7	24	6	5	12	10	32



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet	Prop	Buty	Succ	Vale	Capr
	[%]							
0-1	7		67	9			15	2
1-2			67	7			22	4
2-3	12		63	9			12	4
3-4	1	3	39	6	7	28	8	8
4-5	4	6	43	4	5	26	10	2
5-6	3	2	36	8	8	35	7	1
6-7						n.b.		
7-8						n.b.		
8-9						n.b.		
9-10						n.b.		

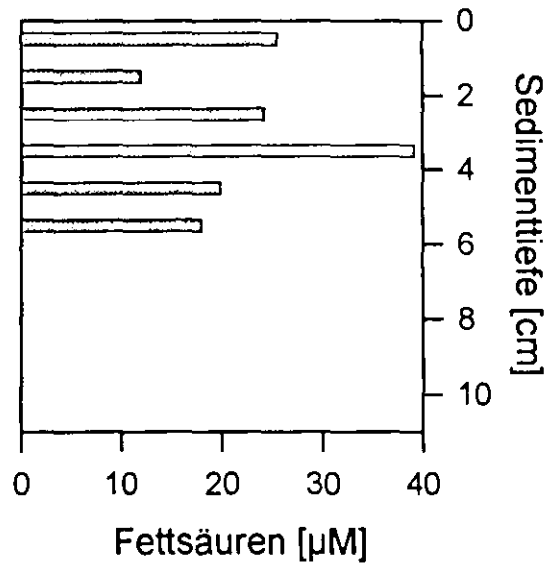


Abbildung 32: Gesamt-Aminosäure- und -Fettsäure-Konzentrationen im Porenwasser und prozentualer Anteil einzelner Komponenten im Sediment-Vertikalprofil des Standorts Hiddensee am 25.4.1993 (n.b. nicht bestimmt).

3.2.2.5 Probennahme am 14.6.1993

In den obersten 4 cm waren die Sulfatreduktions-Raten mit bis zu $750 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ drei bis vier mal so hoch wie in den tiefer gelegenen Horizonten, was sich in einem H_2S -Maximum in 3-5 cm widerspiegelte. Durch die Sulfatreduktion produziertes H_2S wurde offensichtlich rasch oxidiert, da von 2-0 cm die Konzentration bald auf Null sank. Mit Ausnahme des Meßpunktes unmittelbar an der Sedimentoberfläche, wurden ausschließlich negative Redoxpotentiale registriert. In der Schicht von 0-0,5 cm betrug der Redoxsprung -320 mV. Aminosäuren- und Fettsäuren-Bestimmungen fanden nicht statt (Abbildung 33).

Datum	14.6.1993
Uhrzeit	10:00
Lufttemperatur [°C]	15
Luftdruck [mbar]	1022
Wassertiefe [cm]	15
Wassertemperatur [°C]	13,5
Salinität [‰]	9,7
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	7,9
Sedimenttemperatur [°C]	---

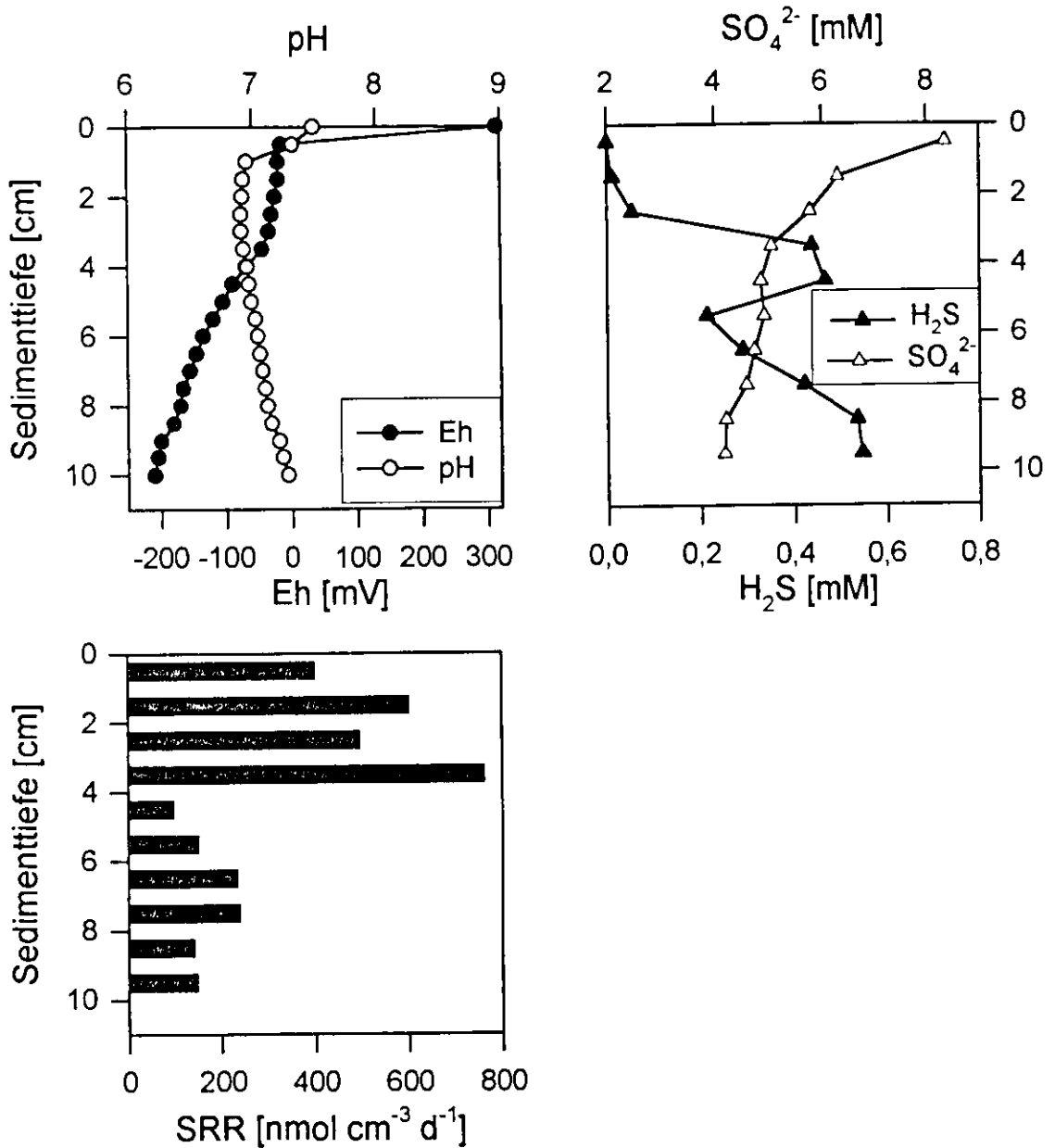
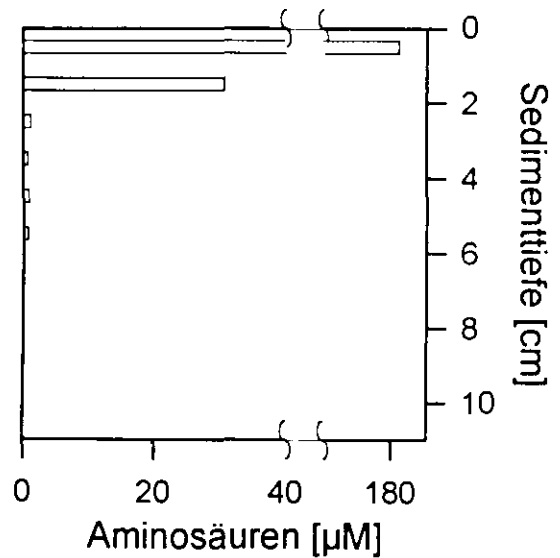


Abbildung 33: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H₂S-Konzentrationen (rechts oben) sowie Sulfatreduktions-Raten am Standort Hiddensee am 14.6.1993.

3.2.2.6 Probennahme am 3.11.1993

Redoxpotential und Sulfat-Konzentration nahmen exponentiell mit der Sedimenttiefe ab und der pH-Wert hatte, anders als an den anderen Probennahme-Termine im Jahre 1993, ein Minimum im Horizont von 4-5 cm. Dabei zeigten die Sulfatreduktions-Raten einen vergleichbaren Verlauf mit der Tiefe wie am 14.6.1993 (Abbildung 35). Die Raten waren aber nur ein Viertel so groß wie im Sommer. Eine sehr hohe Aminosäure-Konzentration mit einem sehr hohen Anteil an Arginin wurde im obersten Sediment-Horizont festgestellt. Eine rasche Abnahme der Aminosäure-Konzentration mit der Tiefe in den obersten 2 cm ging mit einem Anstieg der Fettsäure-Konzentrationen einher und erreichte ein Maximum von über 20 μM in der Sedimentschicht von 2-3 cm (Abb. 34).

Tiefe [cm]	Ser	Gly	His	Thr	Arg	Ala	Pro	Val	Ile	Leu	Pha
	[%]										
0-1	1	9	3	1	62	1	4	6	3	6	3
1-2	1	7	7	2	44		4	10	4	11	9
2-3	5	7	6	6	33		6	14	5		22
3-4		13	21		29		12		12		13
4-5	9	8	9		11	2			20		41
5-6	11	12	7		4						66
6-7											n.b.
7-8											n.b.
8-9											n.b.
9-10											n.b.



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet	Prop	Buty	Succ	Vale	Capr
	[%]							
0-1	3	9	8	12	2	46	16	4
1-2	6	1	4	6		71	10	2
2-3	4		6	12		74	4	
3-4	2		3	6		75	11	3
4-5	5	1	6	13	2	56	15	2
5-6	7	1	9	17	3	47	14	2
6-7								n.b.
7-8								n.b.
8-9								n.b.
9-10								n.b.

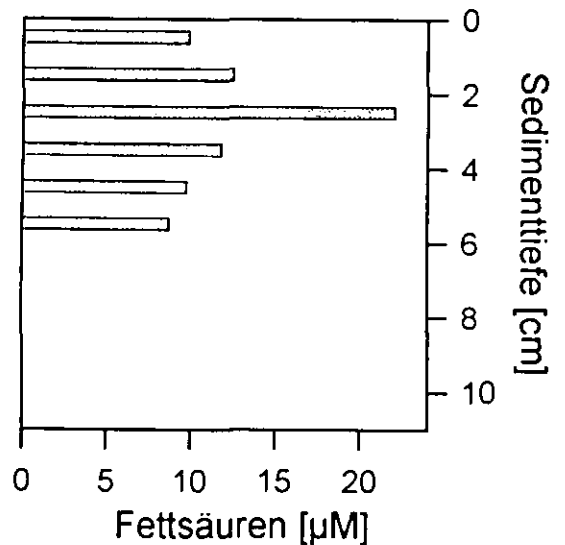


Abbildung 34: Gesamt-Aminosäure- und -Fettsäure-Konzentrationen im Porenwasser und prozentualer Anteil einzelner Komponenten im Sediment-Vertikalprofil des Standorts Hiddensee am 3.11.1993 (n.b. nicht bestimmt).

Datum	3.11.1993
Uhrzeit	10:00
Lufttemperatur [°C]	6
Luftdruck [mbar]	1024
Wassertiefe [cm]	20
Wassertemperatur [°C]	3,8
Salinität [‰]	9,7
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	7,4
Sedimenttemperatur [°C]	---

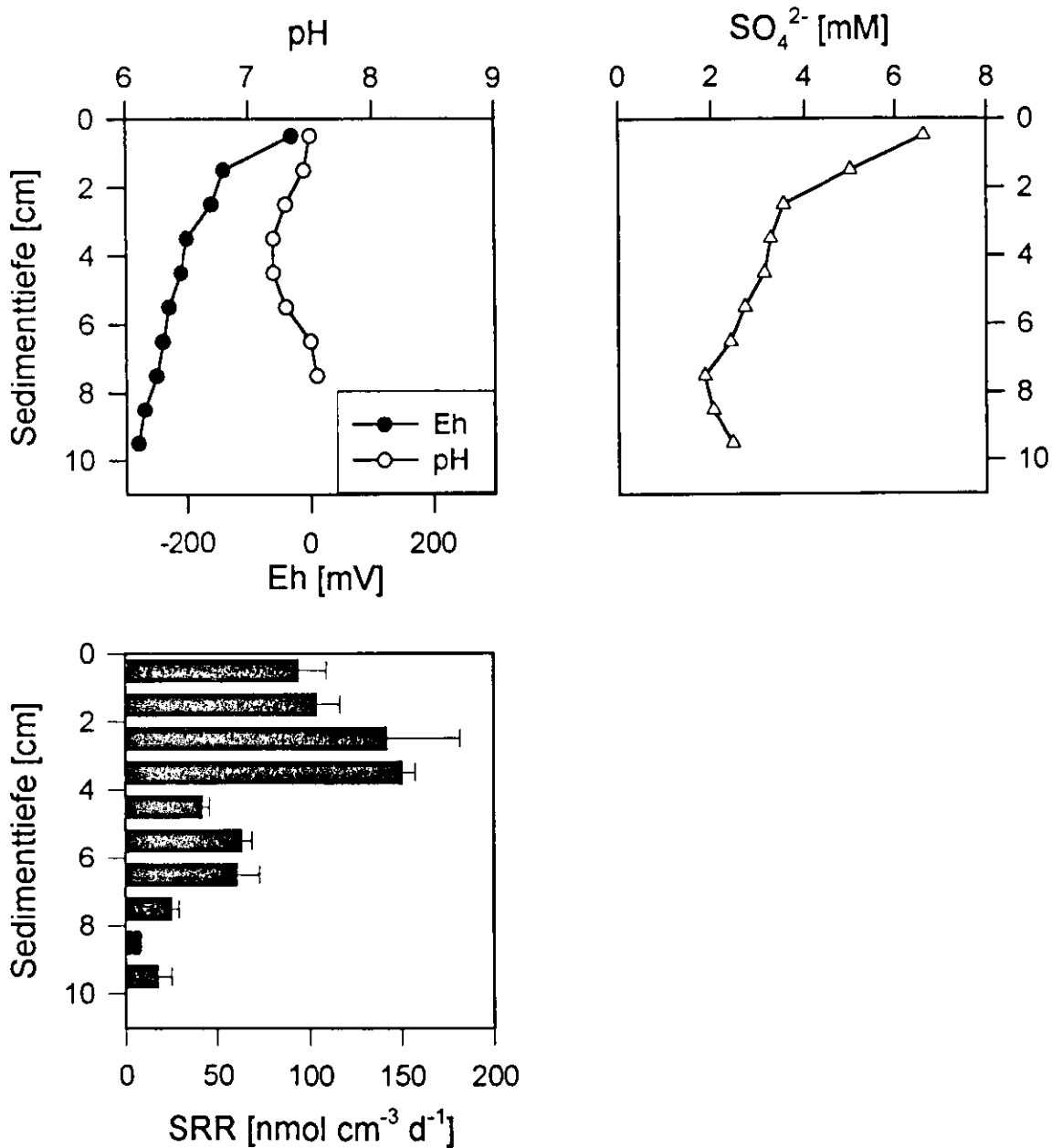


Abbildung 35: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat-Konzentrationen (rechts oben) sowie Sulfatreduktions-Raten (Mittelwerte aus n=3; Standardabweichung als Fehlerbalken) am Standort Hiddensee am 3.11.1993.

3.2.2.7 Probennahme am 19.5.1994

Ein Redox-Sprung von -600 mV und eine Abnahme der Sulfat-Konzentration von 7 mM im Oberflächenwasser (nicht in der Abbildung) auf 0,4 mM in den obersten 1,5 cm ging mit den höchsten in den Freiland-Untersuchungen gemessenen Sulfatreduktions-Raten ($1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$) einher (Abbildung 36). Höchste Abundanzen von Laktat-verwertenden Sulfatreduzierern beherrschten diese Zone maximaler Sulfatreduktion an der Sedimentoberfläche, während Acetat-verwertende Sulfatreduzierer mit der Sedimenttiefe an Bedeutung zunahm (vgl. auch 3.2.1.5, Probennahme vom 19.5.1994 am Standort Fährdorf). Eine Besonderheit stellte die Zunahme der Sulfat-Konzentration von 0,1 auf 6 mM in 5-6 cm Sedimenttiefe dar. Sie könnte Ausdruck eines hohen Potentials für die anaerobe Oxidation reduzierter Schwefelverbindungen gewesen sein (Abbildung 36).

Höchste Konzentrationen von Aminosäuren und Fettsäuren fielen in den Sediment-Horizont mit den niedrigsten Sulfatreduktions-Raten, wobei sich ihr Verlauf im Vertikalprofil ähnelte. Die Fettsäure-Konzentrationen lagen ungefähr zehnmal so hoch. Acetat war in Sediment-Horizonten mit minimaler Sulfatreduktions-Raten am stärksten vertreten (bis $100 \mu\text{M}$), während es an der Sedimentoberfläche mit höchsten Sulfatreduktions-Raten kaum nachweisbar war (Abbildung 37).

Datum	19.5.1994
Uhrzeit	13:00
Lufttemperatur [°C]	15
Luftdruck [mbar]	1014
Wassertiefe [cm]	15
Wassertemperatur [°C]	13
Salinität [‰]	10.4
Sauerstoffgehalt [mg l ⁻¹]	10.7
Sedimenttemperatur [°C]	---

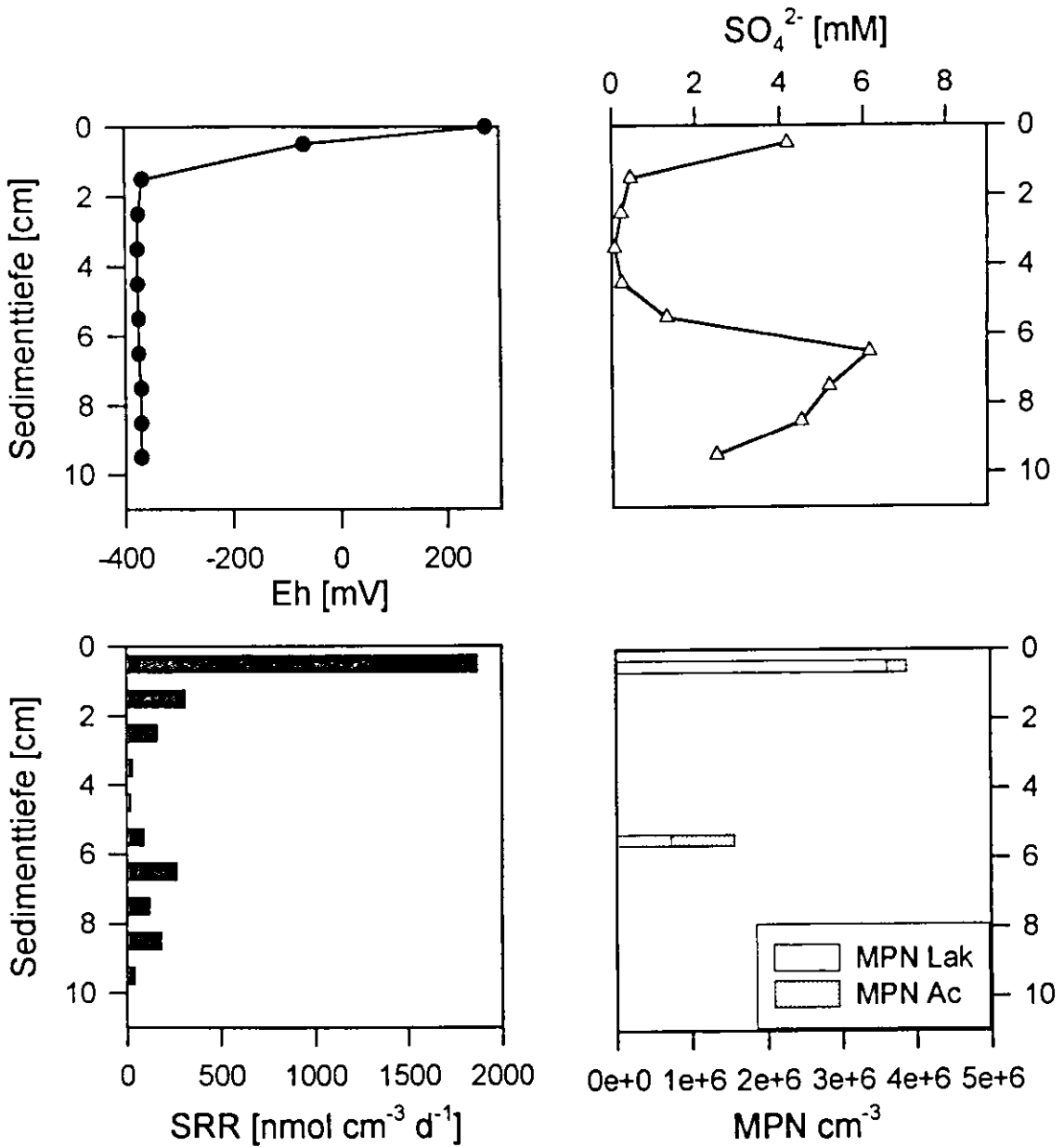
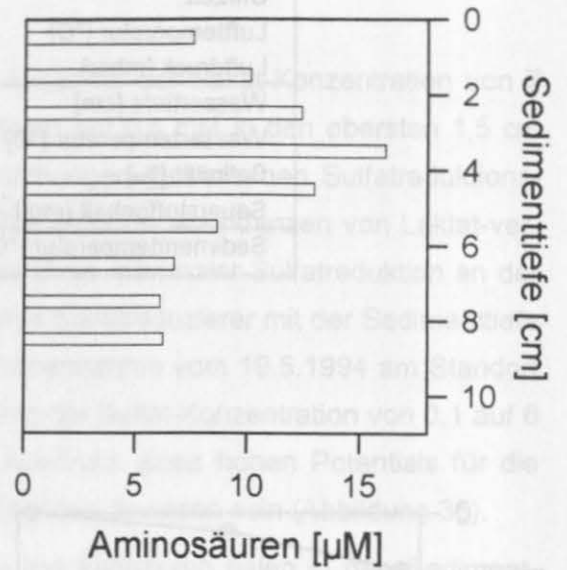


Abbildung 36: Redoxpotential (links oben), Sulfat-Konzentrationen (rechts oben), Sulfatreduktions-Raten sowie Abundanzen Laktat- und Acetat-verwertender Sulfatreduzierer im Sediment-Vertikalprofil des Standorts Hiddensee am 19.5.1994.

Tiefe [cm]	Ser	Gly	Thr	Ala	Pro	Val	Met	Ile	Leu
	[%]								
0-1	3	7	3	23	9	10		11	33
1-2	2	3	5	20	6	11		15	38
2-3	2	3	6	18	8	16	7	9	31
3-4	2	3	6	27	13	7	1	10	31
4-5	6	2	4	22	9	7	1	11	38
5-6	3		2	13	3	7		17	55
6-7	3		1	16	2	3		18	59
7-8	3		1	15	1	3		16	62
8-9	3			13		3		19	62
9-10	n.b.								



Tiefe [cm]	Form	Acet	Prop	Buty	Succ	Vale	Capr
	[%]						
0-1	1	4	1		89		5
1-2		44	10	2	41	1	2
2-3		44	17	3	34	1	1
3-4		40	11	2	44	1	2
4-5		35	10	2	51		2
5-6		24	5	1	68		2
6-7	1	6	2		85		6
7-8	1	8	2		85		6
8-9	1	12	3		82		2
9-10		23	3		71		3

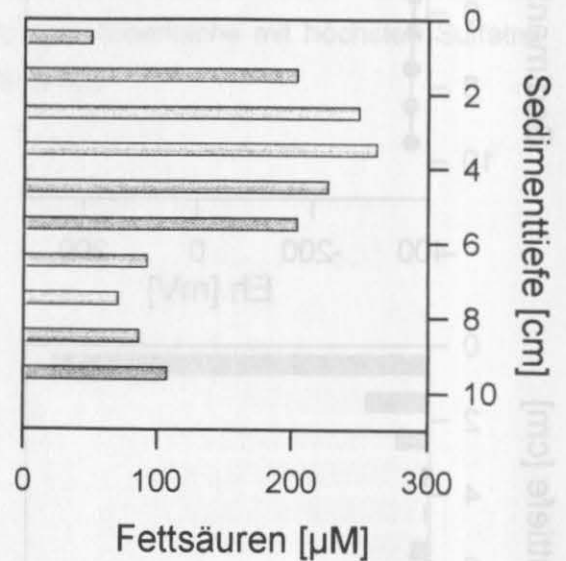


Abbildung 37: Gesamt-Aminosäure- und -Fettsäure-Konzentrationen im Porenwasser des Standorts Hiddensee und prozentuale Anteile einzelner Komponenten im Sediment-Vertikalprofil am 19.5.1994 (n.b. nicht bestimmt).

3.2.3 Gotland-Tief

3.2.3.1 Probennahme am 30.4.1993 an der „Alkor-Station“

Nachdem im Januar/Februar 1993 ein Salzwasser-Einstrom bis in das Gotland-Tief erfolgte, konnte dort erstmalig seit 1978 wieder Sauerstoff nachgewiesen werden. Eine 50 m mächtige Wasserschicht in 200 m Wassertiefe repräsentierte „alte“, durch das eingeströmte dichtere Wasser nach oben gedrückte Wassermassen (Abbildung 38).

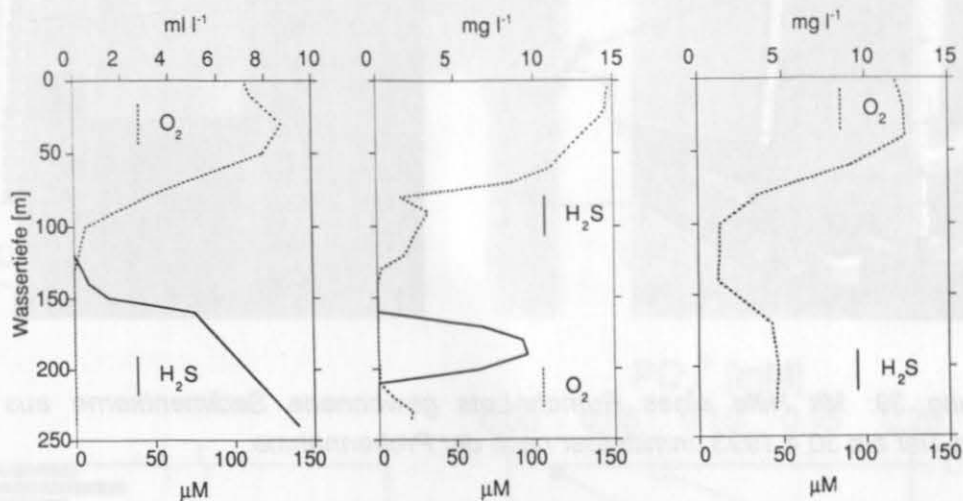


Abbildung 38: Sauerstoff- und H_2S -Profile über dem Gotland-Tief vom 31.7.1987 (links, aus Brettar, 1991), 29.4.1993 (mitte) und 14.6.1994.

Versuche, Sediment-Proben mit Hilfe eines Kastengreifens ohne Bleigewichte zu gewinnen, scheiterten aufgrund des hohen Wassergehalts in den obersten Sedimentschichten (85-95% in den obersten 20 cm). Mit einem Rohr-Lot („Rumohr-Lot“) konnten die Probennahmen erfolgreich durchgeführt werden, welche relativ ungestörte Sedimentkerne (Abbildung 39) ergaben.

Das Sediment war charakterisiert durch ein durchgehend niedriges Redoxpotential, eine exponentiell abnehmende Sulfat-Konzentration und einem starken Konzentrationsanstieg von Ammonium und gelöstem anorganischem ortho-Phosphat bis in eine Sedimenttiefe von ca. 6-7 cm. Hier wurden die mit Abstand höchsten Sulfatreduktionsraten und H_2S -Konzentrationen beobachtet, während mit zunehmender Sedimenttiefe bei beiden Parametern eine stark abnehmende Tendenz zu verzeichnen war (Abbildung 41). Die höchsten Fettsäure-Konzentrationen wurden in 11-13 cm Sedimenttiefe gemessen, wobei Acetat vorherrschte (Abbildung 40).

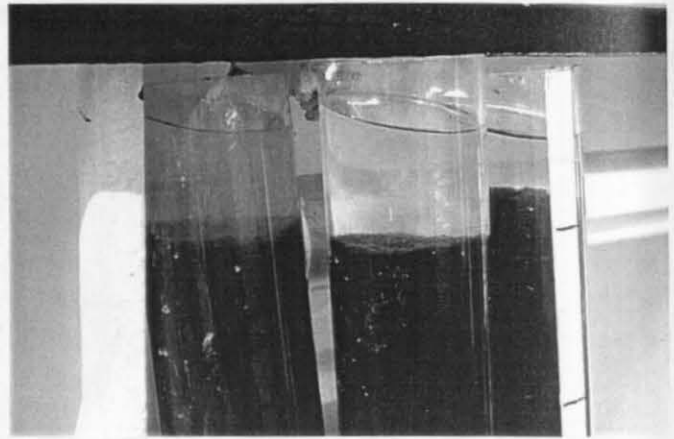
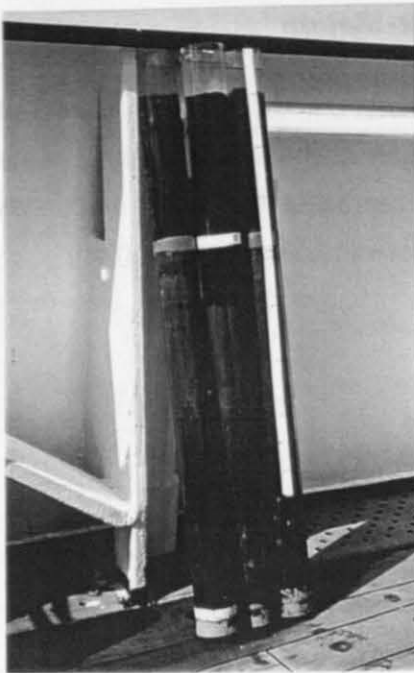


Abbildung 39: Mit Hilfe eines Rumohr-Lots gewonnene Sedimentkerne aus dem Gotland-Tief am 30.4.1993 unmittelbar nach der Probennahme.

Tiefe [cm]	Form	Acet	Prop	Vale	B.ace	Capr
	[%]					
0-1	3	77	16	4		
5-6	2	5	12	3	27	10
9-10	1	67	8	2	10	12
11,25-13,75	1	17	3			79
13,75-16,25	3	61		4		32
16,25-18,75	3	70	9	4		14
18,75-21,25	4	84	8	4		
23,25-26,75	6	67		6		21

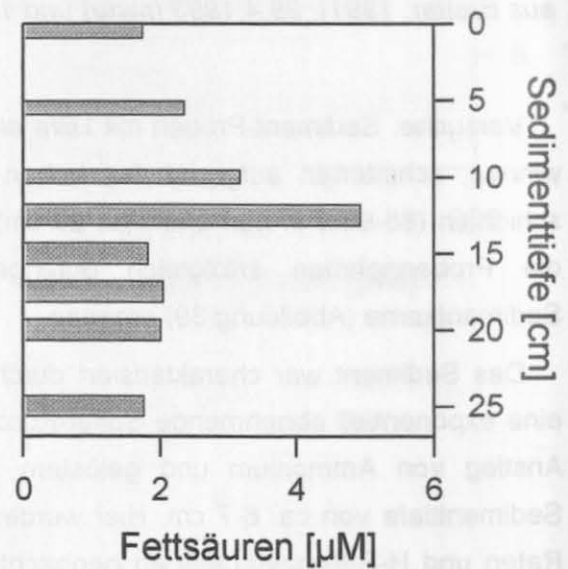


Abbildung 40: Gesamt-Konzentrationen niederkettiger Fettsäuren im Sediment-Vertikalprofil der „Alkor“-Station am 30.4.1993 und prozentuale Anteile einzelner Fettsäuren.

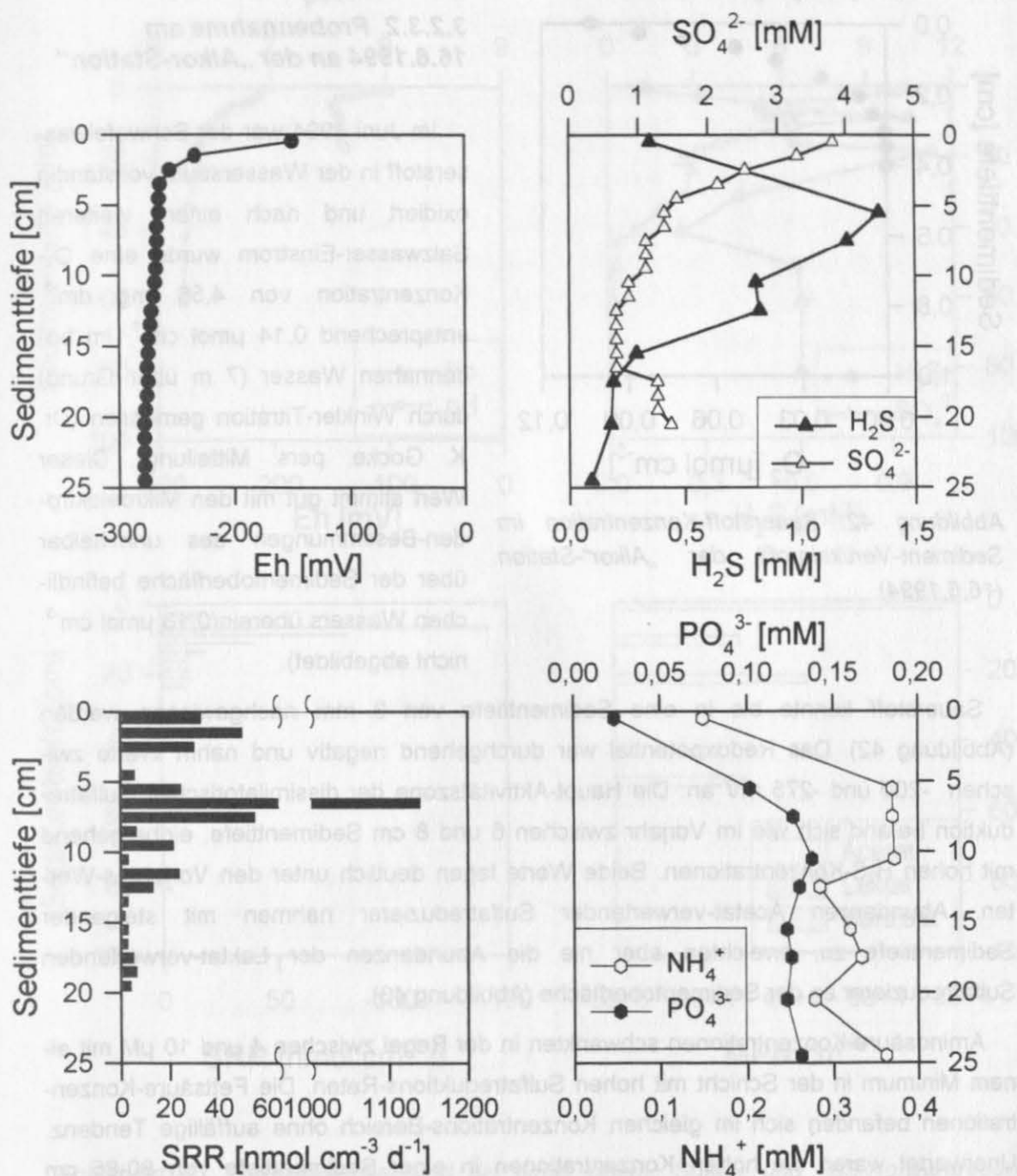


Abbildung 41: Redoxpotential (links oben), Sulfat- und H_2S -Konzentration (rechts oben), Sulfatreduktions-Raten (unten links) sowie Ammonium- und Phosphat-Konzentrationen (unten rechts) von der Probennahme an der „Alkor“-Station am 30.4.1993.

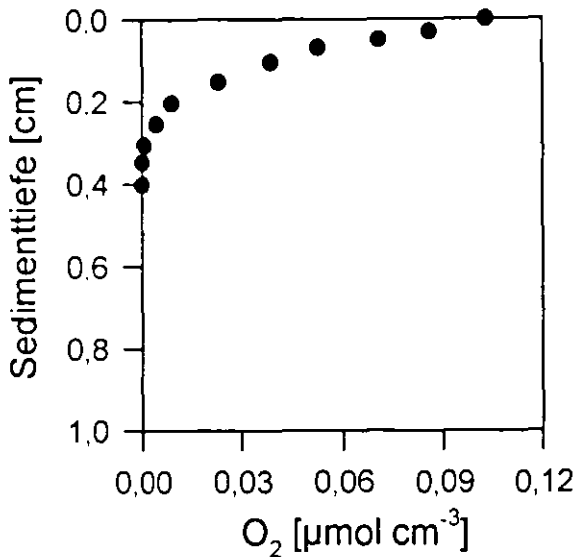


Abbildung 42: Sauerstoff-Konzentration im Sediment-Vertikalprofil der „Alkor“-Station (16.6.1994).

3.2.3.2 Probennahme am 16.6.1994 an der „Alkor-Station“

Im Juni 1994 war der Schwefelwasserstoff in der Wassersäule vollständig oxidiert und nach einem weiteren Salzwasser-Einstrom wurde eine O_2 -Konzentration von $4,56 \text{ mg dm}^{-3}$, entsprechend $0,14 \mu\text{mol cm}^{-3}$, im bodennahen Wasser (7 m über Grund) durch Winkler-Titration gemessen (Dr. K. Gocke, pers. Mitteilung). Dieser Wert stimmt gut mit den Mikroelektroden-Bestimmungen des unmittelbar über der Sedimentoberfläche befindlichen Wassers überein ($0,13 \mu\text{mol cm}^{-3}$; nicht abgebildet).

Sauerstoff konnte bis in eine Sedimenttiefe von 3 mm nachgewiesen werden (Abbildung 42). Das Redoxpotential war durchgehend negativ und nahm Werte zwischen -200 und -275 mV an. Die Haupt-Aktivitätszone der dissimilatorischen Sulfatreduktion befand sich wie im Vorjahr zwischen 6 und 8 cm Sedimenttiefe, einhergehend mit hohen H_2S -Konzentrationen. Beide Werte lagen deutlich unter den Vorjahres-Werten. Abundanzen Acetat-verwertender Sulfatreduzierer nahmen mit steigender Sedimenttiefe zu, erreichten aber nie die Abundanzen der Laktat-verwertenden Sulfatreduzierer an der Sedimentoberfläche (Abbildung 43).

Aminosäure-Konzentrationen schwankten in der Regel zwischen 4 und $10 \mu\text{M}$ mit einem Minimum in der Schicht mit hohen Sulfatreduktions-Raten. Die Fettsäure-Konzentrationen befanden sich im gleichen Konzentrations-Bereich ohne auffällige Tendenz. Unerwartet waren die hohen Konzentrationen in einer Sedimenttiefe von 80-85 cm (Abbildung 44).

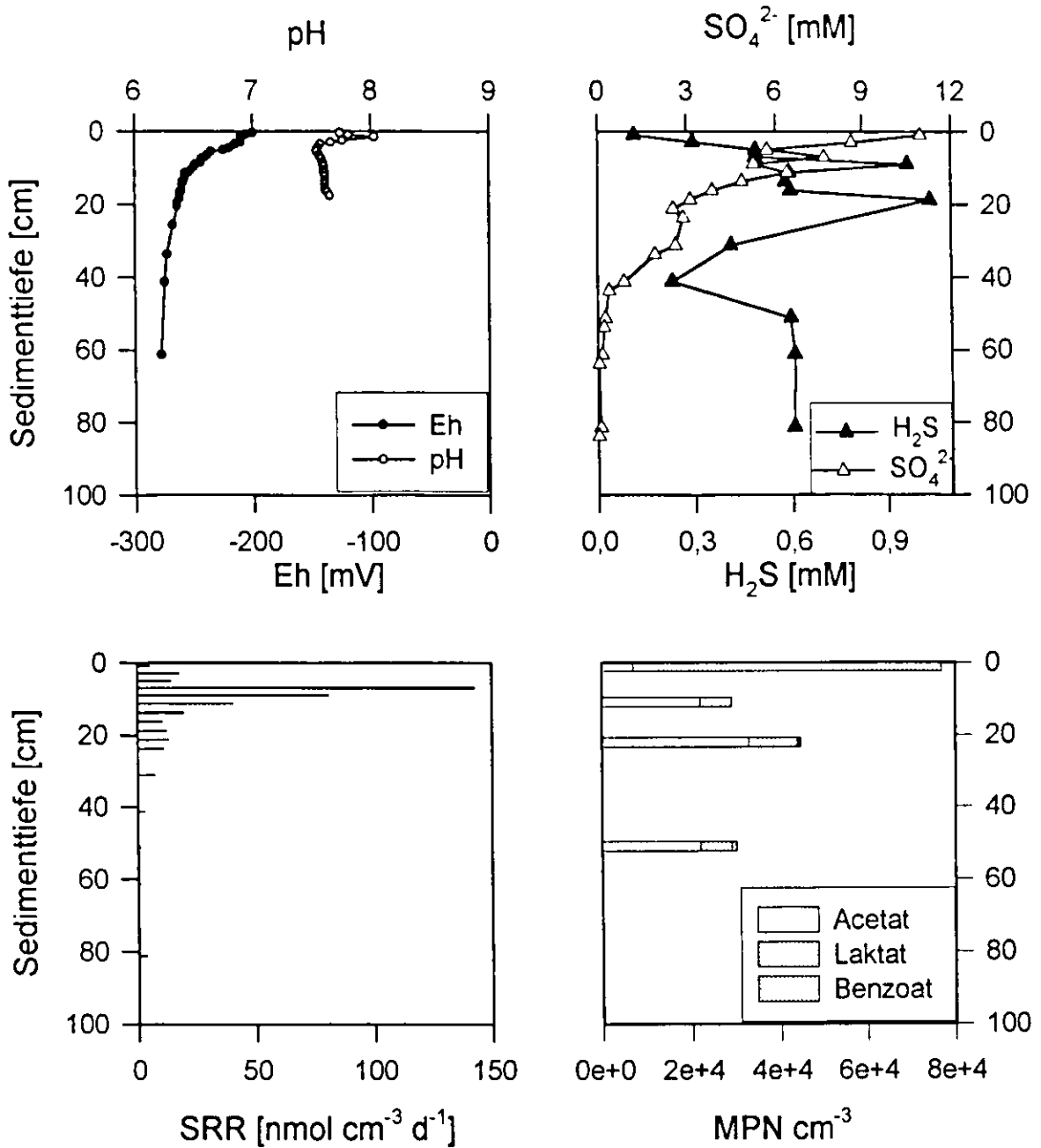
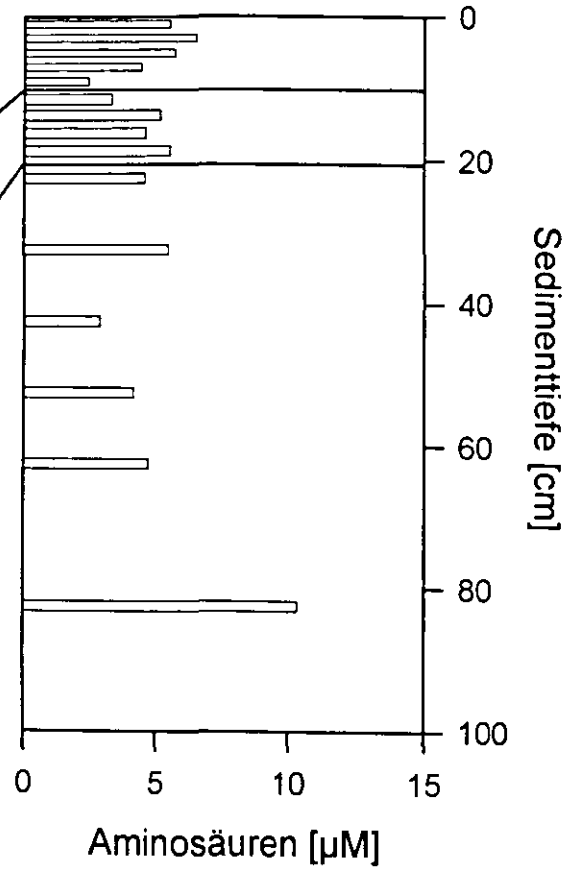


Abbildung 43: Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H_2S -Konzentration (rechts oben), Sulfatreduktions-Raten (unten links) sowie Abundanzen von Acetat-, Laktat- und Benzoat-verwertenden Sulfatreduzierern (unten rechts) von der Probenahme an der „Alkor“-Station am 16.6.1994.

Tiefe [cm]	Ser	Gly	His	Ala	Val	Cys	Ile	Leu	Pha	Lys
	[%]									
0.5-1.5	7	8	7	22	3		13	14	4	22
2.5-3.5	2	2	2	20			22	8	3	41
4.5-5.5	2	2	2	25			22	19		28
6.5-7.5	2	2	2	26			19	19	2	28
8.5-9.5	2	2	4	23			16	21	2	30
10-12.5	2	2	3	23			18	21	5	26
12.5-15	1	3	2	22	3	21		18	10	20
15-17.5	2	2	3	23	4	19	10	19	6	12
17.5-20	2	2	4	18	3	20	12	22	8	9
21.5-24		3	3	18	3	19	10	21	10	13
31.5-34	5	6	4	19	3	28	8	16	8	3
41.5-44	2	4	5	32	4			25	16	12
51.5-54		3	4	20	4	11	11	29	9	9
61.5-64	2	3	4	21	4	24	9	17	7	9
81.5-84	1	2	2	7	2	8	40	24	8	6



Tiefe [cm]	Form	Lakt	Acet	Succ	Vale	B ace	Capr
	[%]						
0.5-1.5	11	5	15	48	2	10	9
2.5-3.5	12	4	15	41	4	15	9
4.5-5.5	9	3	13	47	5	14	9
6.5-7.5	6		20	48	8	9	9
8.5-9.5	5		9	55	6	16	9
10-12.5	12	4	8	44	4	13	15
12.5-15	9		6	43	5	19	18
15-17.5	5		9	69	3	6	8
17.5-20	11		7	61	3	9	9
21.5-24	10		8	61	3	8	10
31.5-34	11		7	62	2	9	9
41.5-44	12		6	61	5	5	11
51.5-54	13		7	62	3	6	9
61.5-64	13		5	63	4	8	7
81.5-84	7		9	71	5	3	5

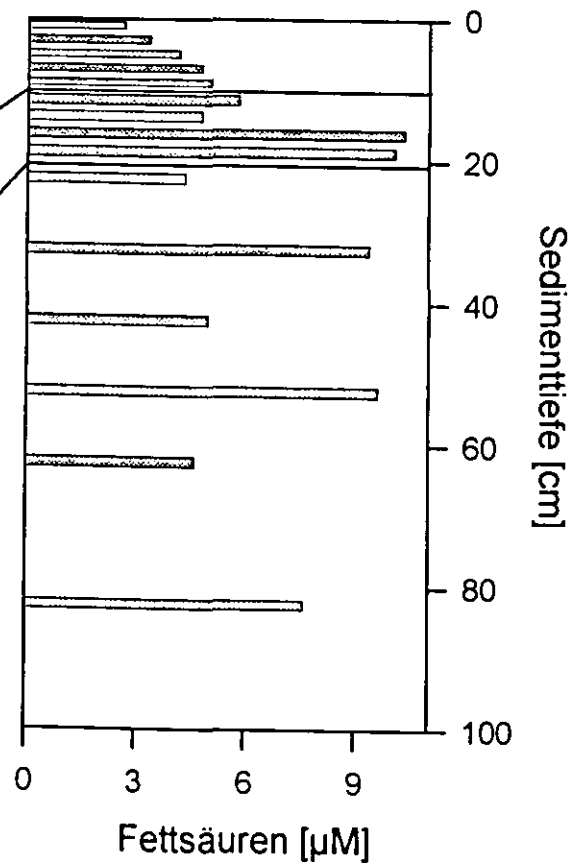


Abbildung 44: Gesamt-Konzentrationen von freien Aminosäuren und niederkettigen Fettsäuren im Sediment-Vertikalprofil der „Alkor“-Station und prozentuale Anteile einzelner Komponenten am 16.6.1994.

3.2.3.3 Probennahme am 14.6.1994 an der „Helcom“-Station

Im Sediment der „Helcom“-Station wurden in den ersten drei Zentimetern wesentlich höhere Eh-Werte registriert und Sauerstoff drang bis in 1,5 cm Tiefe in das Sediment. Die Sulfatreduktions-Raten und H₂S-Konzentrationen lagen 4-5 mal niedriger als an der „Alkor“-Station, jedoch waren die Abundanzen von Sulfatreduzierern vergleichbar (Abbildung 46). Bei beiden Stationen waren Laktat-verwertende Sulfat-reduzierende Bakterien an der Sedimentoberfläche dominierend, während mit der Sedimenttiefe die Bedeutung der Acetat-verwertenden, ähnlich wie in den untersuchten Küsten-Sedimenten, zunahm (Abbildung 45).

Tiefe [cm]	Ser	Gly	His	Ala	Val	Cys	Ile	Leu	Pha	Lys
	[%]									
0,5-1,5	7	7	5	26	5		6	29	9	6
2,5-3,5	11	10		16	5	19	5	23	5	6
4,5-5,5	19	19	2	21	8	12	3	9	3	4
6,5-7,5	19	19	1	20	8	13	3	7	5	5
8,5-9,5	23	22	1	20	8	7	4	19	5	1
10,75-13,25	25	20	4	20	8	8	4	6	4	1
13,75-16,25	21	19	2	19	7	9	4	12	4	3
18,75-21,25	21	18	3	19	9	10	4	10	4	2

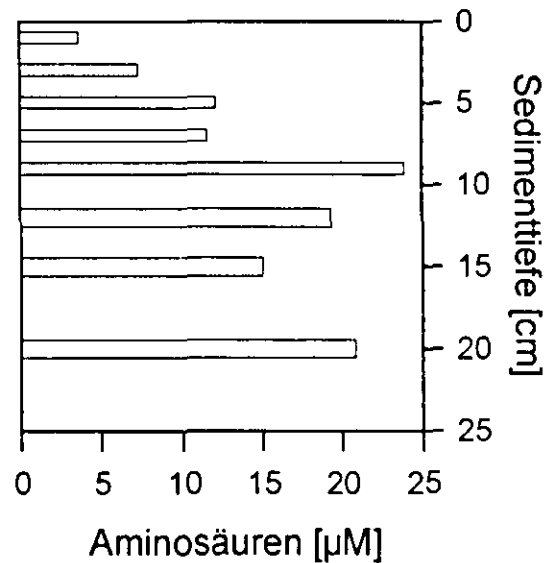


Abbildung 45: Gesamt-Aminosäure-Konzentration im Sediment-Vertikalprofil und prozentuale Anteile einzelner Aminosäuren an der „Helcom“-Station am 14.6.1994.

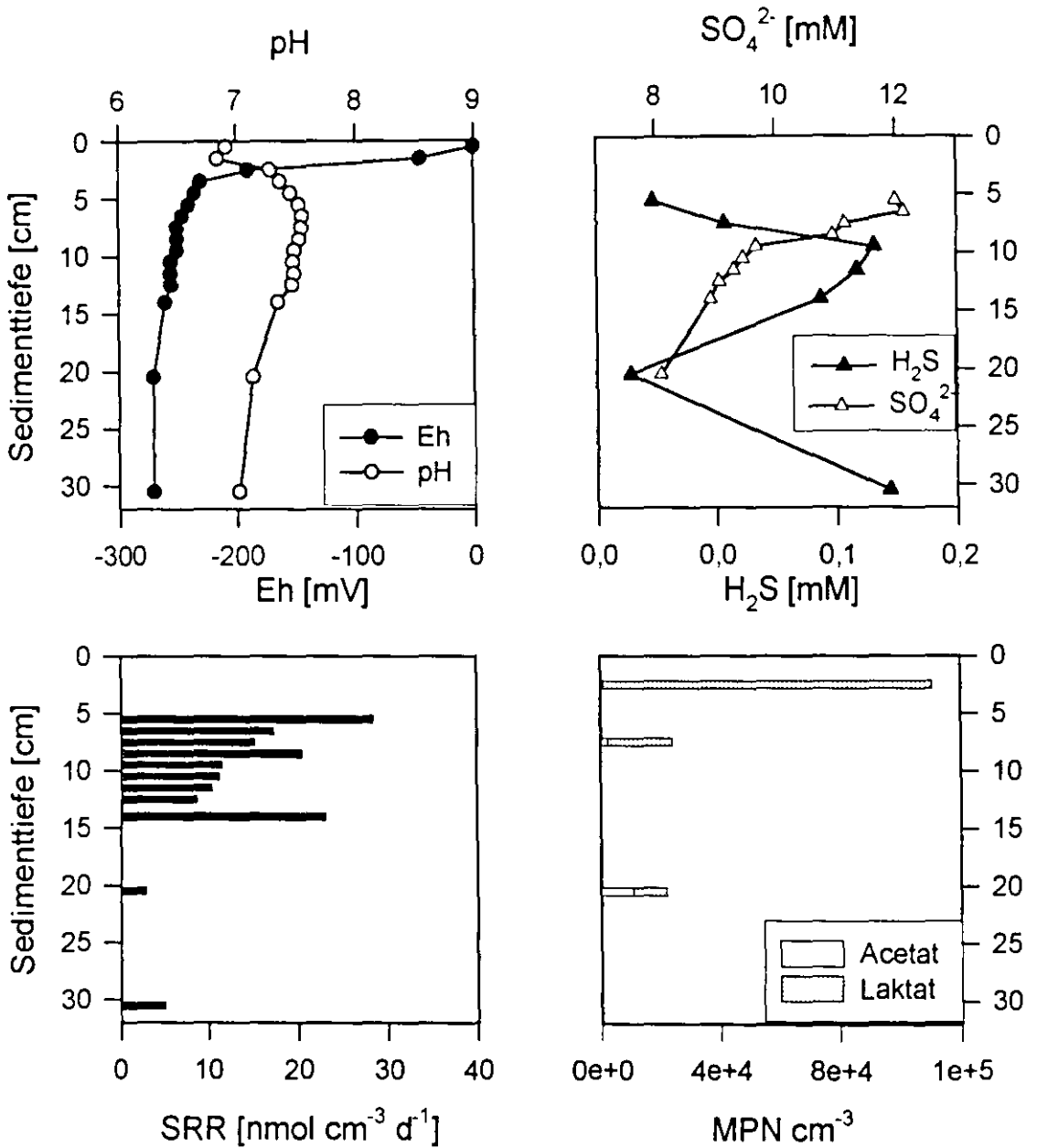


Abbildung 46 : Redoxpotential und pH (links oben), Sulfat- und H_2S -Konzentration (rechts oben), Sulfatreduktions-Raten (unten links) sowie Abundanzen von Acetat- und Laktat-verwertenden Sulfatreduzierern (unten rechts) von der „Helcom“-Station am 14.6.1994.

3.3 FELDEXPERIMENT

Durch die mehrmonatige Abdeckung einer Sediment-Fläche des Standorts Hiddensee mit Hilfe einer Folie wurde eine künstliche Anoxie hervorgerufen (2.3). Ein Vergleich mit einer benachbarten, nicht abgedeckten Fläche, diente dazu, den Einfluß unterschiedlicher Redox-Bedingungen auf die dissimilatorische Sulfatreduktion zu untersuchen.

3.3.1 Sauerstoff, Redoxpotential, pH-Werte und Sulfat-Konzentrationen

Eine vollständige Absperrung gegen O_2 und Licht konnte mit Hilfe der verwendeten Folie (2.3) nicht erreicht werden. Nach Sauerstoff- und Licht-Messungen von J. Rethmeier, Uni Bremen (pers. Mitteilung), war die Folie nicht vollständig lichtundurchlässig und horizontale Diffusion oder advective Strömung brachten Spuren von Sauerstoff unter die abgedeckte Fläche. Die Abdeckung einer Fläche mit einer Folie bewirkte eine Verschiebung des Redoxpotentials um durchschnittlich -100 mV. Der Redox-Gradient unter dem abgedeckten Versuchs-Standort zeichnete sich im Vergleich zum unbedeckten sogar durch eine größere Spreizung aus. Der pH-Wert hatte in beiden Sediment-Säulen einen charakteristischen Verlauf mit Maxima an der Sedimentoberfläche und in 9-10 cm Sedimenttiefe und einem Minimum in 4-5 cm Sedimenttiefe. Das pH-Minimum der bedeckten Fläche lag um 0,2 Einheiten niedriger (Abbildung 47). Die Vertikalprofile der Sulfat-Konzentration ähnelten sich unter abgedeckten und freien Sedimenten. Die Sulfat-Konzentrationen unter der abgedeckten Fläche waren allerdings um durchschnittlich 2 mM niedriger.

3.3.2 Sulfatreduktions-Raten

Auch die Sulfatreduktions-Raten im Vertikalprofil der miteinander verglichenen Standorte zeigten einen ähnlichen Verlauf. Maximalen Raten in den obersten vier untersuchten Sediment-Horizonten bei leicht ansteigender Tendenz bis 4-5 cm folgte eine deutliche Abnahme im darauffolgenden tieferen Horizont mit gleichbleibend niedrigen Raten bis in 9-10 cm Sedimenttiefe. Die Sulfatreduktions-Raten der obersten vier Horizonte unter der abgedeckten Fläche lagen mit 300 bis 430 $\text{nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ 3 mal so hoch wie unter der unbedeckten Kontroll-Fläche (Abbildung 47).



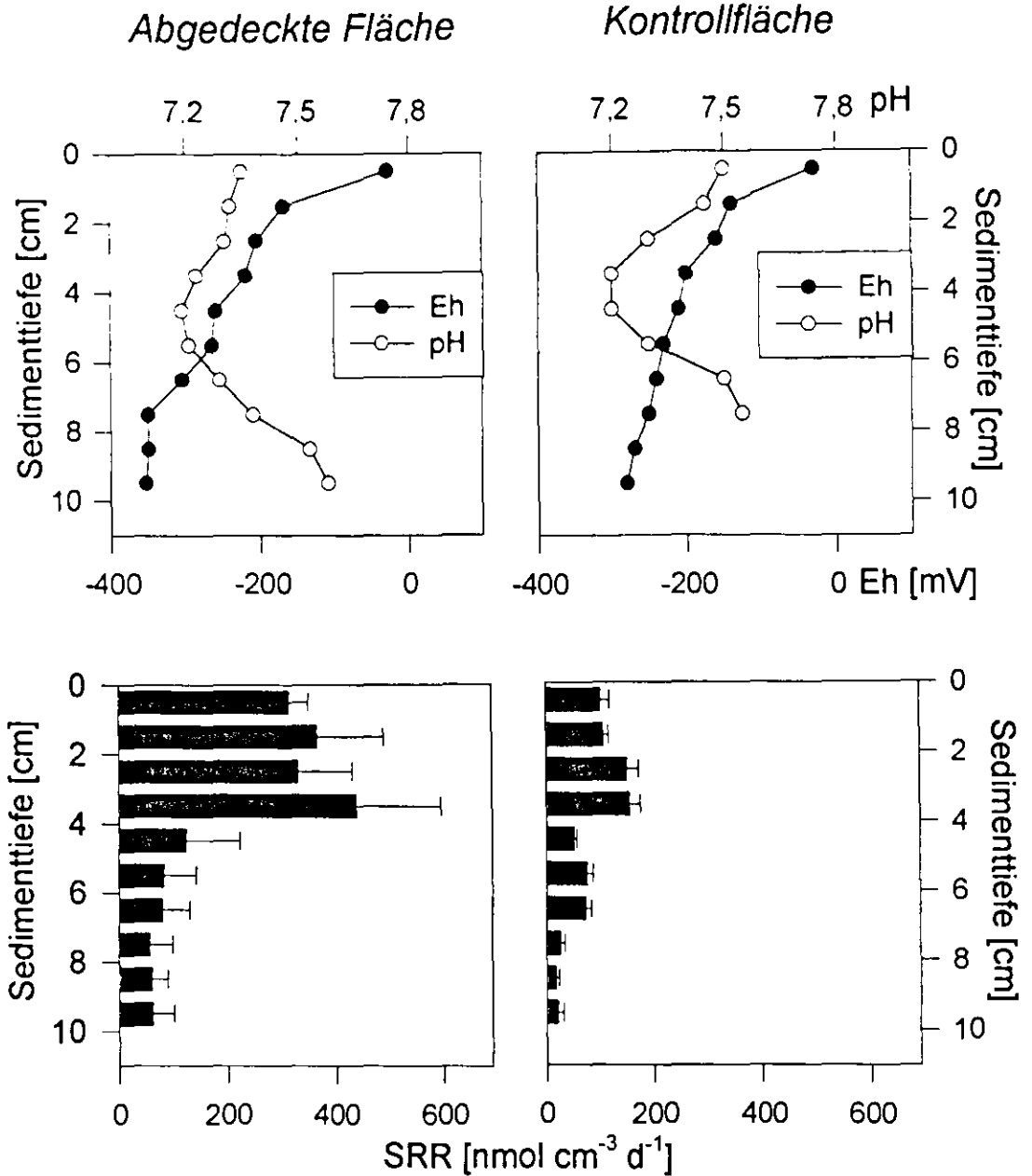


Abbildung 47: Sulfatreduktions-Raten unter der abgedeckten (links unten) und der Kontrollfläche (rechts unten) des Feldexperiments (Mittelwerte aus $n=3$; Standardabweichung als Fehlerbalken). Oben sind die jeweiligen Redoxpotentiale und pH-Werte im Vertikalprofil von dieser Probennahme (3.11.1993) aufgetragen.

3.3.3 Aminosäuren und Fettsäuren

Unter der unbedeckten Fläche war mit $182 \mu\text{M}$ in 0-1 cm Sedimenttiefe die höchste Konzentration von Aminosäuren zu beobachten, wobei Arginin mit $111 \mu\text{M}$ am stärksten vertreten war (s. Abbildung 34). Schon in 2-3 cm Sedimenttiefe sank die Gesamt-

Konzentration auf unter $1 \mu\text{M}$ und stieg bis zur größten gemessenen Tiefe (5-6 cm) nicht wieder an. Der Anteil von Arginin nahm mit der Sedimenttiefe stetig ab und erreichte bei 5-6 cm mit 5% seinen niedrigsten Wert, während gleichzeitig der Anteil von Phenylalanin umgekehrt proportional stieg.

Unter der bedeckten Fläche blieb die Gesamt-Aminosäure-Konzentration bei $1 \mu\text{M}$ über die gesamte Sedimenttiefe (0-6 cm) gleichbleibend niedrig. Der Anteil der einzelnen Aminosäuren änderte sich nur unwesentlich im Sediment-Vertikalprofil und war relativ homogen.

Die dominante Fettsäure im Feldexperiment war Succinat mit 80-90% des Gesamt-Fettsäure-Anteils unter der bedeckten Fläche und 45-70% unter der Kontrollfläche. Unter beiden Flächen wurde ein Maximum der Gesamt-Konzentration in 2-3 cm Sedimenttiefe verzeichnet (ohne Abbildung).

3.4 LABOR-EXPERIMENTE

3.4.1 Experimente mit Sediment-Mikrokosmen

3.4.1.1 Eh als Steuergröße im Mikrokosmos-Experiment

Um die Abhängigkeit der Sulfatreduktions-Raten von bestimmten Umweltparametern (Steuergrößen) zu untersuchen, wurden Sediment-Suspensionen hergestellt. Hierfür wurden drei verschiedene Hälterungsbedingungen ausgewählt (2.4.2). Nach zwei Wochen Hälterung lagen die Sulfatreduktions-Raten im anoxischen Ansatz mit $170 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ 3-4 mal höher als in den oxischen Ansätzen bzw. bei Vorhandensein eines Redox-Gradienten (Abbildung 48).

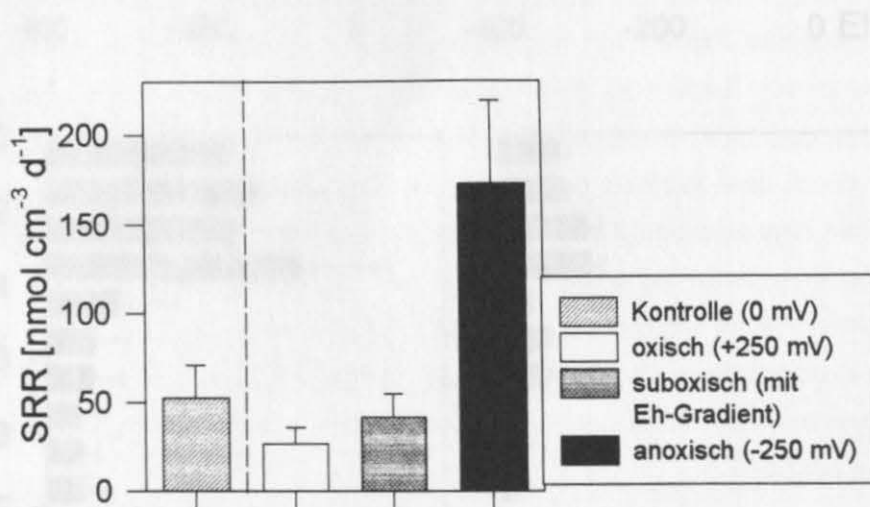


Abbildung 48: Sulfatreduktions-Raten (Mittelwerte aus je drei Ansätzen; Standardabweichung als Fehlerbalken) vor (Kontrolle) und nach zwei Wochen Hälterung der Sediment-Mikrokosmen bei unterschiedlichem Redoxpotential.

Die Sulfat-Konzentrationen in oxischen, suboxischen und anoxischen Sediment-Suspensionen betragen im Mittelwert ($n=3$) 23, 8 bzw. 6 mM. Während in den oxischen Ansätzen kein Thiosulfat zu messen war, wiesen die suboxischen und anoxischen Ansätze Konzentrationen von durchschnittlich 225 bzw. 516 μM auf.

In oxisch gehälterten Mikrokosmen nahmen die Konzentrationen aller Aminosäuren vom Hälterungs-Beginn an gleichmäßig um 30% ab. In anoxischen Ansätzen gab es leichte Konzentrations-Verschiebungen zugunsten von Glycin, Histidin, Threonin und Alanin, während die Konzentration von Valin die stärkste Abnahme (50%) erfuhr. Andere Aminosäuren blieben nahezu unverändert. Von geringfügigen Abnahmen bei Isoleucin

und Methionin abgesehen, nahmen in den Ansätzen mit Eh-Gradienten alle Aminosäure-Konzentrationen mit der Hälterungsdauer um 20-50% zu (Abbildung 49). In einem Nebenversuch hatte die Zugabe von 5 μM Quecksilber eine Zunahme der Aminosäure-Konzentration von bis zu 1500% zur Folge.

Die niederkettigen Fettsäuren verschwanden in den oxischen Ansätzen vollständig, während deren Konzentration bei beiden anderen Hälterungs-Bedingungen um ein Mehrfaches anstieg (Abbildung 49).

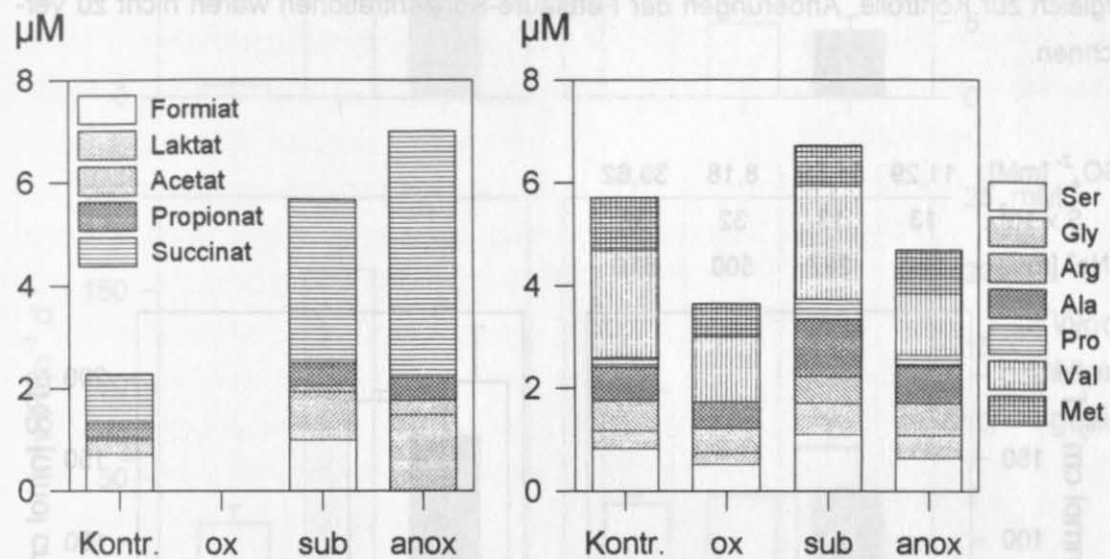


Abbildung 49: Konzentrationen von Aminosäuren und niederkettigen Fettsäuren vor (Kontr.) und nach zwei Wochen Hälterung bei unterschiedlichem Redoxpotential (ox: +250 mV, sub: mit Eh-Gradient, anox: -250 mV; Mittelwerte aus je drei Ansätzen).

3.4.1.2 Sulfat und NaCl als Steuergrößen im Mikrokosmos-Experiment

Sulfatreduktions-Raten, SO_4^{2-} -Konzentrationen sowie Konzentrationen von Aminosäuren und Fettsäuren wurden zwei Stunden nach der Zugabe von Natriumchlorid und -sulfat zu den Sediment-Suspensionen und nach zwei Wochen der Hälterung bei -250 mV (anoxisch) gemessen (s. 2.4.2 und 2.4.3).

Eine Steigerung der SO_4^{2-} -Konzentration auf 52 mM (gegenüber 11 mM in den Sediment-Suspensionen ohne Sulfat-Zugabe) hatte nach den ersten Stunden einen signifikanten Anstieg der Sulfatreduktions-Raten um das Dreifache zur Folge (Abbildung 50). Nach zwei Wochen Hälterung wiesen die Kontrollen ohne Zusätze und die Ansätze mit Sulfat-Zugabe mit $180 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ die gleichen Werte auf. Die Sulfatreduktions-Raten

in Ansätzen mit NaCl- sowie NaCl- und Na_2SO_4 -Zugabe hatten ebenfalls mit $75 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ den gleichen Wert.

Eine Steigerung der Salinität auf 32‰ durch Zugabe von NaCl zog eine Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion um ca. 50% bereits nach wenigen Stunden nach sich. Diese war auch nach zwei Wochen Hälterung zu beobachten (Abbildung 50).

Die kurzfristigen Änderungen der Aminosäure-Konzentrationen waren geringfügig und bestanden in einer leichten Konzentrations-Abnahme der früh eluierenden Aminosäuren (Serin, Glycin, Histidin, Arginin, Alanin und Prolin) in Ansätzen mit zusätzlichem NaCl im Vergleich zur Kontrolle. Änderungen der Fettsäure-Konzentrationen waren nicht zu verzeichnen.

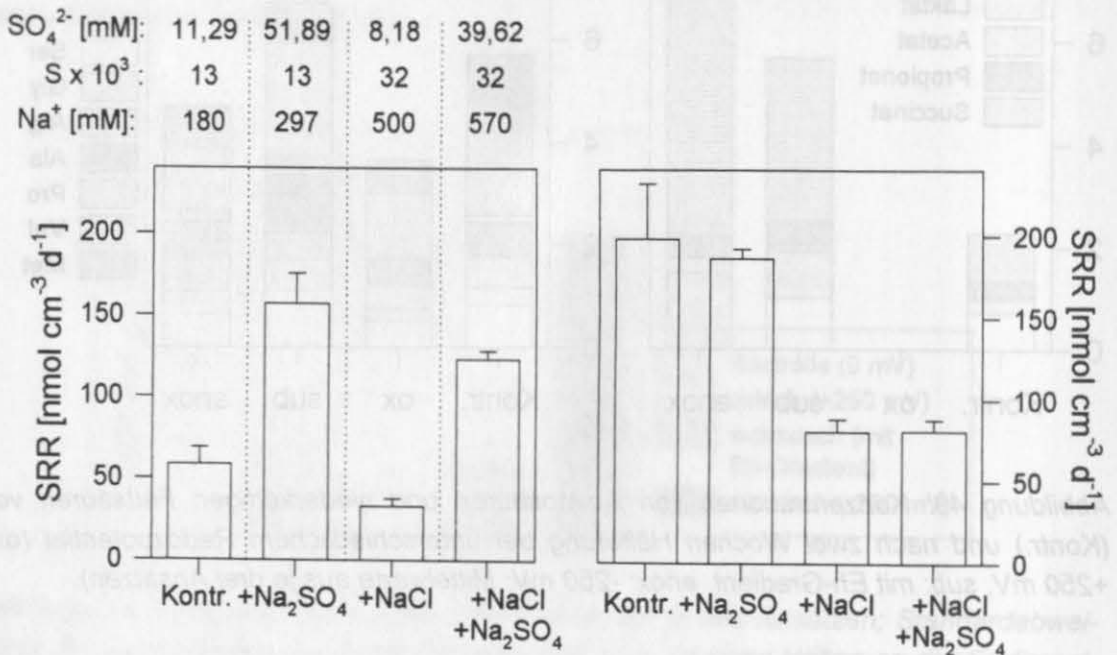


Abbildung 50: Sulfatreduktions-Raten in Sediment-Mikrokosmen (Mittelwerte aus je drei Ansätzen; Fehlerbalken repräsentieren die Standardabweichung) ohne (Kontr.) und unter Zugabe von Sulfat und Chlorid zwei Stunden (links) und zwei Wochen nach anoxischer Hälterung (rechts). Links oben: Tabellarische Auflistung der gemessenen Salinität und Sulfat-Konzentrationen sowie der berechneten Na^+ -Konzentrationen.

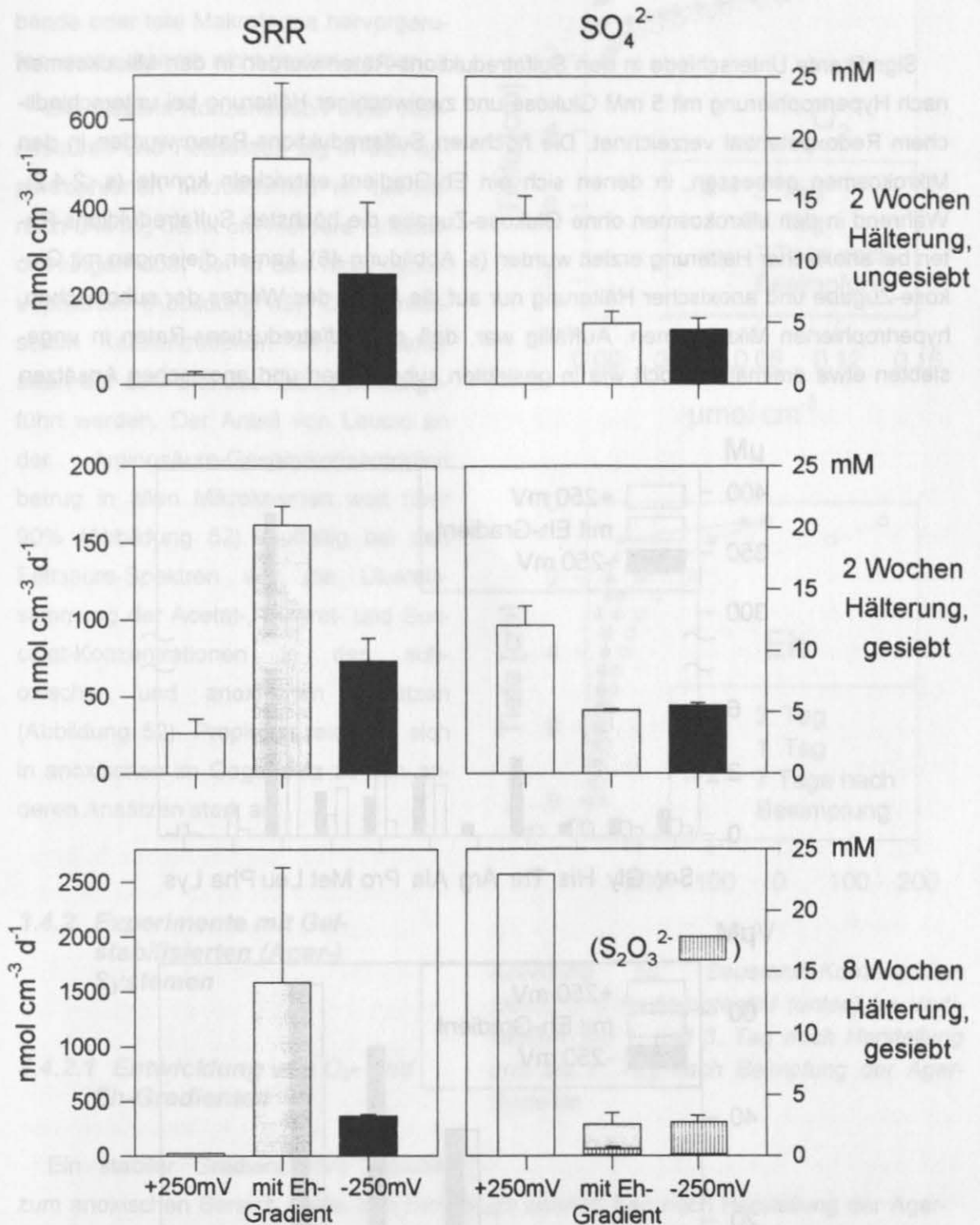


Abbildung 51: Sulfatreduktions-Raten (links) und Sulfat-Konzentrationen (rechts; Mittelwerte aus je drei Ansätzen; Standardabweichung als Fehlerbalken) in Sediment-Mikrokosmen zwei bzw. acht Wochen nach Hypertrophierung mit 5 mM Glukose und Hälterung bei unterschiedlichen Redoxpotentialen. Unten rechts sind zusätzlich Thiosulfat-Konzentrationen eingetragen

3.4.1.3 Hypertrophierung mit Glukose

Signifikante Unterschiede in den Sulfatreduktions-Raten wurden in den Mikrokosmen nach Hypertrophierung mit 5 mM Glukose und zweiwöchiger Hälterung bei unterschiedlichem Redoxpotential verzeichnet. Die höchsten Sulfatreduktions-Raten wurden in den Mikrokosmen gemessen, in denen sich ein Eh-Gradient entwickeln konnte (s. 2.4.2). Während in den Mikrokosmen ohne Glukose-Zugabe die höchsten Sulfatreduktions-Raten bei anoxischer Hälterung erzielt wurden (s. Abbildung 48), kamen diejenigen mit Glukose-Zugabe und anoxischer Hälterung nur auf die Hälfte des Wertes der suboxischen, hypertrophierten Mikrokosmen. Auffällig war, daß die Sulfatreduktions-Raten in unge siebten etwa dreimal so hoch wie in gesiebten suboxischen und anoxischen Ansätzen

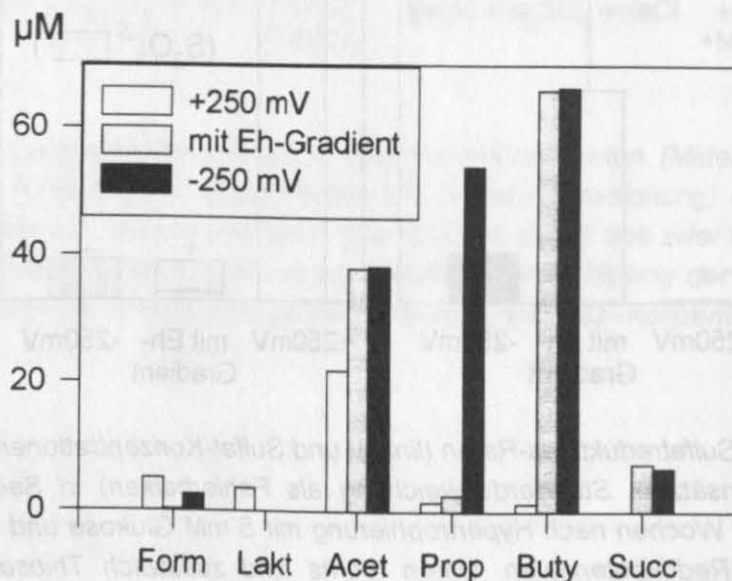
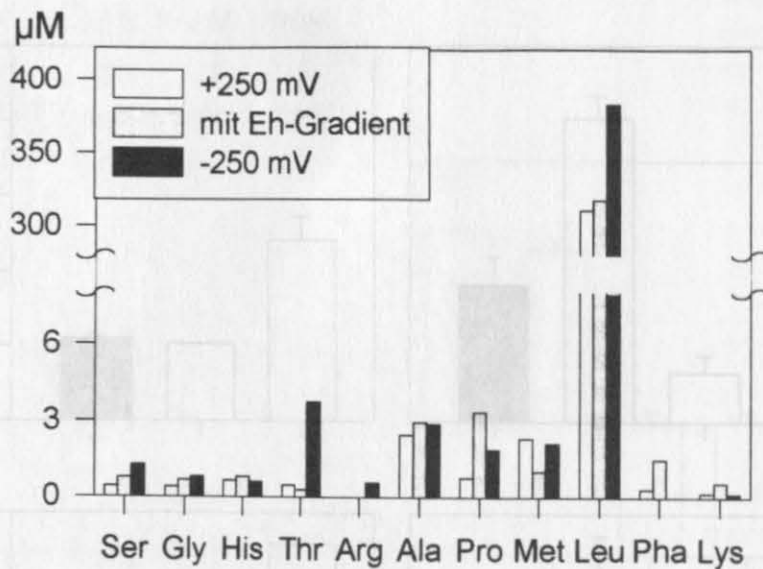


Abbildung 52: Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen in Sediment-Mikrokosmen zwei Wochen nach Glukose-Hypertrophierung und Hälterung bei unterschiedlichem Redoxpotential (Mittelwert aus je drei gesiebten Ansätzen).

waren. Ob diese Steigerung durch lebende oder tote Makrofauna hervorgerufen wurde, konnte nicht geklärt werden.

Die Gesamt-Konzentration freier Aminosäuren und Fettsäuren lag in den hypertrophierten Mikrokosmen im μM -Bereich und lag damit um mehrere Größenordnungen über der in den nicht hypertrophierten (Abbildung 49). Die gemessenen Konzentrationen können daher allein auf den Glukose-Abbau zurückgeführt werden. Der Anteil von Leucin an der Aminosäure-Gesamtkonzentration betrug in allen Mikrokosmen weit über 90% (Abbildung 52). Auffällig bei den Fettsäure-Spektren war die Übereinstimmung der Acetat-, Butyrat- und Succinat-Konzentrationen in den suboxischen und anoxischen Ansätzen (Abbildung 52). Propionat reicherte sich in anoxischen im Gegensatz zu den anderen Ansätzen stark an.

3.4.2 Experimente mit Gelstabilisierten (Agar-) Systemen

3.4.2.1 Entwicklung von O_2 - und Eh-Gradienten

Ein stabiler Gradient vom oxischen zum anoxischen Bereich stellte sich bereits am zweiten Tag nach Herstellung der Agar-Systeme ein und war durch das zugefügte Resazurin (s. 2.5) sichtbar. Der Beginn der anoxischen Zone entsprach zu diesem Zeitpunkt etwa dem Horizont, in dem kein Sauerstoff mehr gemessen werden konnte (Abbildung 53). Nach Injektion der Sediment-Suspension verkleinerte sich der sauerstoffhaltige Horizont von 1,3 auf 0,5 cm. Auch der Bereich, in dem ein Redox-Gradient zu verzeichnen war, schrumpfte von drei Zentime-

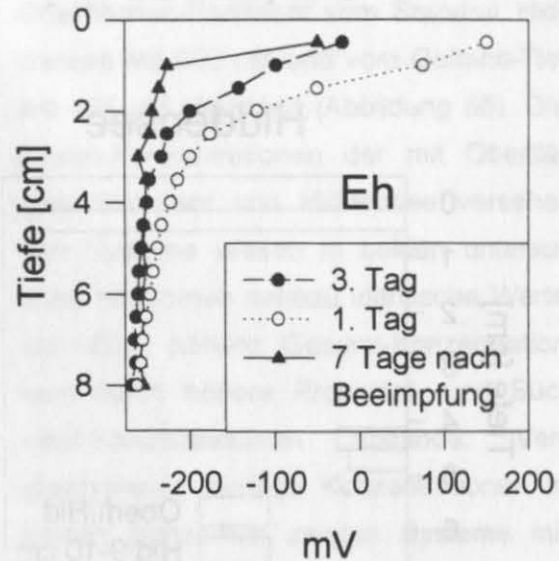
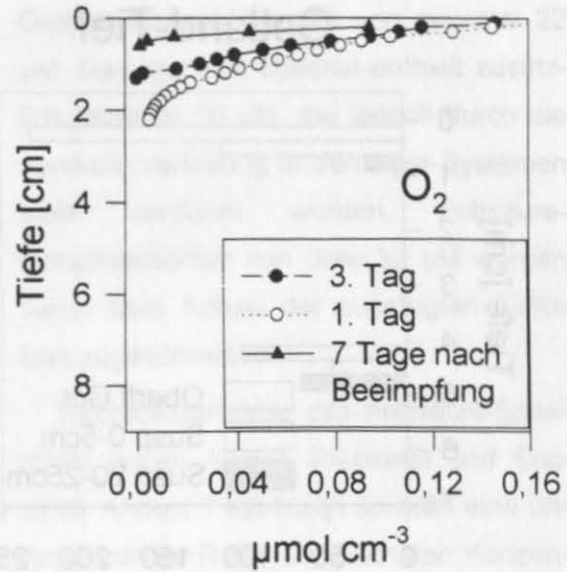


Abbildung 53: Sauerstoff-Konzentration (oben) und Redoxpotential (unten) im Vertikalprofil am 1. und 3. Tag nach Herstellung und am 7. Tag nach Beeimpfung der Agar-Systeme.

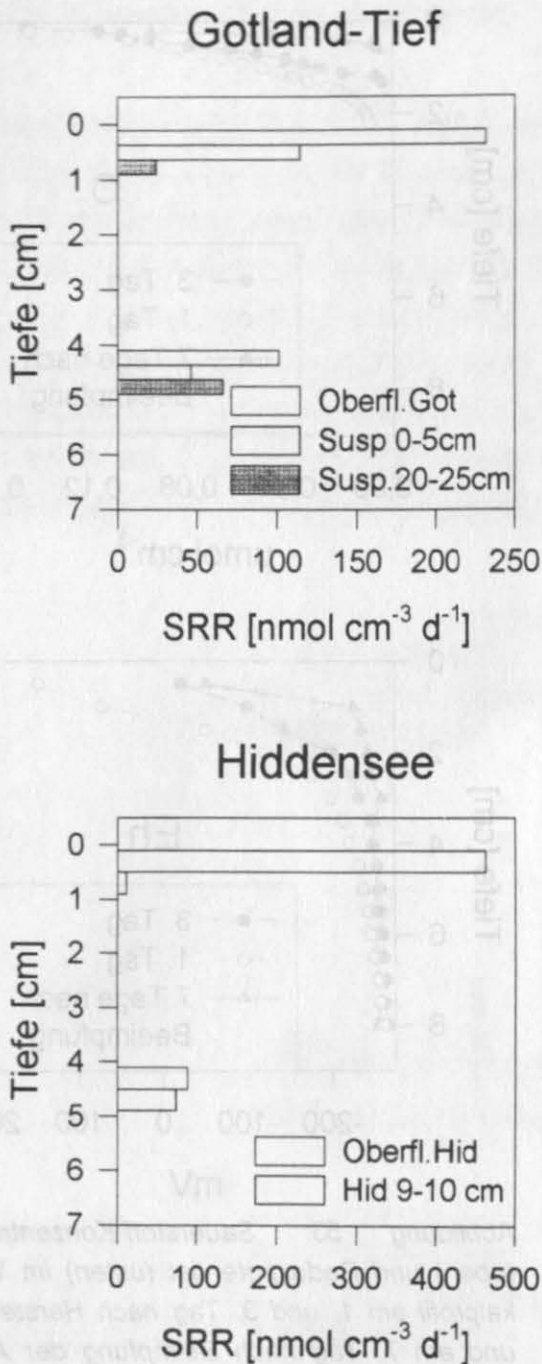


Abbildung 54: Sulfatreduktions-Raten in zwei verschiedenen Horizonten der Agar-Systeme, die mit 1:20- (0-5 und 20-25cm Sedimenttiefe von der „Alkor“-Station) bzw. 1:1-Suspensionen von Hiddensee-Material beimpft wurden. Oberflächen-Material vom Gotland-Tief wurde unverdünnt injiziert.

tern am dritten Tag nach Herstellung der Agar-Systeme auf ca. 0,5 cm nach Beimpfung mit einer Sediment-Suspension (Abbildung 53).

3.4.2.2 Sulfatreduktions-Raten in Agar-Systemen

Sulfatreduktions-Raten in Agar-Systemen mit Material aus dem Oberflächen-Sediment des Gotland-Tiefs und einer Sediment-Suspension aus 0-5 cm Tiefe desselben Untersuchungsgebiets waren im obersten Zentimeter des Agar-Systems etwa doppelt so hoch wie im Horizont von 4-5 cm. Umgekehrt verhielt es sich mit einer Suspension aus 20-25 cm (Abbildung 54). Auch die mit Oberflächen-Sediment vom Standort „Hiddensee K“ angeimpften Agar-Systeme zeigten im Horizont von 0-1 cm deutlich höhere Sulfatreduktions-Raten als im tiefer beprobten Horizont. Sulfatreduktions-Raten in Agar-Systemen mit Sediment aus 9-10 cm Tiefe waren dagegen im Agar-Horizont von 4-5 cm höher, insgesamt aber wesentlich niedriger als die Sulfatreduktions-Raten der mit Oberflächen-Sediment angeimpften Systeme.

3.4.2.3 Fettsäure-Konzentrationen in Agar-Systemen

Kontrollen, die nicht beimpft wurden, enthielten Fettsäuren in

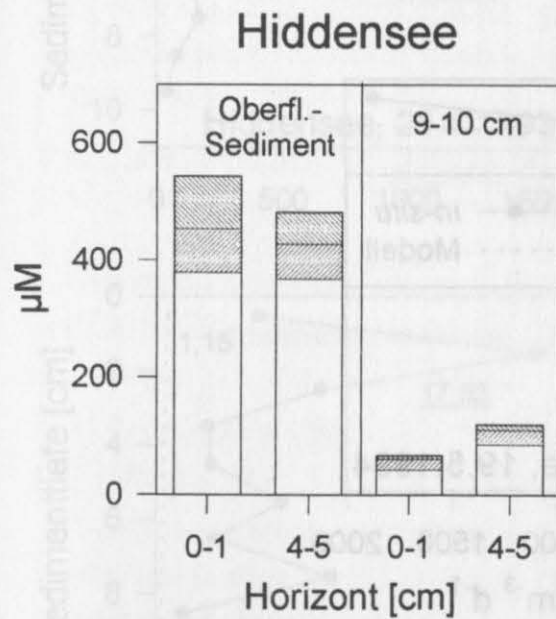
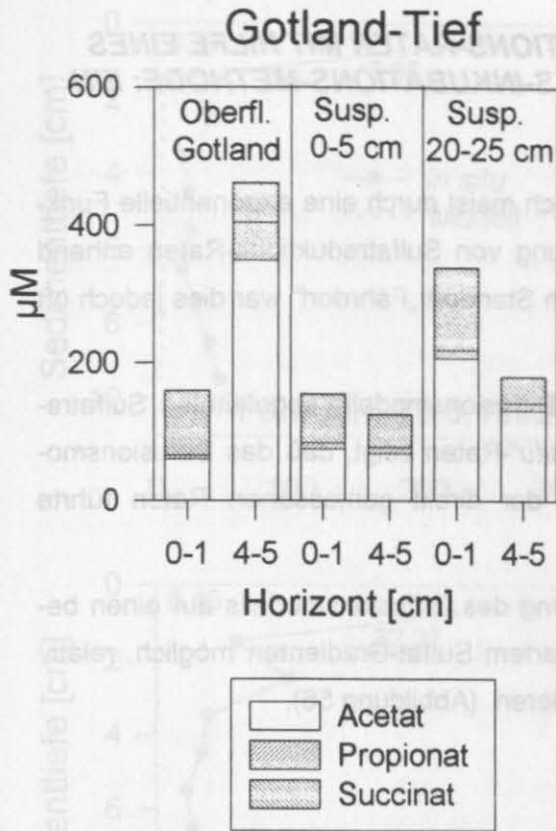


Abbildung 55: Fettsäure-Konzentrationen in zwei verschiedenen Horizonten der Agar-Systeme, die mit Sediment aus Hiddensee und vom Gotland-Tief beimpft wurden.

Gesamt-Konzentrationen von maximal 22 µM. Das injizierte Material enthielt zusätzlich maximal 16 µM, die jedoch durch die vertikale Verteilung in den Agar-Systemen stark verdünnt wurden. Fettsäure-Konzentrationen von über 30 µM wurden daher dem Abbau der zugefügten Cellulose zugeschrieben.

Hauptbestandteile des Fettsäure-Spektrums waren Acetat, Propionat und Succinat. Andere Fettsäuren spielten eine untergeordnete Rolle. Die höchsten Konzentrationen wurden in Agar-Systemen mit Oberflächen-Sediment vom Standort Hiddensee mit 550 µM und vom Gotland-Tief mit 475 µM registriert (Abbildung 55). Die Acetat-Konzentrationen der mit Oberflächen-Sediment von Hiddensee versehenen Systeme wiesen in beiden untersuchten Horizonten nahezu identische Werte auf. Eine höhere Gesamt-Konzentration kam durch höhere Propionat- und Succinat-Konzentrationen zustande. Vergleichsweise niedrige Konzentrationen in beiden Horizonten zeigten Systeme mit Hiddensee-Sediment aus 9-10 cm Tiefe. Agar-Systeme mit Oberflächen-Sediment vom Gotland-Tief hatten im Horizont 4-5 cm drei Mal höhere Gesamt- und vier Mal höhere Acetat-Konzentrationen als im

Horizont 0-1 cm. Im letzteren war Succinat die dominierende Fettsäure und nicht Acetat, wie in allen anderen Horizonten der untersuchten Systeme.

Abbildung 57: Mit Hilfe eines Agar-Systems (partionelle Linie) im Vergleich mit einem Agar-System (ausgefüllte Linie) die Differenz der Zellkonzentrationen (mmol ml⁻¹) direkt gemessen (unten) und

3.5 ERMITTLUNG VON SULFATREDUKTIONSRATEN MIT HILFE EINES DIFFUSIONSMODELLS UND DER ^{35}S -INKUBATIONSMETHODE: EIN VERGLEICH

Die Abnahme der Sulfat-Konzentration ließ sich meist durch eine exponentielle Funktion darstellen, die als Grundlage zur Berechnung von Sulfatreduktions-Raten anhand des Diffusionsmodells (2.9.1.3) geeignet war. Am Standort „Fährdorf“ war dies jedoch oft nicht möglich (z.B. Abbildung 14).

Ein Vergleich der aus der Anwendung des Diffusionsmodells abgeleiteten Sulfatreduktions-Raten mit den direkt gemessenen „*in-situ*“-Raten zeigt, daß das Diffusionsmodell in allen Fällen zu einer Unterschätzung der direkt gemessenen Raten führte (Abbildung 57).

Nur in einem Fall war es durch die Anwendung des Diffusionsmodells auf einen bestimmten Sediment-Horizont mit besonders scharfem Sulfat-Gradienten möglich, relativ *in-situ*-getreue Sulfatreduktions-Raten zu modellieren (Abbildung 56).

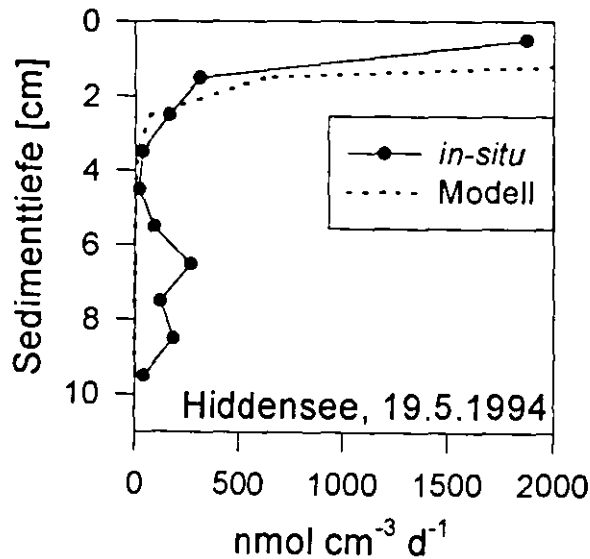


Abbildung 56: Mit Hilfe eines Diffusionsmodells berechnete Sulfatreduktions-Raten für den Sediment-Horizont 0-4 cm im Vergleich mit direkt gemessenen Raten.

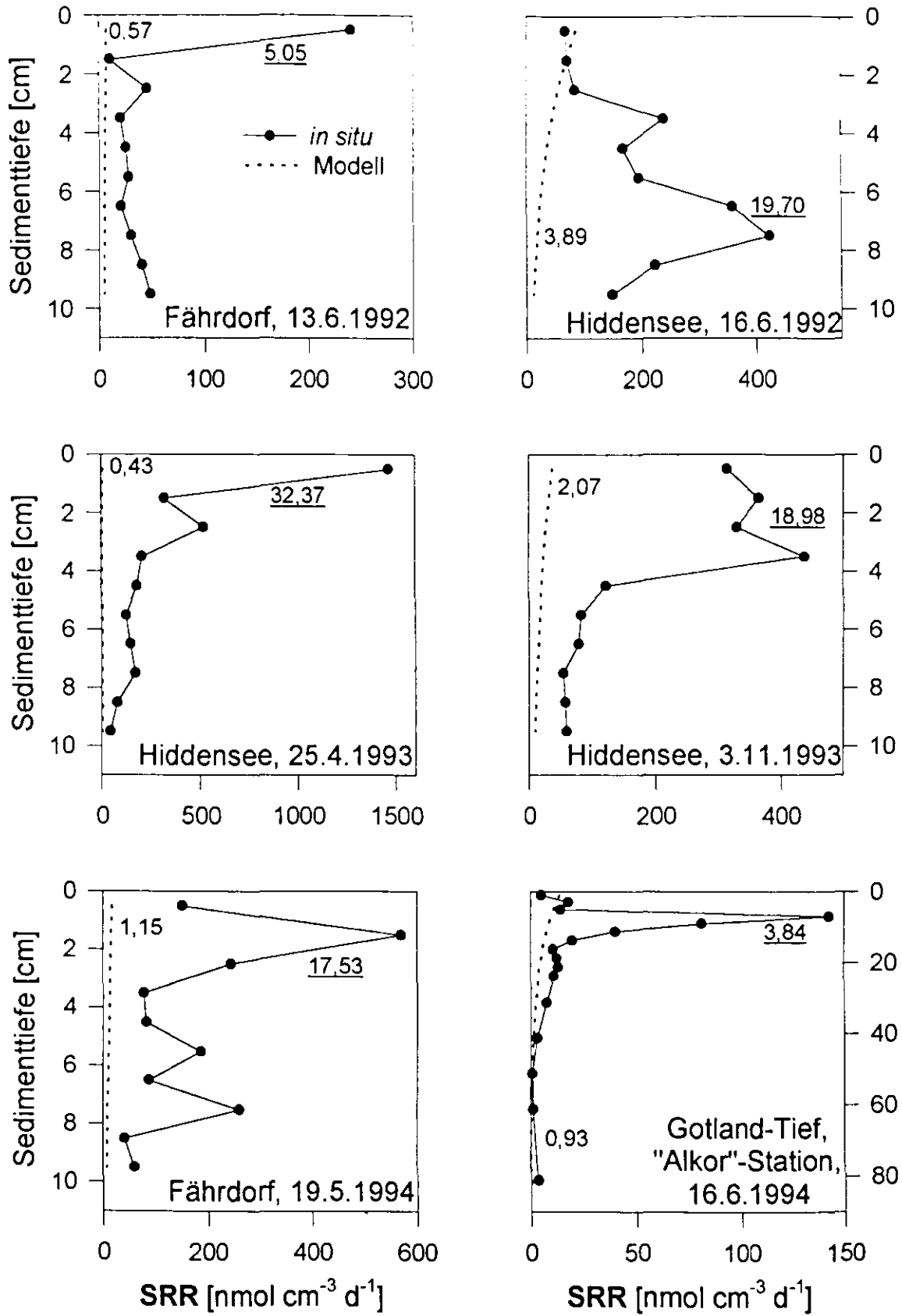


Abbildung 57: Mit Hilfe eines Diffusionsmodells berechnete Sulfatreduktions-Raten (gestrichelte Linie) im Vergleich mit direkt gemessenen Raten (durchgezogene Linie mit ausgefüllten Kreisen). Die Zahlen in den Grafiken geben integrierte Sulfatreduktions-Raten an (mmol m⁻² d⁻¹; direkt gemessene integrierte Sulfatreduktions-Raten sind unterstrichen).

3.6 MINERALISIERUNG UND INKORPORATION ^{14}C -MARKIERTER TEST-SUBSTRATE

Um den Anteil der Sulfat-reduzierenden Bakterien an der Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs in den untersuchten Sedimenten abzuschätzen, sollte Molybdat als spezifischer Inhibitor der dissimilatorischen Sulfatreduktion den Sedimenten und Sediment-Suspensionen zugegeben und die Ergebnisse mit Kontrollen ohne Molybdat verglichen werden. In Freiland-Untersuchungen wurden ausgewählte Sediment-Horizonte benutzt, die durch unterschiedliche Redoxpotentiale gekennzeichnet waren.

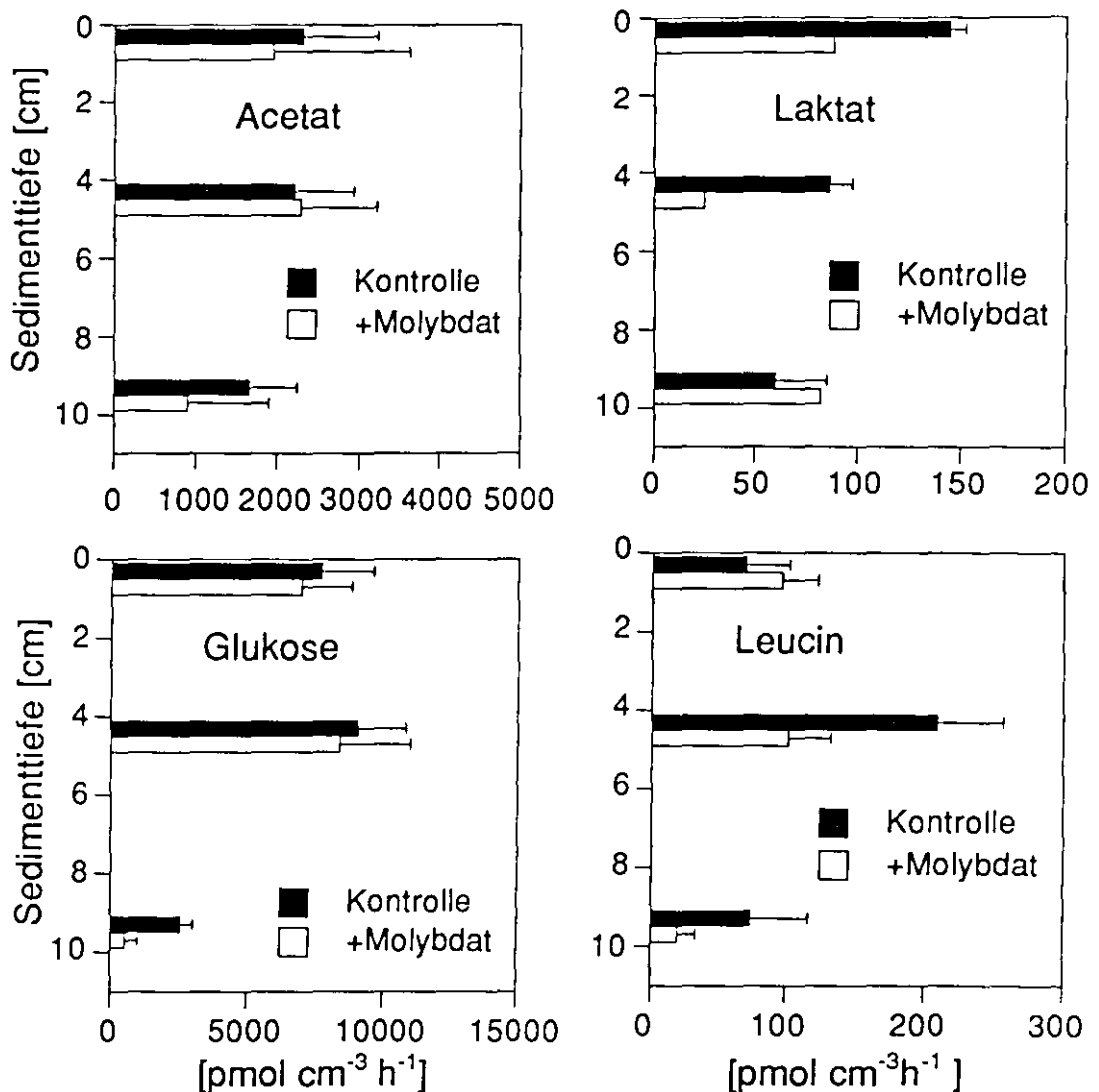


Abbildung 58: Mineralisierungsraten verschiedener Substrate bei einer Standard-Konzentration (s. Text) im Sediment-Vertikalprofil an der Station Hiddensee am 10.6.1992 ohne (Kontrolle) und mit 20 mM Molybdat (Mittelwerte aus je vier Parallel-Bestimmungen mit Standardabweichung als Fehlerbalken).

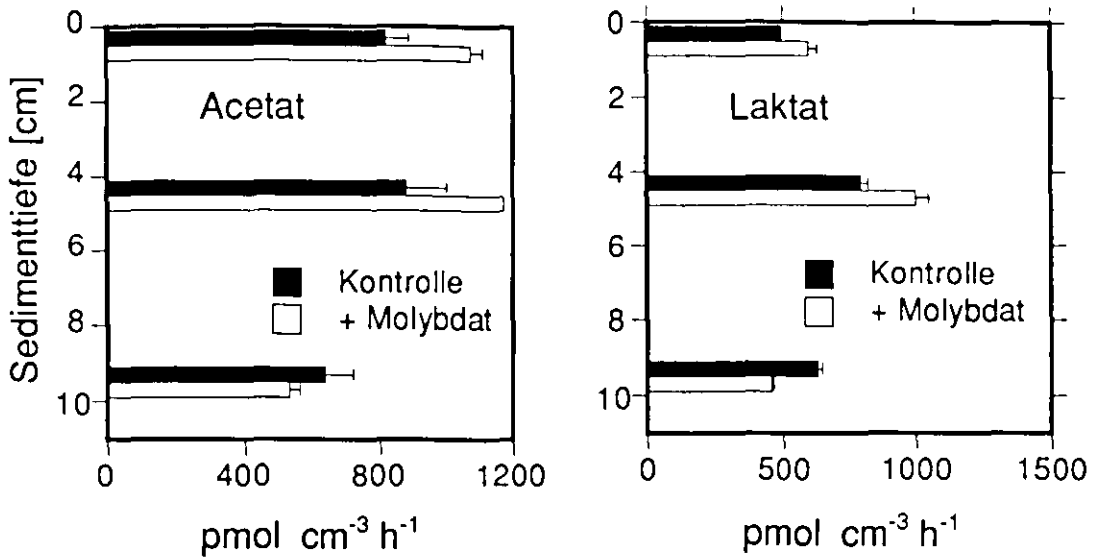


Abbildung 59: Acetat- und Laktat-Mineralisierungsraten bei einer Standard-Konzentration (s. Text) im Sediment-Vertikalprofil an der Station Hiddensee am 23.8.1992 ohne (Kontrolle) und mit 20 mM Molybdat (Mittelwerte aus je vier Parallel-Bestimmungen mit Standardabweichung als Fehlerbalken).

3.6.1 Mineralisierungsmessungen bei einer Standard-Substrat-Konzentration

Während der ersten Freiland-Untersuchungen an den Küsten-Standorten (Fährdorf am 1.4., 13.6. und 25.8.1992; Hiddensee am 10.6. und 23.8.1992) und an einer Station im Gotland-Tief (30.4.1993) fanden Mineralisierungsmessungen mit ^{14}C -markiertem Acetat (2,41 μM), Laktat (0,59 μM), Leucin (3,16 μM), Glukose (8,64 μM) und Benzoat (2,52 μM) statt.

Die Mineralisierung von Acetat oder Leucin in den untersuchten Küsten-Sedimenten wurde gelegentlich signifikant durch Molybdat gehemmt (Abbildung 58). Doch wirkte Molybdat in anderen Fällen öfter stimulierend im Vergleich zu unbehandelten Kontroll-Ansätzen (Abbildung 59) Dabei spielte es keine Rolle, ob das Mineralisierungs-Substrat 1) zu CO_2 endmineralisiert wurde, 2) direkt als Elektronendonator für die Sulfat-reduzierenden Bakterien fungierte (Acetat, Laktat), oder 3) nur als potentielle Vorstufe eines Elektronendonators (Glukose, Leucin). Auch im Gotland-Tief induzierte die Zugabe von Molybdat und einem Inhibitor der Methanogenese (BES: Bromethansulfonsäure) bei Acetat und Laktat keinen nennenswerten Rückgang der Mineralisierungsraten (Abbildung 60). Die Mineralisierungsraten von Benzoat fielen vergleichsweise gering aus. Im

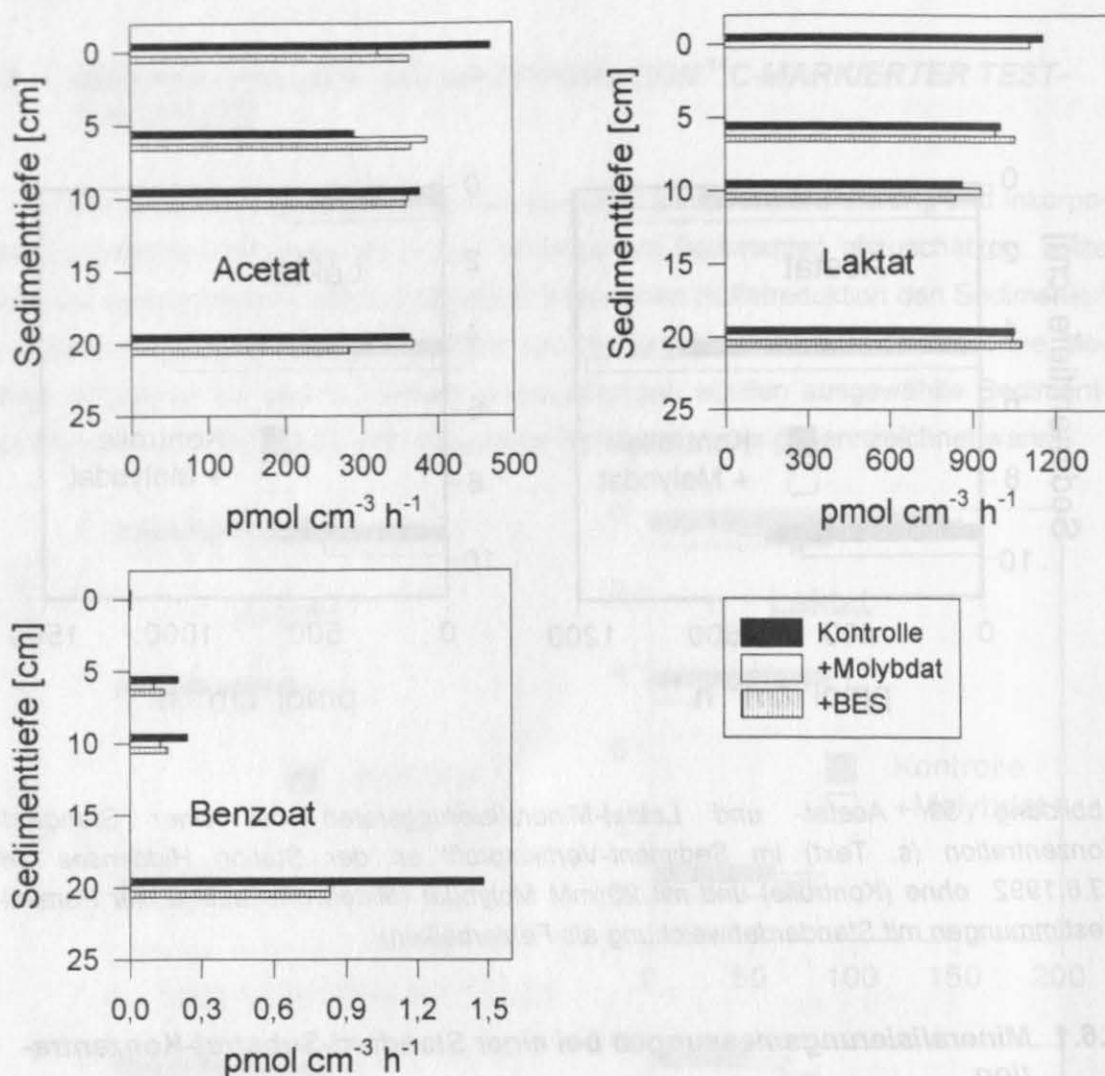


Abbildung 60: Acetat-, Laktat- und Benzoat-Mineralisierungs-Raten bei einer Standard-Substrat-Konzentration im Sediment-Vertikalprofil der „Alkor“-Station (Gotland-Tief, 16.6.1994). Mittelwerte aus Duplikaten der Ansätze ohne (Kontrolle) und mit Inhibitoren.

Gegensatz zu den anderen Substraten wurde die Mineralisierung dieses Substrats durch Molybdat und BES stark gehemmt (je 50 bis 60 %). Die Benzoat-Mineralisierungs-Raten nahmen mit steigender Sedimenttiefe zu.

3.6.2 Michaelis-Menten-Kinetik der Mineralisierung organischen Kohlenstoffs

Zur Bestimmung von Turnover-Raten und Turnover-Zeit (T_t), der maximalen Mineralisierungsrate V_{\max} und der Michaelis-Menten-Konstanten K_m wurden Konzentrationsreihen der Mineralisierungs-Substrate mit und ohne Molybdat eingesetzt (2.10.2). Dabei wurden nur jene Substratsättigungs-Kurven zur Auswertung herangezogen, deren li-

neare Transformationen einen Korrelations-Koeffizienten von $r^2 > 0,90$ aufwiesen. Die im Porenwasser gemessenen *in-situ*-Konzentrationen der untersuchten Kohlenstoff-Quellen gingen in die Berechnungen ein.

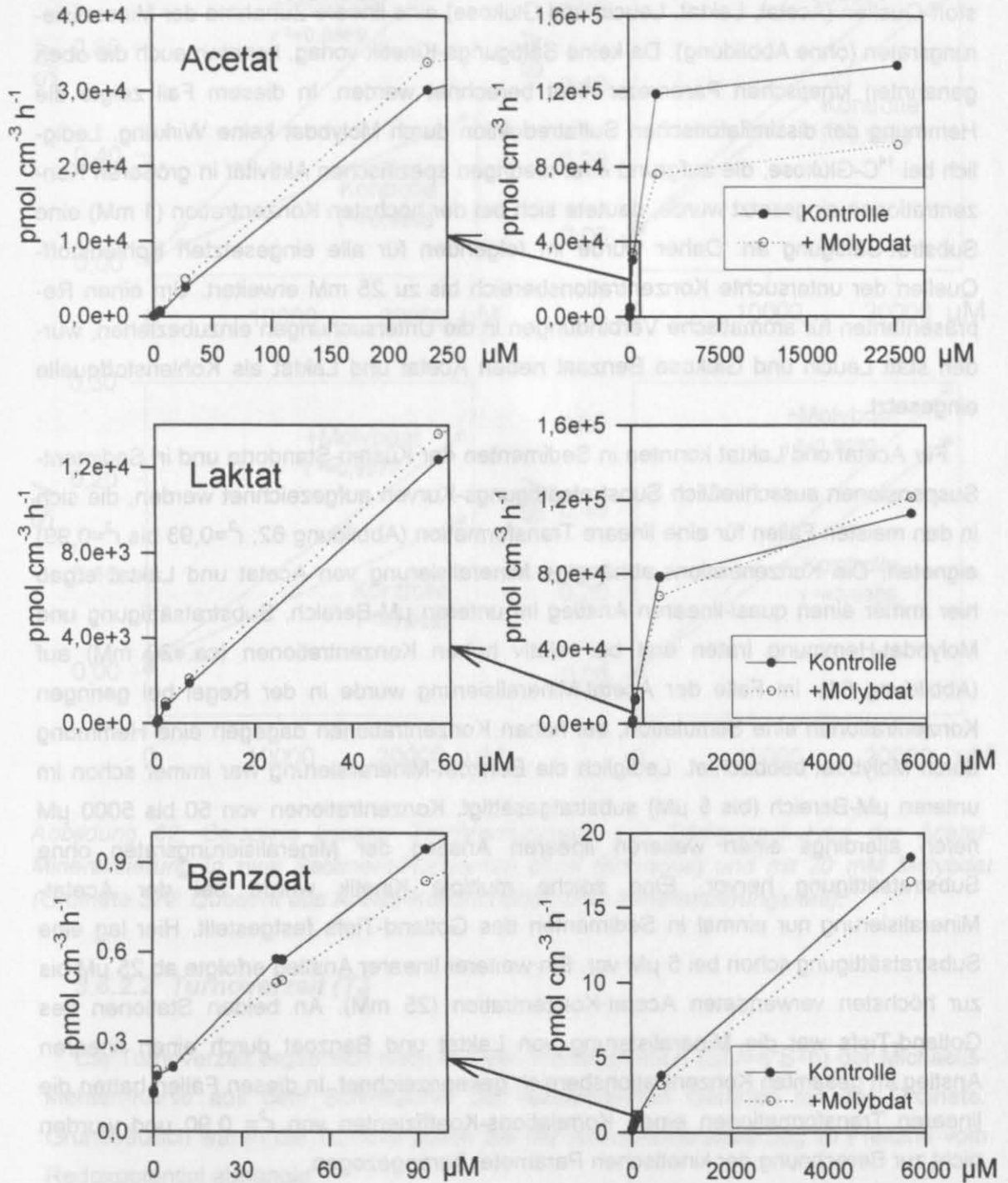


Abbildung 61: Substratsättigungs-Kurven für die Acetat-, Laktat- und Benzoat-Mineralisierung ohne (Kontrolle) und mit 20 mM Molybdat am Beispiel des Sediment-Horizonts 0-1 cm vom Standort Hiddensee (25.4.1993). Der untere Konzentrations-Bereich ist vergrößert auf der linken Seite dargestellt.

3.6.2.1 Substratsättigung

Mineralisierungs-Messungen in Abhängigkeit von der Substrat-Konzentration am 1.4.1992 mit Sediment vom Standort Fährdorf zeigten bei allen eingesetzten Kohlenstoff-Quellen (Acetat, Laktat, Leucin und Glukose) eine lineare Zunahme der Mineralisierungsraten (ohne Abbildung). Da keine Sättigungs-Kinetik vorlag, konnten auch die oben genannten kinetischen Parameter nicht berechnet werden. In diesem Fall zeigte die Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion durch Molybdat keine Wirkung. Lediglich bei ^{14}C -Glukose, die aufgrund ihrer niedrigen spezifischen Aktivität in größeren Konzentrationen eingesetzt wurde, deutete sich bei der höchsten Konzentration (1 mM) eine Substrat-Sättigung an. Daher wurde im folgenden für alle eingesetzten Kohlenstoff-Quellen der untersuchte Konzentrationsbereich bis zu 25 mM erweitert. Um einen Repräsentanten für aromatische Verbindungen in die Untersuchungen einzubeziehen, wurden statt Leucin und Glukose Benzoat neben Acetat und Laktat als Kohlenstoffquelle eingesetzt.

Für Acetat und Laktat konnten in Sedimenten der Küsten-Standorte und in Sediment-Suspensionen ausschließlich Substratsättigungs-Kurven aufgezeichnet werden, die sich in den meisten Fällen für eine lineare Transformation (Abbildung 62: $r^2=0,93$ bis $r^2=0,99$) eigneten. Die Konzentrations-abhängige Mineralisierung von Acetat und Laktat ergab hier immer einen quasi-linearen Anstieg im unteren μM -Bereich. Substratsättigung und Molybdat-Hemmung traten erst bei relativ hohen Konzentrationen (ca. 20 mM) auf (Abbildung 61). Im Falle der Acetat-Mineralisierung wurde in der Regel bei geringen Konzentrationen eine Stimulation, bei hohen Konzentrationen dagegen eine Hemmung durch Molybdat beobachtet. Lediglich die Benzoat-Mineralisierung war immer schon im unteren μM -Bereich (bis 5 μM) substratgesättigt. Konzentrationen von 50 bis 5000 μM riefen allerdings einen weiteren linearen Anstieg der Mineralisierungsraten ohne Substratsättigung hervor. Eine solche multiple Kinetik wurde bei der Acetat-Mineralisierung nur einmal in Sedimenten des Gotland-Tiefs festgestellt. Hier lag eine Substratsättigung schon bei 5 μM vor. Ein weiterer linearer Anstieg erfolgte ab 25 μM bis zur höchsten verwendeten Acetat-Konzentration (25 mM). An beiden Stationen des Gotland-Tiefs war die Mineralisierung von Laktat und Benzoat durch einen linearen Anstieg im gesamten Konzentrationsbereich gekennzeichnet. In diesen Fällen hatten die linearen Transformationen einen Korrelations-Koeffizienten von $r^2= 0,90$ und wurden nicht zur Berechnung der kinetischen Parameter herangezogen.

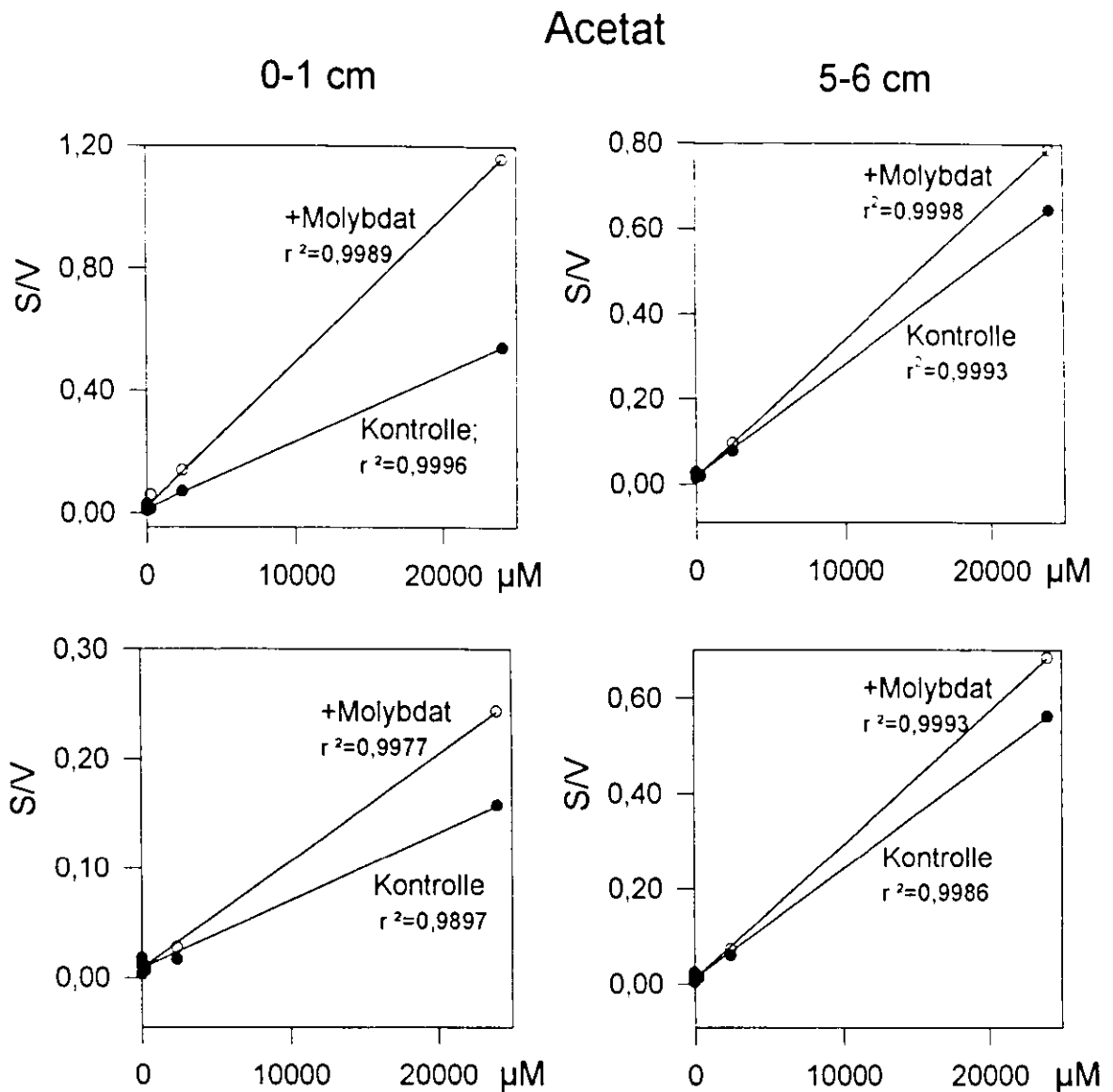


Abbildung 62: Beispiele linearer Transformationen von Sättigungskurven der Acetat-Mineralisierung in zwei Sediment-Horizonten ohne (Kontrolle) und mit 20 mM Molybdat (Ordinate S/V: Quotient aus Acetat-Konzentration und -Mineralisierungsrate).

3.6.2.2 Turnoverzeit (T_t)

Die Turnoverzeit ergab sich nach linearer Transformation ($S/V = a \cdot S + b$) der Michaelis-Menten-Kurve aus dem Schnittpunkt der resultierenden Geraden mit der Ordinate. Grundsätzlich waren die Turnoverzeiten bei der Acetat-Mineralisierung im Freiland vom Redoxpotential abhängig:

Die Turnoverzeiten waren umso niedriger, je größer die Differenz der Redoxpotentiale (δE_H) innerhalb der untersuchten Sedimentschicht waren. „Suboxische“ Sedimenthorizonte (das entspricht in der Regel dem oberen Zentimeter der untersuchten Sedimente),

die durch einen steilen Eh-Gradienten gekennzeichnet waren, wiesen die kürzesten Acetat-Turnoverzeiten auf (Tabellen 4 A-D). Im Experiment mit Sediment-Suspensionen wurde diesem Befund durch Mineralisierungs- und Inkorporations-Messungen nachgegangen (Tabelle 6). Wiederum besaßen jene Sedimentsuspensionen die kürzeste Acetat-Turnoverzeit, in denen eine Ausbildung von Gradienten möglich war. Dagegen waren die Acetat-Turnoverzeiten in Sedimentsuspensionen mit homogenem oxischem oder anoxischem Milieu zwei- bis dreimal höher.

Dieser Zusammenhang wurde bei der Laktat- und Benzoat-Mineralisierung nicht beobachtet. Die Turnoverzeit des Benzoats war im April 1993 an beiden Küsten-Standorten im niedrigen Redoxpotential-Bereich mit geringer Eh-Differenz höher als an der Sediment-Oberfläche.

An beiden Stationen des Gotland-Tiefs waren die Acetat-Turnoverzeiten an der Sedimentoberfläche wesentlich niedriger als in tieferen Sedimentschichten. An der „Alkor“-Station lagen die Turnoverzeiten jedoch insgesamt höher (Tabelle 4 A).

Die Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion durch Molybdat äußerte sich unterschiedlich. In einigen Fällen wurden Turnoverzeiten herabgesetzt, in anderen Fällen waren sie länger.

3.6.2.3 Maximale Mineralisierungsrate (V_{max}) und Michaelis-Menten-Konstante (K_m)

Bei allen konzentrations-abhängigen Mineralisierungsmessungen an den Küsten-Standorten, waren V_{max} und K_m von Acetat in Sedimenthorizonten mit steilem Eh-Gradienten am höchsten. In Sedimentschichten mit unverändert niedrigem Redoxpotential hingegen lagen V_{max} und K_m um ein Mehrfaches niedriger (Tabelle 4 A-D). Dies galt auch für fast alle Substrate im Mikrokosmos-Experiment (Tabelle 6) sowie für Laktat in Hiddensee am 25.4.1993 (Tabelle 4 D). Mit Ausnahme der Acetat-Mineralisierung lagen alle anderen V_{max} und K_m -Werte der Mineralisierung und Inkorporation in suboxischen Sediment-Mikrokosmen mit Eh-Gradienten über denen von rein oxischen und anoxischen Ansätzen.

Die Hemmwirkung von Molybdat auf die V_{max} - und K_m -Werte der Acetat-Mineralisierung war eindeutiger als bei der Turnoverzeit. V_{max} - und K_m lagen an den Küsten-Standorten in Mineralisierungsansätzen mit Molybdat grundsätzlich niedriger als in Molybdat-freien Ansätzen. Der Effekt war umso stärker, je größer die Eh-Differenz innerhalb des untersuchten Sedimenthorizonts war. In gleichbleibend anoxischen Sedimentschichten war die Hemmwirkung nur gering. Für Laktat und Benzoat war eine Hemmwirkung auf V_{max} und K_m seltener zu verzeichnen.

Eine Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion ging demnach mit einer Herabsetzung des Acetat-Mineralisierungspotentials in den Küsten-Sedimenten einher. Gleichzeitig besaß die Sediment-Mikroflora unter Ausschluß der dissimilatorischen Sulfatreduktion (Molybdat-Hemmung) eine höhere Substrat-Affinität gegenüber Acetat als unter Beteiligung der Sulfatreduktion (Tabelle 4 A-D). Im Experiment mit Sediment-Mikrokosmen traf dies jedoch eher für die Inkorporation als für die Mineralisierung zu (Tabelle 6).

3.6.2.4 Turnover- und Sulfatreduktionsraten

Die Turnoverraten wurden aus der Turnoverzeit und den Konzentrationen der jeweiligen Kohlenstoff-Quelle im Porenwasser der untersuchten Sedimenttiefe bzw. im experimentellen Ansatz ermittelt.

Die Turnoverraten von Acetat lagen in Fährdorf mit 0,55 bis 3,99 $\text{nmol cm}^{-3} \text{d}^{-1}$ niedriger als in Hiddensee (0,96 bis 34,4 $\text{nmol cm}^{-3} \text{d}^{-1}$). Die niedrigsten Turnoverraten wurden in Sedimenten des Gotland-Tiefs beobachtet (Tabelle 7).

Die Acetat-Turnover-Raten lagen im Mikrokosmos-Experiment (Tabelle 5) und an den Untersuchungs-Standorten (Tabelle 7) stets dort am höchsten, wo δ_{Eh} am größten war, d.h. in den suboxischen Ansätzen der Sediment-Suspensionen und in den obersten Zentimetern der Sedimente (Ausnahme: Fährdorf, 24.4.1993). Gleichzeitig wurden in den betreffenden Sedimenthorizonten im Freiland ein beträchtlicher, den Sulfat-reduzierenden Bakterien zugeschriebener Anteil an der gesamten Acetat-Mineralisierung vorgefunden. Dort wurden auch höhere Sulfatreduktionsraten als in „stagnierend“ anoxischen Horizonten beobachtet.

Auch für Laktat wurde eine höhere Turnoverrate in Sedimenthorizonten mit steilem Eh-Gradienten ebenfalls wiederholt beobachtet. Dies traf ebenfalls auf die Inkorporation in den suboxischen Ansätzen des Mikrokosmos-Experiments zu (Tabelle 6). Die Laktat-Mineralisierung wurde meistens nicht signifikant durch Molybdat beeinflusst. Ein durch Molybdat hemmbarer Anteil an der Mineralisierung konnte deshalb nur selten ermittelt werden. Benzoat hingegen war diejenige Kohlenstoff-Quelle, bei der die Hemmwirkung von Molybdat am stärksten war (bis zu 80 %). Im Vergleich zu Acetat und Laktat deuten sehr hohe Turnoverzeiten von Benzoat in allen Untersuchungen auf niedrige Turnoverraten hin.

Setzt man eine stöchiometrischen Beziehung von 1:1 für die Sulfatreduktion und die Acetat-Oxidation voraus und berücksichtigt man die wichtige Rolle von Acetat beim anaeroben Abbau organischen Kohlenstoffs in marinen Sedimenten, fällt die Diskrepanz zwischen den aus den Mineralisierungsmessungen erhaltenen Acetat-Turnoverraten und den Sulfatreduktions-Raten auf (Tabelle 7, s. auch 4.3.5.4 in der „Diskussion“).

Tabelle 4 A-D: Mineralisierungs-"Eckwerte" (s. Legende unter den Tabellen). Turnoverzeiten (T_t [h]), maximale Raten (V_{max} [$\text{nmol cm}^{-3} \text{h}^{-1}$]) und Michaelis-Menten-Konstante (K_m [mM]) der Mineralisierung verschiedener Substrate im Gotland-Tief (A) und an den Küsten-Standorten im August 1992 (B), im April 1993 (C) und am 3.11.1993 am Standort Hiddensee (D: Feldexperiment, s. 2.3: Vergleich zwischen der abgedeckten Experimentalfäche und der Kontrollfläche). Zahlen in Klammern geben die Werte in den Ansätzen mit 20 mM Molybdat an.

		"Alkor"-Station 30.4.1993		"Helcom"-Station 14.06.1994	
A	Sedimenttiefe [cm]	0-1	19-20	1-2	7-8
	Eh [mV]	-150	-280	-40	-250
	δ_{Eh} [mV]	80	0	150	15
	VFA [μM]	1,92	2,01	-	-
	AS [μM]	-	-	4	12
	SRR [$\text{nmol cm}^{-3} \text{d}^{-1}$]	35	4	3	15
		T_t [h]	98(84)	167(163)	2,28(29)
Acetat	V_{max}	0,43(0,39)	0,05(0,03)	0,12(0,21)	0,006(0,01)
	K_m	0,04(0,03)	0,008(0,003)	0,0003(0,006)	0,0005(0,0001)

		Hiddensee, 23.8.1992	Fährdorf, 25.8.1992
B	Sedimenttiefe [cm]	1-2	1-2
	Eh [mV]	0	0
	δ_{Eh} [mV]	300	20
	VFA [μM]	2	0,5
	AS [μM]	4	5
	SRR [$\text{nmol cm}^{-3} \text{d}^{-1}$]	270	30
		T_t [h]	12,3(11,1)
Acetat	V_{max}	2538(606)	198(207)
	K_m	31,21(6,73)	0,44(0,59)
Laktat	T_t [h]	4,95(4,13)	-
	V_{max}	59(68)	-
	K_m	0,29(0,28)	-

		Hiddensee, 3.11.1993			
		Kontrollfläche		Experimentalfäche	
C	Sedimenttiefe [cm]	0-1	5-6	0-1	5-6
	Eh [mV]	40	-160	-30	-270
	δ_{Eh} [mV]	240	20	100	20
	VFA [μM]	10	9	16	48
	AS [μM]	182	1	2	1
	SRR [$\text{nmol cm}^{-3} \text{d}^{-1}$]	94	63	312	82
		T_t [h]	9,01(9,27)	14,05(12,7)	15,4(20,7)
Acetat	V_{max}	162(103)	44(36)	46(21)	38(31)
	K_m	1,46(0,95)	0,61(0,45)	0,70(0,44)	0,79(0,57)

		Fährdorf, 24.4.1993		Hiddensee, 25.4.1993		
D	Sedimenttiefe [cm]	1-2	4-5	0-1	5-6	
	Eh [mV]	50	-70	0	-195	
	δ _{Eh} [mV]	40	20	330	20	
	VFA [μM]	2.98	4.87	25.46	18.05	
	AS [μM]	2.99	3.42	56.55	1.96	
	SRR [nmol cm ⁻³ d ⁻¹]	500	1050	2000	200	
	Acetat	Tt [h]	7,16(9,65)	11,45(9,85)	12(9,81)	18,8(11,4)
		V _{max}	135(77)	100(150)	144(95)	44(38)
		K _m	0,97(0,74)	0,11(0,15)	1,73(0,93)	0,83(0,43)
	Laktat	Tt [h]	1,4(1,98)	0,94(1,88)	9,22(8,36)	9,26(9,06)
	V _{max}	134(125)	139(135)	139(149)	54(61)	
	K _m	0,019(0,025)	0,013(0,025)	0,13(0,12)	0,50(0,55)	
Benzoat	Tt [d]	2629(6274)	6736(15513)	2390(2749)	3647(4668)	
	V _{max}	0,025(0,005)	0,006(0,002)	0,011(0,010)	0,046(0,012)	
	K _m	-	-	-	-	

Legende für Tabelle 4 A-D:

Eh [mV] Harmonischer Mittelwert des Redoxpotentials im Sediment-Horizont

δ_{Eh} [mV] Differenz des Redoxpotentials im Sediment-Horizont

VFA [μM] Gesamtkonzentration niederkettiger Fettsäuren im Porenwasser

AS [μM] Gesamtkonzentration freier Aminosäuren im Porenwasser

SRR [nmol cm⁻³ d⁻¹] direkt gemessene Sulfatreduktions-Raten

Tabelle 5: Turnoverraten der Acetat- und Laktat-Mineralisierung und -Inkorporation in Sediment-Mikrokosmen, die bei unterschiedlichen Redoxpotentialen gehalten wurden, sowie prozentualer Molybdat-hemmbarer Anteil im Sättigungsbereich der Substrate (T₀: Hälterungs-Beginn; n.d.: r² < 0,9 der linearen Transformation).

Mineralisierung				
	Acetat		Laktat	
	Turnoverrate [nmol cm ⁻³ d ⁻¹]	hemmbarer Anteil[%]	Turnoverrate [nmol cm ⁻³ d ⁻¹]	hemmbarer Anteil[%]
T ₀	0,42	16,8	0,15	42,6
oxisch	n.d.	13,8	n.d.	0
suboxisch	0,86	31,7	14,12	0
anoxisch	0,56	17,1	14,22	0

Inkorporation				
	Acetat		Laktat	
	Turnoverrate [nmol cm ⁻³ d ⁻¹]	hemmbarer Anteil[%]	Turnoverrate [nmol cm ⁻³ d ⁻¹]	hemmbarer Anteil[%]
T ₀	4,67	33,1	1,71	27,2
oxisch	n.d.	5,4	n.d.	21,2
suboxisch	7,16	23,6	31,17	24,5
anoxisch	5,11	25	15,87	17,8

Tabelle 6: Turnoverzeiten (T_t [h]), maximale Raten (V_{max} [$\text{nmol cm}^{-3} \text{ h}^{-1}$]) und Michaelis-Menten-Konstante (K_m [mM]) der Mineralisierung und Inkorporation von Acetat, Laktat und Benzoat in Sediment-Suspensionen vor (T_0) und nach zwei Wochen Hälterung bei unterschiedlichen Redoxpotential-Bereichen (Kon: Kontrolle ohne Molybdat; Mo: Sediment-Suspensionen mit 20 mM Molybdat; n.d.: $r^2 < 0,9$ der linearen Transformation).

Mineralisierung

		T_0		oxisch		suboxisch		anoxisch	
		Kon	Mo	Kon	Mo	Kon	Mo	Kon	Mo
Acetat	T_t	5,7	6,7	10,4	7,9	5,6	6,8	17	30
	V_{max}	3030	2430	59	50	73	108	80	68
	K_m	17,07	16,20	0,61	0,40	0,41	0,73	1,37	2,06
Laktat	T_t	46,7	56,1	2,8	2,4	1,7	1,7	2,7	3,2
	V_{max}	150	118	72	76	104	106	74	76
	K_m	7,06	6,65	0,20	0,18	0,17	0,18	0,20	0,24
Benzoat	T_t	45946	96252	6527	11071	10183	10422	25968	70047
	V_{max}	2,2E-4	1,2E-4	3,0E-4	3,1E-4	3,6E-4	4,0E-4	1,6E-4	9,0E-5
	K_m	1,0E-2	1,2E-2	2,0E-3	3,5E-3	3,7E-3	4,2E-3	4,1E-3	6,6E-3

Inkorporation

		T_0		oxisch		suboxisch		anoxisch	
		Kon	Mo	Kon	Mo	Kon	Mo	Kon	Mo
Acetat	T_t	2,16	3,14	0,80	1,05	0,67	0,73	1,88	2,88
	V_{max}	676	485	227	152	399	323	105	74
	K_m	1,46	1,53	0,18	0,16	0,27	0,23	0,20	0,21
Laktat	T_t	4,21	5,36	1,20	0,75	0,77	1,07	2,42	3,32
	V_{max}	112	79	144	92	205	156	47	40
	K_m	0,47	0,43	0,17	0,07	0,16	0,17	0,11	0,13
Benzoat	T_t	14022	18964	n.d.	n.d.	4019	4301	130735	112961
	V_{max}	1,4E-3	1,2E-3	n.d.	n.d.	6,7E-4	9,2E-4	4,9E-5	3,8E-5
	K_m	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,7E-3	4,0E-3	6,3E-3	4,3E-3

Tabelle 7: Acetat-Turnoverraten und Sulfatreduktions-Raten (SRR) der Untersuchungsgebiete Fährdorf, Hiddensee und Gotland-Tief („Alkor“-Station) sowie Molybdat-hemmbarer Anteil bei Acetat-Sättigung (25 mM).

Station	Datum	Sed.-tiefe [cm]	Turnoverrate [nmol cm ⁻³ d ⁻¹]	hemmbarer	SRR
				Anteil[%]	[nmol cm ⁻³ d ⁻¹]
Fährdorf	25.8.1992	1-2	0,55	0	30
	24.4.1993	1-2	2,12	42	500
		4-5	3,99	33	1050
Hiddensee	23.8.1992	1-2	6,85	10	270
	25.4.1993	0-1	34,4	32	1800
		5-6	8,25	13	200
	3.11.1993	0-1	2,13	35	94
		(K)	5-6	1,32	18
	3.11.1993	0-1	1,01	53	312
(E)		5-6	0,96	18	82
"Alkor"- Station	30.4.1993	0-1	0,37	3	35
		19-20	0,26	23	4

4 DISKUSSION

4.1 DISKUSSION DER METHODEN

4.1.1 Probennahme im Freiland: Zuordnung zu einer Grundgesamtheit

Im Zentrum dieser Untersuchung stand der Einfluß der potentiellen Steuergrößen auf die dissimilatorische Sulfatreduktion sowie die Rolle von Sulfat-reduzierenden Bakterien bei der Mineralisierung organischen Kohlenstoffs. Eine besondere Bedeutung kam dabei dem Vergleich der untersuchten Parameter und ihrem Einfluß auf mikrobielle Aktivitäten in der vertikalen Verteilung zu. Die Variabilität der einzelnen Steuergrößen im Vertikalprofil (z.B. Eh-Gradienten) bot hierfür eine natürliche Voraussetzung. Gleichzeitig machte dieser methodische Ansatz parallele Bestimmungen von physikalisch-chemischen Parametern und mikrobiellen Aktivitäten unter *in-situ*-Bedingungen notwendig.

Die Zeitlimitation bei der Bestimmung von *in-situ*-Raten verhinderte in den meisten Fällen Mehrfach-Bestimmungen, die zur Erfassung des relativen Fehlers hätten herangezogen werden können. Raten-Bestimmungen erfolgten in der Regel mit Duplikaten. Die Probenmengen für die einzelnen Analysen gestatteten es weiterhin nicht, alle Parameter in einem einzigen Sedimentkern zu untersuchen.

Folgende Punkte rechtfertigen dennoch einen Bezug der untersuchten Größen zueinander und einen Vergleich der verschiedenen Probennahmen:

1. Die Probennahmen fanden immer an denselben abgesteckten Flächen statt.
2. Die Untersuchungsgebiete sind so ausgewählt worden, daß Einflüsse von anthropogenen Störungen, hydrodynamischen Kräften und Bioturbation auf das Sediment minimal waren. Am Standort Fährdorf gilt diese Aussage mit Einschränkungen (s. 2.1.1).
3. Ein weiteres Kriterium für die Auswahl der Untersuchungsgebiete war die räumliche (horizontale) Homogenität der Sedimente. Die Auswahl einer begrenzten Fläche für die Untersuchungen und die Überprüfung der relativen Homogenität des Sediments erfolgte anhand von Bestimmungen der Korngrößen und des Anteils an organischer Substanz (Glühverlust) sowie von Redox-Messungen an verschiedenen Stellen. Korngrößen und Konzentration organischer Substanz zeigten nur sehr geringe Schwankungen (2.1.2, Tabelle 1). Das Redoxpotential konnte zwar an verschiedenen Stellen der Untersuchungs-Flächen zum gleichen Zeitpunkt um bis zu 50 mV in den oberen Zentimetern abweichen. Doch

zeigten die Gradienten einen ähnlichen Verlauf, und die Sedimenttiefen der Maxima, Redox-Sprungschicht und Minima waren immer identisch.

4. Die geringen Standardabweichungen der anhand von jeweils drei Unterkernen gewonnenen Sulfatreduktions-Raten am 3.11.1993 unter der Kontroll- und Experimentalfläche (3.3.2, Abbildung 47) am Standort Hiddensee deuten auf eine geringe horizontale Heterogenität der mikrobiellen Aktivität an diesem Untersuchungsgebiet hin. Auch die Duplikate von Sulfatreduktions- und Mineralisierungsraten am Standort Fährdorf und den Stationen im Gotland-Tief wichen meist nur zwischen 0 und 30% voneinander ab.

4.1.2 Gewinnung und Analytik von Porenwasser

Die Methode zur Porenwasser-Gewinnung mußte kontaminationsfrei, unselektiv und unverzüglich nach der Probennahme erfolgen. Außerdem mußte sie eine räumliche Zuordnung der im Porenwasser gemessenen Größen zu den Mineralisierungs- und Sulfatreduktions-Raten-Bestimmungen erlauben. Porenwasser-„Zieher“, die mit Hilfe von Spritzen Unterdruck erzeugen und das Porenwasser absaugen, haben ein diffuses, kugelförmiges Einzugsgebiet, das dem der anderen Bestimmungen nicht entsprach und wahrscheinlich über die angestrebte Auflösung von einem Zentimeter hinausgeht (Hüttel, 1988). Die Anwendung eines „Diffusions-Sammlers“ kam ebenfalls nicht in Frage, da diese Art der Porenwasser-Gewinnung eine stationäre Verankerung der Vorrichtung über mehrere Tage bis Wochen nötig macht, um die Einstellung eines Gleichgewichts zwischen Diffusionskammern und Porenwasser zu erreichen (Höpner, 1981). Zudem ist diese Methode hinsichtlich der Molekülgröße selektiv, was eine Parallel-Bestimmung von Sulfat sowie Aminosäuren und Fettsäuren ausschloß.

Da die untersuchten Sedimente feinsandig bis schlickig waren und einen hohen Wassergehalt aufwiesen, konnte das Porenwasser durch Zentrifugation gewonnen (2.6.3) und auf ein Auspressen mit N_2 -Gas verzichtet werden. Die in den meisten Fällen beobachtete exponentielle Abnahme der Sulfat-Konzentration mit der Sedimenttiefe deutet darauf hin, daß ein Verschieben des Sedimentkerns im Stechrohr (2.6.3) die natürlichen Gradienten nicht zerstört hat.

4.1.2.1 Aminosäure- und Fettsäure-Bestimmungen im Porenwasser

Für die Bestimmung der Zusammensetzung und Konzentration von Aminosäuren und Fettsäuren im Porenwasser mußten sowohl die Derivatisierung als auch die HPLC-Bedingungen neu erarbeitet werden. Die Trennung der einzelnen Verbindungen und in ei-

nigen Fällen sogar die relativen Retentionszeiten entsprachen trotz Verwendung der gleichen Trennmaterialien und Eluenten in keiner Weise den Literaturangaben. Dies traf insbesondere auf die Analytik der niederkettigen Fettsäuren nach Miwa (1985) zu (s.u.).

Die entwickelte HPLC-Methode zur Bestimmung von Aminosäuren (mod. nach Bidlingmeyer *et al.*, 1984) wurde nach Kenntnis des Autors erstmals in marinen Sedimenten angewendet. Die methodischen Untersuchungen zur Bestimmung der Aminosäure-Zusammensetzung und -Konzentration im Porenwasser (2.6.6 und 3.1.2) haben gezeigt, daß weder die Probenmatrix im Porenwasser noch die Aufkonzentrierung durch Lyophilisierung einen Einfluß auf die Wiederfundrate bei 12 von 15 gemessenen Aminosäuren hatten. Nach Verbesserungen im Pumpen- und Fließsystem, die hauptsächlich in der Verminderung der Druckschwankungen bestanden, konnte die Nachweisgrenze für Porenwasser-Proben bei einigen Aminosäuren auf bis zu 2 pmol pro Injektion (20 µl) herabgesetzt werden. Eine Herabsetzung der Trennleistung der Trennsäule wurde erst nach 250, und nicht wie in Fürst *et al.* (1990) nach 150 Messungen, beobachtet.

Da die Derivatisierung auf der sogenannten „Edman-Reaktion“ beruht, bei der Phenylisothiocyanat mit der Amino-Gruppe reagiert, können sowohl primäre und sekundäre als auch „modifizierte“ (z.B. acetylierte) Aminosäuren nachgewiesen werden. Die beschriebene Methode ist daher ein nützliches Werkzeug zur Untersuchung der Rolle von Aminosäuren in C- und N-Kreisläufen in marinen Sedimenten.

Weder die Analyse von Fettsäuren nach der Originalvorschrift (Miwa, 1985) noch die Nachstellung der Modifikationen für Porenwasser nach Mueller-Harvey & Parkes (1987) erbrachten zufriedenstellende Trennleistungen. So war beispielsweise eine Trennung von Formiat, Laktat und Acetat unter den dort beschriebenen Bedingungen nicht zu bewerkstelligen. Daher mußten bei der Derivatisierung und der HPLC-Trennung Modifikationen vorgenommen werden (2.6.7.). Hierbei spielte die Entwicklung eines geeigneten nicht-linearen Elutions-Gradienten (2.6.7.1) die entscheidende Rolle.

Die so bewirkte vollständige Trennung der einzelnen Verbindungen und die reduzierten Schwankungen der Basislinie führten zu einer besseren Reproduzierbarkeit der Messungen als bei Mueller-Harvey & Parkes (1987) und die Nachweisgrenze für alle Fettsäuren konnte herabgesetzt werden. Im Gegensatz zu Mueller-Harvey & Parkes (1987) wurde eine Veränderung der Trenneigenschaften durch die salzhaltige Probenmatrix für alle Fettsäuren festgestellt (3.1.3.1). Diese manifestierte sich jedoch nur bei relativ hohen Fettsäure-Konzentrationen (Abbildung 10), die in Freiland-Untersuchungen selten beobachtet wurden. Nach einer Aufkonzentrierung der Fettsäuren, die wegen der Flüchtigkeit nur nach der Derivatisierung sinnvoll ist (3.1.3.2), konnten Fettsäuren bis unter 0,1 µM eindeutig nachgewiesen werden.

4.1.3 Bestimmung von Sulfatreduktions-Raten mit der ^{35}S -Methode: Eine gute Näherung der *in-situ*-Raten?

Die in dieser Untersuchung verwendete Methode zur Bestimmung von Sulfatreduktions-Raten, mit der $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ in Sedimente eingebracht und entstandenes radioaktiv markiertes Sulfid rückdestilliert und gemessen wurde, wird seit vier Jahrzehnten angewendet (Ivanov, 1956). Sie hat sich gegenüber indirekten Methoden, wie die Anwendung von mathematischen Modellen, Schwefelwasserstoff- und Ammonium-Messungen als zuverlässigste Methode zur Bestimmung von Sulfatreduktions-Raten erwiesen (Jørgensen, 1978a; Skyring, 1987). Einige Probleme, die bei der Anwendung dieser Methode auftreten und in dieser Untersuchung von Interesse sind, sollen im folgenden diskutiert werden. Sie betreffen die Einbringung des $^{35}\text{SO}_4^{2-}$, die Inkubation, die anschließende Destillation und die Berechnung von Sulfatreduktions-Raten.

4.1.3.1 Injektion der $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ -Lösung und Inkubation

Frühere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Sulfatreduktions-Raten, die an Sediment-Suspensionen bestimmt wurden, durch die Homogenisierung und Zerstörung der natürlichen Laminierung bzw. Gradienten der Sedimente nicht den *in-situ*-Raten entsprechen (Jørgensen, 1978a; Alperin & Reeburgh, 1985). Wegen der zentralen Bedeutung der Untersuchung von potentiellen Steuergrößen der dissimilatorischen Sulfatreduktion (4.1.1) war ein Erhalt der natürlichen Gradienten in den Freiland-Untersuchungen essentiell. Daher wurde die Injektionsmethode (Ivanov, 1964) zur Einbringung der $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ -Lösung gewählt. In Experimenten mit Sediment-Mikrokosmen standen vergleichende Untersuchungen durch unterschiedliche Hälterungsbedingungen im Vordergrund. Eine vermeintliche Überschätzung von Sulfatreduktions-Raten durch Stimulation der mikrobiellen Aktivität in Sediment-Suspensionen (Jørgensen, 1978a; Christensen, 1984) konnte in diesem Zusammenhang vernachlässigt werden.

Jørgensen (1978a) machte deutlich, daß trotz einer sich ändernden Verteilung des Tracers nach der Injektion die Voraussetzungen für korrekte Messungen gegeben sind. Denn das injizierte radioaktive Sulfat diffundiert unabhängig von den natürlichen Gradienten in das umgebende Porenwasser und verursacht nur für einige Sekunden lokale chemische Veränderungen.

Das Hauptproblem der Injektionsmethode besteht in der raschen chemischen und mikrobiellen Reoxidation von ^{35}S -Sulfid. Bilanzierungen über einen Zeitraum von einem Jahr ergaben, daß bis zu 85% des reduzierten Schwefels in Küstensedimenten reoxidiert werden kann (Thamdrup *et al.*, 1994). Um diesen Verlust von markiertem Sulfid zu minimieren und die hieraus folgende Unterschätzung der Sulfatreduktions-Raten in Gren-

zen zu halten, wurde eine Inkubationsdauer von maximal acht Stunden gewählt. Eine signifikante Änderung der Sulfatreduktions-Raten mit der Zeit wurde erst nach 24 Stunden an schlickigen Ostsee-Sedimenten festgestellt (Jørgensen, 1978a).

4.1.3.2 Rück-Destillation reduzierter ^{35}S -Verbindungen (TRIS-Methode)

Die während der Inkubation mit $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ entstandenen reduzierten ^{35}S -Verbindungen müssen in eine meßbare Form überführt werden. Dazu ist es notwendig, sie vom Sediment zu trennen. Bis Ende der siebziger Jahre hat man die ^{35}S -Methode in der Annahme angewendet, daß das meiste $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ zu säurelöslichen Schwefelverbindungen (AVS-Acid Volatile Sulfide), wie freies Sulfid oder FeS, reduziert wird. Daher hatte man die Sedimentproben mit HCl rückdestilliert. Untersuchungen von Howarth und Mitarbeitern zeigten jedoch, daß in Salzmarsch-Sedimenten der Anteil von nicht-säurelöslichen Sulfiden (Chromium Reducible Sulfur-CRS; hauptsächlich Pyrit und elementarer Schwefel) zwischen 70 und 95% betragen kann (Howarth, 1979; Howarth & Teal, 1979; Howarth & Giblin, 1983). Durch die Reduktion mit einer sauren Cr^{2+} -Lösung kann auch diese Fraktion destilliert werden (CRS-Chromium Reducible Sulfide; Zhabina & Volkov, 1978). Die Anwendung einer fraktionierten Destillation mit HCl und einer sauren Cr^{2+} -Lösung zeigte, daß in verschiedenen marinen Sedimenten der entstandene Anteil der CRS-Fraktion in Kurzzeit-Inkubationen zwischen 10 und 50% liegt (z.B. Lein *et al.*, 1982; Westrich, 1983; King *et al.*, 1985) und Pyrit die Hauptrolle bei der Festsetzung biogenen Sulfids spielt (Aller & Yingst, 1980; Luther *et al.*, 1982). Die AVS- und CRS-Anteile variieren in Abhängigkeit vom Sediment-Typ (Thode-Andersen & Jørgensen, 1989). Fossing & Jørgensen (1989) untersuchten eine Destillations-Methode (TRIS-Total Reduction of Inorganic Sulfur), bei der AVS- und CRS-Fractionen in einem Schritt reduziert werden. Die anhand der TRIS-Methode gewonnenen Sulfatreduktions-Raten lagen um 4-50% höher als die durch die Summe von AVS- und CRS-Fractionen berechneten. Die Gründe hierfür lagen wahrscheinlich in dem Verlust von markiertem Sulfid während der Zwischenschritte bei der fraktionierten Destillation (z.B. Trocknung des Sediments).

Obwohl die einstufige Destillation einfacher als die fraktionierte Destillation durchzuführen ist, bleibt die TRIS-Methode aufgrund der Verwendung komplizierter und empfindlicher Apparaturen (2.9.1.2) aufwendig zu handhaben. Eine einfachere Methode anhand der passiven Destillation in einem geschlossenen Reaktionsgefäß wurde bislang nur für die AVS-Destillation angewendet (Rosser & Hamilton, 1983; Howarth & Giblin, 1983; Albert, 1985). Ein Test der passiven Destillation an gleichem Probenmaterial in Verbindung mit der Chrom-Reduktion ergab, daß die TRIS-Methode hinsichtlich der Aus-

beute an markiertem Sulfid und der Reproduzierbarkeit der passiven Destillation überlegen ist (3.1.1.1, Abbildung 6).

Eigene Arbeiten und die Untersuchungen von Fossing & Jørgensen (1989) zeigen, daß bei biogeochemischen und mikrobiologischen Fragestellungen, in denen die Gesamt-Sulfatreduktions-Raten im Mittelpunkt stehen, die TRIS-Methode die geeignetste Destillations-Prozedur ist.

4.1.3.3 Berechnung der Sulfatreduktions-Raten

Der größte potentielle Fehler bei der Berechnung von Sulfatreduktions-Raten liegt in der Bestimmung der spezifischen Aktivität des eingebrachten $^{35}\text{SO}_4^{2-}$. Mit Hilfe einer ionenchromatographischen Methode konnte eine zuverlässige Bestimmung der SO_4^{2-} -Konzentrationen stattfinden (2.6.4), die in die Berechnung der spezifischen Aktivität eingehen.

Die Kombination der oben beschriebenen Analysengänge gilt allgemein als eine geeignete Methode zur Bestimmung von Sulfatreduktions-Raten. Deshalb sind in dieser Untersuchung die mit Hilfe der ^{35}S -Methode ermittelten Sulfatreduktions-Raten vereinfacht als „in-situ-Raten“ bezeichnet. Sie bilden die Hauptgrundlage für die Diskussion Sulfatreduktions-abhängiger Prozesse und des Einflusses potentieller Steuergrößen auf die dissimilatorische Sulfatreduktion.

4.1.4 Die Multidisk-MPN als rentable und wirkungsvolle Alternative zur konventionellen MPN-Methode für die Abundanz-Bestimmung Sulfatreduzierender Bakterien

Die Keimzahl-Bestimmung ist neben Aktivitäts-Messungen die wichtigste Größe zur Charakterisierung von Bakterienpopulationen. Sie ist in anoxischen Sedimenten durch spezielle Wachstumsbedingungen, wie z.B. die Besiedlung der Mikroflora an Partikeln (Adhäsion), und methodischen Problemen immer besonderen Schwierigkeiten unterworfen, da alle Arbeitsschritte anoxisch erfolgen müssen (Busmann & Reichardt, 1991). Das gilt für „klassische“ Keimzahl-Bestimmungen, wie der Kolonie-Auszählung in Agar oder der Most-Probable-Number-Methode (MPN) in Flüssigkultur-Medien genauso wie für die Populations-Analyse mit Hilfe neuerer Techniken. Letztere sind zudem für routinemäßige Messungen in ökologischen Untersuchungen an marinen Sedimenten noch zu

arbeitsaufwendig (Fettsäuren als Biomarker: Taylor & Parkes, 1985; Reichardt, 1989; Polymerase-Chain-Reaction/16S rRNA: Amann *et al.*, 1992; S- und Fe(OH)₂-Membranfilter-Technik: Traore & Jacq, 1991). In „klassischen“ Methoden entsprechen jedoch die Anreicherungsbedingungen einschließlich der ausgewählten Elektronen-Donatoren selten den natürlichen Wachstumsbedingungen. Diese Gründe sind die Hauptursache für eine signifikante Unterschätzung bei der Abundanz-Bestimmung Sulfat-reduzierender Bakterien. Ein Vergleich zwischen der zellspezifischen Sulfatreduktionsrate und der aus Agar-Schüttelkulturen ermittelten Keimzahlen für Laktat-verwertende Sulfatreduzierer ergab eine 1000-fache Unterschätzung in marinen Sedimenten (Jørgensen, 1978b). Auch die Summe der Keimzahlen aus Agar-Schüttelkulturen mit verschiedenen Kohlenstoff-Quellen (Laktat, Acetat, Propionat und Butyrat) und die verbesserte Abtrennung der Bakterien von Sedimentpartikeln hat zu keiner entscheidenden Verbesserung geführt. Die Wiederfundrate betrug hier nur 0,002-0,04% im Vergleich zu Direktzählungen an Kulturen von Sulfatreduzierern (Gibson *et al.*, 1987). Nach Bak und Jørgensen (1991) erscheint die MPN-Technik am besten geeignet, Keimzahlen von Sulfat-reduzierenden Bakterien zu erfassen.

Daher wurde in der vorliegenden Untersuchung auf die MPN-Methode zurückgegriffen. Hier gelang es erstmals, die Technik der Simultan-Beimpfung durch Verwendung von Multidisk-Platten (Rowe *et al.*, 1977) für die MPN-Bestimmung von Sulfatreduzierern anzuwenden. Der Aufwand an Zeit und Materialien war erheblich geringer als bei der konventionellen Methode, bei der jeder Titer einzeln in Glas-Röhrchen überführt werden mußte (Bussmann & Reichardt, 1991).

Der mehrminütige Arbeitsschritt der Überimpfung in Multidisk-Platten brachte jedoch die Gefahr einer Sauerstoff-Kontamination mit sich. Andererseits können Sulfat-reduzierende Bakterien mehrere Stunden unter Luftatmosphäre überleben (Abdollahi & Wimpenny, 1990) und mit Sauerstoff sogar ATP erzeugen (Dilling & Cypionka, 1990). Eine Unempfindlichkeit gegenüber einer kurzfristigen Exposition mit Sauerstoff bestätigte sich auch bei der verwendeten MPN-Methode: eine Beimpfung des verwendeten Stammes von *Desulfovibrio vulgaris* unter Luftatmosphäre und unter Ausschluß von Sauerstoff ergab keinen signifikanten Unterschied in den MPN-Werten (3.1.4.2, Abbildung 12). Die aufwendige Beimpfung unter Argon- bzw. Formiergas-Atmosphäre in einer Anaerobenkammer konnte damit umgangen werden. Eine Inkubation in einem Vakuum-Temperatur-Schrank war jedoch wegen der Sauerstoff-Durchlässigkeit der Polypropylen-Multidisk-Platten unumgänglich.

Die Verwendung von Thioglycolat und Ascorbinsäure statt Na₂S als Reduktionsmittel (mod. „Widdel-Medium“; Widdel & Pfennig, 1984) verhinderte ein Ausgasen von H₂S während des Evakuierens im Vakuum-Schrank und damit den Verlust des Reduktions-

mittels. Ein schlechteres Wachstum von Acetat-verwertenden Sulfatreduzierern mit Thioglycolat, wie es bei Reinkulturen von *Desulfobacter spp.* und *Desulfobulbus spp.* festgestellt wurde (Pfennig *et al.*, 1981), konnte nicht ausgeschlossen werden. Doch die Anteile von Acetat-verwertenden Spezies an der Gesamt-Abundanz der Sulfatreduzierer in den untersuchten Sedimenten ist vergleichbar mit denen in anderen Untersuchungen, in denen H₂S als Reduktionsmittel verwendet worden ist (z.B. Gibson *et al.*, 1987), so daß Unter-Bestimmungen aufgrund des Zusatzes von Thioglycolat unwahrscheinlich sind.

Die Wiederfunderate der Multidisk-MPN im Vergleich zu Direktzählungen lag für einen Stamm von *Desulfovibrio vulgaris* (stationäre Wachstumsphase) zwischen 4,75 und 6,25%. Diese Wiederfunderaten von Sulfat-reduzierenden Bakterien in Reinkulturen liegen um den Faktor 10 niedriger als in Gibson *et al.* (1987), die mehrere Stämme von Sulfatreduzierern in logarithmischer Wachstumsphase verwendeten. Andererseits lagen die im Freiland ermittelten MPN-Werte für die Summe von Laktat-, Acetat- und Benzoat-verwertenden Sulfatreduzierern um einen Faktor 10-100 höher als in anderen eutrophen marinen Sedimenten (Gibson *et al.*, 1987; Fossing & Jørgensen, 1990; Busmann & Reichardt, 1991).

Zellspezifische Sulfatreduktions-Raten in den untersuchten Sedimenten bestätigen, daß der systematische Fehler bei der Abundanz-Bestimmung Sulfat-reduzierender Bakterien mit der Multidisk-MPN gering ist. Jørgensen (1978b) und Gibson *et al.* (1987) berechneten zellspezifische Sulfatreduktions-Raten in marinen Sedimenten anhand der Koloniezahl in Agar-Schüttelkulturen und der ³⁵S-Methode von $2,5 \cdot 10^{-3}$ bzw. $4,42 \cdot 10^{-3}$ nmol pro Zelle d⁻¹. Diese Werte waren 100-1000 mal höher als in wachsenden Kulturen von Sulfatreduzierern (10^{-6} - 10^{-5} nmol pro Zelle d⁻¹ aus Jørgensen, 1978b). In den Sedimenten der Küsten-Standorte und der Stationen im Gotland-Tief waren die zellspezifischen Sulfatreduktions-Raten dagegen nur um einen Faktor von 10-100 höher (Tabelle 8). Damit liegen die mit der Multidisk-MPN ermittelten Werte im gleichen Bereich wie die bisher ergiebigsten Bestimmungen mit einer konventionellen MPN-Methode (Jørgensen & Bak, 1991; Bak & Pfennig, 1991a).

Tabelle 8: Zellspezifische Sulfatreduktions-Raten nahe der Sedimentoberfläche (erste Zeile) und in tieferen Sediment-Horizonten (zweite Zeile) der untersuchten Sedimente (Zahlen in Klammern: \bar{e}_h [mV] / Sedimenttiefe [cm]).

Zellspezifische Sulfatreduktions-Raten [10^{-4} nmol pro Zelle d^{-1}]			
Fährdorf, 19.5.1994	Hiddensee, 19.5.1994	„Helcom“-Station, 14.6.1994	„Alkor“-Station, 16.6.1994
8,46 (150/1-2)	4,62 (300/0-1)	8,37 (15/6-7)	1,33 (15/0-1)
3,52 (10/6-7)	0,57 (0/5-6)	1,75 (0/20-21)	0,66 (0/50-51)

Der Vorteil der Multidisk-MPN zur Abundanz-Bestimmung von Sulfatreduzierern lag darin, daß man größere Probenmengen in kurzer Zeit verarbeiten kann. Das bedeutet:

1. eine größere Grundgesamtheit für statistische Bewertungen,
2. die Möglichkeit, der physiologischen Diversität der Sulfat-reduzierenden Bakterien in einer Probe durch Mehrfach-Ansätze besser gerecht zu werden,
3. ökologisch relevante Parameter bei einem Minimum an Zeitaufwand zusätzlich gleichzeitig zu untersuchen.

4.1.5 Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion mit Molybdat

4.1.5.1 Funktionsweise der Hemmung mit Molybdat

Molybdat ist ein Strukturanalogon von Sulfat und konkurriert daher potentiell mit den gleichen Bindungsstellen von Enzymen, die am Transport und an der Sulfatreduktion beteiligt sind. Beim ersten Schritt der dissimilatorischen Sulfatreduktion verhindert Molybdat die Bildung von Adenosin-5'-Phosphosulfat (APS). Stattdessen wird ein instabiles Adenosin-Phosphomolybdat gebildet. Ohne APS kann jedoch die anschließende Reduktion zu Sulfit nicht erfolgen (Taylor & Oremland, 1979; Oremland & Capone, 1988). Eine Hemmung des Sulfat-Transports in die Zelle ist jedoch nicht zweifelsfrei erwiesen. Newport & Nedwell (1988) stellten eine Unterbindung des Sulfat-Transports an verschiedenen Stämmen von Sulfatreduzierern in Gegenwart von Molybdat fest. Cypionka (1989) beobachtete dagegen eine Akkumulation von Sulfat in Zellen von *Desulfovibrio desulfuricans*, während gleichzeitig die dissimilatorische Sulfatreduktion gehemmt war.

4.1.5.2 Wirkung von Molybdat auf die dissimilatorische Sulfatreduktion und auf Sulfatreduktions-abhängige Prozesse in den untersuchten Sedimenten

Molybdat wird seit mehr als einem Jahrzehnt in Untersuchungen Sulfatreduktions-abhängiger Prozesse wie der Mineralisierung organischen Kohlenstoffs als spezifischer Inhibitor eingesetzt (Smith & Klug, 1981; King *et al.*, 1983; Michelson *et al.*, 1989; Parkes *et al.*, 1989; Shaw & McIntosh, 1990). In verschiedenen Untersuchungen an Kulturen und im Freiland wurde tatsächlich eine Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion festgestellt (s.o.). Dennoch haben Banat *et al.* (1981) bei der ^{35}S -Methode einen systematischen Fehler vermutet. Sie zeigen, daß Sulfid als Reduktionsmittel für die Ausbildung eines Phosphor-Molybdän-Komplexes fungieren und dabei selber oxidieren kann. Diese Reaktion würde bei der Destillation zu einem Verlust von ^{35}S -Sulfiden führen und eine Hemmung suggerieren. In der vorliegenden Untersuchung waren bei Sedimentproben mit und ohne Molybdat, denen Na_2S als interner Standard zugesetzt wurde, die Wiederfundraten von H_2S jedoch identisch, so daß dieser systematische Fehler ausgeschlossen werden kann (3.1.1.2, Abbildung 7).

Die primäre Hemmwirkung auf die dissimilatorische Sulfatreduktion in den untersuchten Salzhaff- und Bodden-Sedimenten nach Zugabe von 20 mM Na_2MoO_4 ist bestätigt worden (3.1.1.3, Abbildung 8). Jedoch blieb eine Hemmung der Mineralisierung von in Tracer-Mengen zugegebenen ^{14}C -markierten Substraten (nM oder μM), wie sie üblicherweise eingesetzt werden (siehe o.g. Publikationen), in vielen Fällen aus. Nicht selten wurde sogar eine Stimulation festgestellt (3.6, Abbildung 59; Tabelle 9), obwohl gleichzeitig Sulfatreduktions-Raten gemessen wurden. Dabei war ein Ausbleiben der Hemmung bzw. eine Stimulation von Mineralisierungsraten in Gegenwart von Molybdat unabhängig von der Höhe der gemessenen Sulfatreduktions-Raten.

Eine Hemmwirkung war hingegen abhängig von der Konzentration der eingesetzten Kohlenstoff-Quellen. Dies wurde insbesondere für Acetat festgestellt. Ein typisches Beispiel dieser Situation zeigt Tabelle 9. Während im Konzentrationsbereich von 0,06 bis 234 μM eine Stimulation der Mineralisierungsraten in einer Sedimenttiefe von 0-1 cm zu verzeichnen war, zeigte sich eine Hemmwirkung erst bei 2,3 mM (Beginn einer Substratsättigung) die auch bei 23 mM (Substratsättigung) bestehen blieb. Gleichzeitig waren die Sulfatreduktions-Raten in diesem Sediment-Horizont mit fast $1500 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (3.2.2.4, Abbildung 31) und damit der potentielle Anteil der dissimilatorischen Sulfatreduktion an der Gesamt-Mineralisierung sehr hoch. Eine Erklärung für diesen Widerspruch bieten die Wechselwirkungen mit anderen Bakteriengruppen und die physiologische Flexibilität der Sulfatreduzierer (s. 4.3.4).

Tabelle 9: Acetat-Mineralisierungsraten ohne (Kontrolle) und mit 20 mM Na₂MoO₄ (+Molybdat) bei steigender Acetat-Konzentration in 0-1 cm Sedimenttiefe am 25.4.1993 am Standort Hiddensee. Die letzte Spalte gibt die prozentuale Hemmung durch Molybdat im Vergleich zur Kontrolle an. Negative Werte bedeuten Stimulation.

Konzentration [μM]	Kontrolle [pmol cm ⁻³ h ⁻¹]	+Molybdat [pmol cm ⁻³ h ⁻¹]	Hemmung [%]
0,06	11	11	-2
0,24	16	18	-11
1,16	74	106	-44
5,77	497	683	-37
28,00	3854	4970	-29
234,00	30126	33777	-12
2291,00	118394	75834	36
22857,00	133597	91476	32

Da die Molybdat-Hemmung der Mineralisierung von der Konzentration der eingesetzten Kohlenstoff-Quellen abhängt, können Messungen mit geringen Standard-Substrat-Konzentrationen zu Fehleinschätzungen Sulfatreduktions-abhängiger Prozesse führen. Um den Anteil der dissimilatorischen Sulfatreduktion an der Gesamt-Mineralisierung in eutrophen Sedimenten zu erfassen, sollten die Mineralisierungs-Substrate daher in Sättigungs-Konzentration vorliegen.

In Verbindung mit der Aufnahme einer Michaelis-Menten-Kinetik können jedoch auch Stimulations-Effekte zu Informationen über die Einbindung Sulfat-reduzierender Bakterien in den C- und S-Kreislauf führen. Dies wird in einem späteren Abschnitt diskutiert (4.3.5.3).

4.1.6 Anwendbarkeit des Michaelis-Menten-Modells auf die Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs

Vorausgeschickt sei eine Begriffs-Definition: Der Begriff *Mineralisierung (organischen Kohlenstoffs)* bezieht sich auf die biologische Freisetzung von CO₂ aus uniform markierten ¹⁴C-Testsubstraten (2.10). Daher ist es korrekter, den Begriff *Mineralisierung (organischen Kohlenstoffs)* zu verwenden als die Begriffe *Oxidation, Endoxidation oder Respiration*, da er die Gesamtheit der respiratorischen und fermentativen Prozesse bei der CO₂-Freisetzung einbezieht.

Mineralisierungs-Messungen sind auf zwei Wegen durchgeführt worden:

1. Das ^{14}C -markierte Testsubstrat wird den Proben in einer (Standard-) Konzentration zugefügt.
2. Das ^{14}C -markierte Testsubstrat wird den Proben in unterschiedlichen, steigenden Konzentrationen verabreicht.

Zu 1. -- Die mit der Standard-Konzentration eines Testsubstrats erhaltenen Mineralisierungsraten (Kadota *et al.*, 1966) beschreiben *relative* Raten, die aus der Mineralisierungs-Aktivität abgeleitet werden. Unter der Voraussetzung, daß die Mineralisierungsraten direkt proportional zur (zell-)externen Substrat-Konzentration und zum Substrat-Transport in die Zelle sind, kann aus der freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ -Menge pro Zeiteinheit in Relation zur Menge des eingesetzten ^{14}C -Substrats die Turnover-Zeit berechnet werden (Williams & Askew, 1968). Das ist nicht immer der Fall, selbst wenn die zugefügte Menge des ^{14}C -Substrats im Vergleich zur natürlich vorhandenen Menge gering ist (Wright, 1974). Deshalb sind die so erhaltenen Turnover-Zeiten eher als *apparente*, denn als natürliche Turnover-Zeiten anzusehen. Eine Unsicherheit der Methode besteht vor allem dann, wenn die natürliche Substrat-Konzentration, wie in eutrophen marinen Sedimenten, als hoch anzunehmen ist.

Zu 2. -- Im Gegensatz zur oben dargestellten Methode werden abgestufte Substrat-Konzentrationen der Tatsache gerecht, daß der Komplex aus Substrat-Aufnahme und Metabolisierung einer Sättigungs-Kinetik unterliegt. In vielen Untersuchungen aquatischer Bakterienpopulationen, wie auch in der vorliegenden, hat sich die Konzentrations-Abhängigkeit der Mineralisierungsraten mit der Michaelis-Menten-Kinetik am besten beschreiben lassen. Aber auch bei Mineralisierungs-Messungen mit steigender zugegebener Substrat-Konzentration (S_{add}) besteht ein potentieller Fehler dann, wenn man die natürliche Substrat-Konzentration (S_n) nicht kennt. Damit gehen S_n und S_{add} in der Michaelis-Menten-Gleichung¹ als komplexe Größe ein. In der vorliegenden Untersuchung wurden die Acetat- und Laktat-Konzentrationen (S_n) im Porenwasser bei den Berechnungen berücksichtigt. Allerdings waren K_m und S_{add} der Acetat- und Laktat- Mineralisierung meistens so groß, daß S_n vernachlässigbar war.

Während die erste Methode sich höchstens für oligotrophe Gewässer eignet, wird die zweite auch dem Substrat-Milieu nährstoffreicher aquatischer Ökosysteme gerecht (Wright, 1974, Reichardt, 1978). Hierzu sind auch die Salzhaff- und Bodden-Sedimente sowie die Sedimente des Gotland-Tiefs zu rechnen. Außerdem wird die zweite Methode der Aufgabenstellung dieser Untersuchung besser gerecht. Denn diese bestand auch

¹ $V = V_{\max} \cdot \frac{(S_n + S_{add})}{(S_n + S_{add}) + K_m}$

darin, mit Hilfe kinetischer Parameter der Michaelis-Menten-Kinetik den physiologischen Zustand der natürlichen Bakterienpopulation zu kennzeichnen.

Das Michaelis-Menten-Modell bezieht sich zwar auf die Kinetik monomolekularer Enzymreaktionen, doch beschreibt es die komplexen Reaktionen bei der Mineralisierung bzw. Inkorporation organischen Kohlenstoffs durch natürliche Bakterienpopulationen im Falle einer Sättigungs-Kinetik recht gut. Es spricht daher nichts gegen eine analoge mathematische Anwendung dieses Modells. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß V_{\max} („Mineralisierungspotential“) und K_m („Substrat-Affinität“) wesentlich komplexere Prozesse als in der Enzymkinetik beschreiben, wenn sie zur Charakterisierung des organischen Kohlenstoff-Flusses durch heterotrophe Mikroflora herangezogen werden.

4.2 EINFLUSS POTENTIELLER STEUERGRÖSSEN AUF DIE DISSIMILATORISCHE SULFATREDUKTION

Für die enzymatisch katalysierte Redox-Reaktion beim Abbau organischen Kohlenstoffs benötigen Organismen Elektronen-Donatoren und -Akzeptoren, deren Konzentrationen die Bildung entsprechender Enzym-Substrat-Komplexe entscheidend beeinflussen. Ob Energie aus einer Redox-Reaktion gewonnen werden kann, hängt von den thermodynamischen Voraussetzungen ab, die durch das Redoxpotential beschrieben werden. Elektronen-Donatoren und -Akzeptoren und Redoxpotential werden daher im folgenden als potentielle Steuergrößen der dissimilatorischen Sulfatreduktion bezeichnet. Für Sulfat-reduzierende Bakterien sind die wichtigsten potentiellen Steuergrößen:

- Sulfat neben Thiosulfat als der wichtigste Elektronen-Akzeptor
- niederkettige Fettsäuren als die wichtigsten Elektronen-Donatoren (Widdel, 1988)
- Aminosäuren, die als Fermentations-Substrate wichtige Vorstufen für niederkettige Fettsäuren in aquatischen Ökosystemen darstellen können
- das Redoxpotential

4.2.1 Einfluß des Redoxpotentials (E_h) auf Sulfatreduktions-Raten

Die Voraussetzung für den Cytochrom-c-abhängigen Elektronentransport und das Wachstum von Sulfat-reduzierenden Bakterien ist ein genügend niedriges Redoxpotential (-205 mV; Postgate, 1984; Widdel, 1988). Die Frage, ob die Sulfatreduktions-Raten direkt vom Redoxpotential im Sediment abhängen, soll im folgenden beantwortet werden.

In temporär oxischen Sedimenten, wie in den Oberflächen-Sedimenten der untersuchten Küsten-Standorte, könnten die Schwankungen des Redoxpotentials zudem Auswirkungen auf die Zusammensetzung der Populationen von Sulfat-reduzierenden Bakterien haben.

4.2.1.1 E_h als Steuergröße in Freiland-Untersuchungen

Trotz eines niedrigen Redoxpotentials als Voraussetzung für ein Wachstum Sulfat-reduzierender Bakterien, beschränkt sich die Aktivität dieser Bakteriengruppe, gemessen an den Sulfatreduktions-Raten, nach jüngeren Untersuchungen nicht auf Bereiche mit niedrigem Redoxpotential. In Cyanobakterien-Matten wurde eine Steigerung der Sulfatreduktions-Raten bei hoher O_2 -Produktion durch Photosynthese in den obersten zwei

Millimetern registriert (Fründ & Cohen, 1992). Außerdem wurden hohe, bisweilen maximale, Sulfatreduktions-Raten in oxidierten Sedimenten (>0 mV) festgestellt (Jørgensen & Bak, 1991; Bak & Pfennig, 1991b).

Diese Beobachtung ist während der Freiland-Untersuchungen ebenfalls gemacht worden. Ein einfacher Zusammenhang zwischen dem Redoxpotential und den Sulfatreduktions-Raten bestand nicht. So lagen die höchsten Sulfatreduktions-Raten an den Standorten Fährdorf und Hiddensee in suboxischen bis oxischen Bereichen (Fährdorf: 19.5.1994-Abbildung 23; Hiddensee: 25.4.1993-Abbildung 31; 19.5.1994-Abbildung 36). Gleichzeitig waren diese Bereiche durch einen steilen Eh-Gradienten gekennzeichnet. Dem Verlauf des Eh-Gradienten kommt offenbar eine besondere Bedeutung für die dissimilatorische Sulfatreduktion zu. Deshalb wurde schon im Ergebnis-Teil der Begriff „ δ_{Eh} “ eingeführt. Dieser bezeichnet die Differenz des Redoxpotentials innerhalb der jeweiligen beprobten Sediment-Horizonte. Starke Schwankungen der Sulfatreduktions-Raten bei relativ konstantem Redoxpotential (z.B. Hiddensee: 10.6.1992-Abbildung 25; „Alkor“-Station: 30.4.1993-Abbildung 40, 16.6.1994-Abbildung 43) lassen weiterhin annehmen, daß sie von anderen Steuergrößen beeinflusst wurden.

4.2.1.2 Eh als Steuergröße in Mikrokosmos-Experimenten

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Sulfatreduktions-Raten von Steuergrößen unter kontrollierten Laborbedingungen wurden Sediment-Suspensionen hergestellt und bei unterschiedlichen Redoxpotentialen gehältert (2.4.1). Für die Interpretation der Ergebnisse ist zu bedenken, daß die suboxischen im Gegensatz zu den oxischen und anoxischen Ansätzen einen Eh-Gradienten aufwiesen. Durch die geringe Dicke der Sedimentschicht (ca. 1,5 cm) konnten in diesen Fällen nur zwei Meßpunkte mit der verwendeten kommerziellen Eh-Sonde (2.6.1) erfaßt werden. An der Sedimentoberfläche wurden +50 mV und 0,5 cm über dem Kolben-Boden -150 mV gemessen.

Im Mikrokosmos-Experiment ohne zusätzlichen organischen Kohlenstoff lagen die Sulfatreduktions-Raten nach zwei Wochen Hälterung in den anoxischen Ansätzen am höchsten (3.4.1.1, Abbildung 48). Mit gleichem Proben-Material wurde das Experiment unter Zugabe von Glukose wiederholt. Hierbei wurden die höchsten Sulfatreduktions-Raten, ebenfalls nach zwei Wochen Hälterung, in den suboxischen Ansätzen festgestellt (3.4.1.3, Abbildung 51). Während nach weiteren sechs Wochen Hälterungsdauer die Sulfatreduktions-Raten in den suboxischen Ansätzen um das Zehnfache anstiegen, war eine Steigerung in den anoxischen Ansätzen nur halb so groß. Erstaunlicherweise wurde in allen oxischen Ansätzen (+250 mV) eine, wenn auch geringe, Aktivität der

dissimilatorischen Sulfatreduktion festgestellt (Sulfatreduktions-Raten von 20-40 nmol cm⁻³ d⁻¹).

Die unterschiedlichen Maxima der Sulfatreduktions-Raten bei gleichen Hälterungs-Bedingungen mit und ohne zusätzlichen organischen Kohlenstoff deuten darauf hin, daß die Kombination aus Redoxpotential und Konzentration organischen Kohlenstoffs einen entscheidenden Einfluß auf die Aktivität der dissimilatorischen Sulfatreduktion hat. Denn bei hohen Konzentrationen organischen Kohlenstoffs führte die Existenz eines steilen Eh-Gradienten, bei niedrigen Konzentrationen hingegen rein anoxische Verhältnisse zu vergleichsweise hohen Sulfatreduktions-Raten.

4.2.1.3 Eh als Steuergröße in Gel-stabilisierten Systemen

Um das Zusammenwirken von Redoxpotential und gelöstem organischen Kohlenstoff näher zu untersuchen, wurden Gel-stabilisierte (Agar-) Systeme eingesetzt (2.5), in denen sich durch die Zugabe von Na₂S ein Eh- und O₂-Gradient einstellte (3.4.2.1, Abbildung 53). Durch die vertikale Einbringung von Sediment-Material vom Gotland-Tief und vom Standort Hiddensee aus unterschiedlichen Sedimenttiefen sollte weiterhin geprüft werden, inwieweit natürliche Populationen von Sulfat-reduzierenden Bakterien an die jeweiligen Bedingungen angepaßt sind. Zur Stimulierung der mikrobiellen Aktivität wurde Cellulose auf die Agar-Oberfläche aufgetragen. Cellulose ist ein wichtiger Bestandteil partikulären organischen Kohlenstoffs in aquatischen Ökosystemen. Besonders in Salzmarschen und anderen eutrophen Küsten-Sedimenten spielt der Cellulose-Abbau eine erhebliche Rolle (Colberg, 1988) und eignet sich deshalb gut als Modell-Polymer für Phyto-Detritus. Die Spaltprodukte sollten allein durch Diffusion verteilt werden.

Hierbei ergaben sich eindeutige Trends: Sulfatreduktions-Raten der eingebrachten natürlichen Bakterienpopulationen lagen in den Agar-Horizonten am höchsten, die den natürlichen Redox-Bedingungen entsprachen (3.4.2.2, Abbildung 54). Agar-Systeme, die mit Oberflächen-Sediment der beiden Untersuchungsgebiete beimpft wurden, wiesen im Horizont mit ausgeprägtem Eh- und O₂-Gradient höhere Sulfatreduktions-Raten auf als im reduzierten, sulfidischen Horizont. Umgekehrt verhielt es sich mit Sediment-Material aus rein anoxischen Schichten. Dabei lagen die Sulfatreduktions-Raten der Bakterienpopulationen aus Oberflächen-Sedimenten im Vergleich zu Bakterienpopulationen aus rein anoxischen Sedimenten um ein Mehrfaches höher. Überraschenderweise zeigte sich dies auch im Falle des Sediments aus dem Gotland-Tief (vgl. dazu auch Sulfatreduktions-Raten des Gotland-Tiefs in Tabelle 10, 4.3.1). Von der unter einem vorwiegend anoxischen und sulfidischen Wasserkörper lebenden Population von Sulfatreduzierern sollte man annehmen, daß sie an diese Verhältnisse gut angepaßt sind und auf ein posi-

tives Redoxpotential mit der Einstellung der dissimilatorischen Sulfatreduktion reagieren. Hier könnte es sich um Sulfatreduzierer handeln, die an den eingebrachten Partikeln ein genügend niedriges Redoxpotential vorfanden, oder sich aus herabsedimentierenden Partikeln über widerstandsfähige Sporen rekrutierten (z.B. *Desulfotomaculum spp.*). Novitsky (1990) konnte zeigen, daß sich auf sedimentierenden Partikeln lebende Populationen kaum von der Sediment-Mikroflora unterscheiden. Er postulierte daher, daß die Bakterien auf herabsedimentierenden Partikeln den Grundstock für die Sediment-Mikroflora bilden.

Vergleicht man die Fettsäure-Konzentrationen der entsprechenden Agar-Systeme (3.4.2.3, Abbildung 55), kann von einer Limitierung der Sulfatreduktions-Raten durch geringe Mengen an organischem Kohlenstoff nicht die Rede sein. Die Konzentrationen in beiden Agar-Horizonten waren meistens vergleichbar. Hohe Fettsäure-Konzentrationen von bis zu 550 μM sprechen für eine hohe Aktivität Cellulose-spaltender Enzyme und für eine rasche Fermentation der produzierten Monomere zu Fettsäuren, die sich im Agar schnell verteilen.

Man kann daher von zwei unterschiedlichen Populationen Sulfat-reduzierender Bakterien ausgehen:

1. Copiotrophe Bakterien, die hohe Substrat-Konzentrationen gut nutzen können und gleichzeitig optimale Bedingungen dafür in der Existenz eines Eh-Gradienten finden.
2. An niedrige Konzentrationen organischen Kohlenstoffs angepaßte Bakterien mit niedrigen maximalen Sulfatreduktions-Raten, die optimale Bedingungen unter rein anoxischen Bedingungen finden.

4.2.1.4 Übertragung der Ergebnisse aus den Mikrokosmos-Experimenten auf die Freiland-Untersuchungen

Der im Mikrokosmos-Experiment beobachtete Zusammenhang zwischen steilem Eh-Gradienten, hohen Konzentrationen organischen Kohlenstoffs und hieraus resultierenden hohen Sulfatreduktions-Raten sollte auch im Freiland zu finden sein. Tatsächlich wurden die höchsten Sulfatreduktions-Raten in Sediment-Horizonten mit steilen Eh-Gradienten gemessen. Andererseits lagen die Konzentrationen niederkettiger Fettsäuren (als Maß für gut verfügbare Elektronen-Donatoren der Sulfat-reduzierenden Bakterien) im Porenwasser meistens in einem Bereich, der im Mikrokosmos-Experiment ohne Zusatz organischen Kohlenstoffs anzutreffen war (ca. 6 μM Gesamt-Konzentration; vgl. hierzu 3.2.1.3, 3.2.1.5, 3.2.2.3., 3.2.2.6 mit 3.4.1.1). In hypertrophierten Mikrokosmos-

Ansätzen waren die Konzentrationen niederkettiger Fettsäuren mindestens zehnmal so hoch (3.4.1.3, Abbildung 55).

Es wird daher angenommen, daß die im Porenwasser gemessenen *in-situ*-Konzentrationen von niederkettigen Fettsäuren nicht den alleinigen Pool an gut verfügbaren Elektronen-Donatoren für Sulfat-reduzierende Bakterien darstellen. Fettsäuren, die an Partikel gebunden sind oder die sich durch einen „kurzgeschlossenen“ Kreislauf in Bakterien-Aggregaten der Analyse des Porenwassers entziehen, könnten dabei eine wichtige Rolle spielen. Diese Annahme wird in der Diskussion über das Verhältnis von Turnover- und Sulfatreduktions-Raten in einem späteren Abschnitt unterstützt (4.3.5.4).

4.2.2 Einfluß der Sulfat-Konzentration auf Sulfatreduktions-Raten

In Reinkultur ist der Sulfatreduktions-Prozess bereits durch Sulfat-Konzentrationen über 1 mM gesättigt (Chambers & Trudinger, 1979). In marinen Sedimenten, in denen eine Abhängigkeit der Sulfatreduktions-Raten von Sulfat-Konzentrationen untersucht wurde, war Sulfat in Konzentrationen erst oberhalb eines Bereichs von 2 bis 4 mM nicht mehr limitierend (Goldhaber & Kaplan, 1980; Boudreau & Westrich, 1984). Im Bodensee lag dieser Sättigungswert schon bei 60 μM (Bak & Pfennig, 1991b). Dies verdeutlicht, daß die Sulfatreduzierer sich an die Sulfat-limitierten Bedingungen in limnischen Systemen gut angepaßt haben. In der vorliegenden Untersuchung sollte überprüft werden, inwieweit in den Sedimenten des Gotland-Tiefs und in Küstensedimenten der südwestlichen Ostsee eine Abhängigkeit der Sulfatreduktions-Raten von der Sulfat-Konzentration im Porenwasser besteht.

4.2.2.1 Sulfat-Konzentration als Steuergröße in Freiland-Untersuchungen

Ähnlich wie beim Redoxpotential war auch zwischen Sulfat-Konzentration und Sulfatreduktions-Raten für die Gesamtheit der untersuchten Sedimente kein einfacher Zusammenhang zu erkennen. So traten Maxima von Sulfatreduktionsraten in Sedimenthorizonten auf, wo Minima der SO_4^{2-} -Konzentration zu verzeichnen waren (Fährdorf: 3.2.1.4-Abbildung 22; Hiddensee: 3.2.2.1-Abbildung 25; Gotland-Tief: 3.2.3.1, Abbildung 40). Offensichtlich waren in diesen Fällen hohe Sulfatreduktionsraten für eine niedrige SO_4^{2-} -Konzentration verantwortlich.

Andererseits fielen Maxima der Sulfatreduktionsraten mit Maxima der SO_4^{2-} -Konzentration zusammen (Fährdorf: 3.2.1.1, 3.2.1.2-Abbildungen 14 und 16, Hiddensee: 3.2.2.3, 3.2.2.4, 3.2.2.7-Abbildungen 29, 31 bzw. 36). Hier lagen die Maxima der SO_4^{2-} -

Konzentration weit über dem aus der Literatur entnommenen Schwellenwert von 3 mM (Boudreau & Westrich, 1984) für Sulfat-reduzierende Bakterien. Eine Steigerung der Sulfatreduktionsraten in einem bestimmten Sedimenthorizont wurde deshalb zunächst nicht auf einen Anstieg der Sulfat-Konzentration, sondern eher auf andere Einflußgrößen zurückgeführt, wie z.B. Redoxpotential-Differenz und Konzentration organischen Kohlenstoffs (s.o.). In Mikrokosmos-Experimenten konnte jedoch gezeigt werden, daß dieser Zusammenhang durchaus bestehen kann (s. nächster Abschnitt).

4.2.2.2 Sulfat-Konzentration und Salinität als Steuergrößen in Mikrokosmos-Experimenten

Eine Steigerung der SO_4^{2-} -Konzentration hatte einen signifikanten Anstieg der Sulfatreduktions-Raten zur Folge (3.4.1.2, Abbildung 50). Offensichtlich ist der Sulfat-Schwellenwert im untersuchten Sediment, der keine Steigerung der Sulfatreduktionsraten mehr zuläßt, höher als der bisher in der Literatur beschriebene (3 mM; Boudreau & Westrich, 1984).

Da keine Sulfat-Kinetik bestimmt wurde, d.h. keine abgestuften Sulfat-Konzentrationen eingesetzt wurden, ist die Berechnung eines „Schwellenwerts“ für das untersuchte Sediment nicht möglich. Dieser Wert muß aber zwischen 11,3 mM (der mittleren Konzentration in den Kontrollen ohne zusätzliches Sulfat) und 52 mM (Konzentration nach Zugabe von Na_2SO_4) liegen. Daraus läßt sich jedoch nicht folgern, daß die Sulfat-reduzierenden Bakterien eine entsprechend hohe maximale Sulfat-Umsatzrate haben, denn es ist unwahrscheinlich, daß im untersuchten Sediment dieser Sättigungswert wesentlich höher liegt als in gut wachsenden Reinkulturen (1 mM, s.o.). Deshalb deutet ein sehr hoher Sättigungswert eher auf eine verminderte Verfügbarkeit von Sulfat am Ort der Umsetzung (z.B. Bakterien-Aggregate) hin (Koch, 1990). Durch eine Konzentrations-Erhöhung im Porenwasser könnte der Sulfat-Flux in die Aggregate oder Partikel vergrößert werden (Fick'sches Diffusionsgesetz) und die Sulfat-Verfügbarkeit für Bakterien in inneren Aggregat-Schichten erhöhen.

Marine Sulfat-reduzierende Bakterien transportieren Na^+ -Ionen zum Ausgleich der negativen Ladung der Sulfat-Ionen in die Zelle (im Gegensatz zu Süßwasser-Stämmen, die Protonen symportieren; Warthmann & Cypionka, 1990; Stahlmann *et al.*, 1991). Durch die Wahl des zugegebenen Sulfat-Salzes (Na_2SO_4) wird auch die Na^+ -Konzentration proportional angehoben (3.4.1.2, Abbildung 50). Daher dürfte vor allem die Aktivität mariner Stämme stimuliert worden sein.

Die Zugabe von NaCl hemmte die dissimilatorische Sulfatreduktion um 40% während einer Kurzzeit-Inkubation von wenigen Stunden und um 55% nach zwei Wochen Hälte-

rung (3.4.1.2, Abbildung 50). Sediment-Suspensionen mit NaCl/Na₂SO₄-Zugabe nach Kurzzeit-Inkubation zeigten eine Hemmung von nur 25% im Vergleich zu Sediment-Suspensionen mit Na₂SO₄. Die Stimulation durch Na₂SO₄ überwog also. Weiterhin bedeutet dies, daß die durch NaCl gehemmten Sulfatreduzierer den Sulfat-Überschuß nicht so zu nutzen vermochten wie die nicht gehemmten. Nach zwei Wochen wurde in NaCl/Na₂SO₄-Ansätzen nur noch die Hemmwirkung von NaCl beobachtet (55%), wie ein Vergleich der Sulfatreduktions-Raten in Ansätzen mit NaCl und NaCl/Na₂SO₄ zeigt.

Süßwasser-Stämme Sulfat-reduzierender Bakterien werden durch marine NaCl-Konzentrationen gehemmt (Widdel & Pfennig, 1981a). Marine Stämme hingegen können sich an einen geringeren Salzgehalt anpassen (Widdel & Pfennig, 1981b). Die Teilhemmung der Sulfatreduktions-Raten durch NaCl deutet darauf hin, daß im verwendeten Sediment sowohl marine Sulfatreduzierer als auch Süßwasser-Arten vertreten sind.

4.2.3 Einfluß von Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen auf Sulfatreduktions-Raten

Wegen des hohen Protein-Anteils in Plankton und Detritus von ca. 50 % (Hollibaugh & Azam, 1983) sind Aminosäuren ein wichtiger Bestandteil der organischen Substanz in marinen Sedimenten. Aminosäuren können zwar von einigen Sulfat-reduzierenden Bakterien als Kohlenstoff-Quelle genutzt werden (Stams *et al.*, 1985). In marinen Sedimenten fungieren Aminosäuren aber hauptsächlich als Fermentationssubstrate und damit als quantitativ herausragende Vorstufen niederkettiger Fettsäuren (Burdige, 1991).

Niederkettige Fettsäuren stellen die wichtigste Kohlenstoff-Quelle für Sulfat-reduzierende Bakterien in marinen Sedimenten dar (Skyring, 1987). Obwohl in letzter Zeit die große Spannweite der potentiellen Elektronen-Donatoren für Sulfatreduzierer in Kulturen und marinen Sedimenten erkannt wurde (Widdel, 1988; Parkes *et al.*, 1989), kommt Acetat eine herausragende Bedeutung zu (Fenchel & Blackburn, 1979; Skyring, 1988; Parkes *et al.*, 1993; Hines *et al.*, 1994). In einigen Sedimenten stellt es gar das einzige Fermentationsprodukt (aus Glukose) dar (Sawyer & King, 1993). Schwierigkeiten bei der Messung und bei der Einschätzung der biologischen Verfügbarkeit haben bislang nur zu einer groben Vorstellung von den Turnoverraten von Acetat geführt (Sansone & Martens, 1981; Christensen & Blackburn, 1982; Parkes *et al.*, 1984; Wang & Lee, 1993). In der vorliegenden Studie wurde daher versucht, aus der Untersuchung der potentiellen Steuergrößen mehr über die Mineralisierungs-Mechanismen von Acetat und anderen Kohlenstoff-Quellen in marinen Sedimenten zu erfahren.

In einigen Porenwasser-Proben des Standorts Hiddensee wurden bei der Aminosäure-Bestimmung mit HPLC bis zu 33 chromatographisch trennbare Komponenten registriert. Hiervon wurden 16 identifiziert. Ein Vergleich mit den in der Literatur beschriebenen Retentionszeiten (Bidlingmeyer *et al.*, 1984; Fürst *et al.*, 1990) deutet aber darauf hin, daß es sich bei den nicht identifizierten „Peaks“ sowohl um andere primäre und sekundäre Aminosäuren als auch um Derivate, wie acetylierte Aminosäuren, und Dipeptide handeln könnte. Die Höhe vieler nicht identifizierter „Peaks“ läßt auf nicht unerhebliche Konzentrationen schließen. Die Gesamt-Konzentration von Aminosäuren in solchen Proben könnte damit um ein Mehrfaches höher liegen als die Summe der identifizierten Aminosäuren.

Auch konnten nicht alle registrierten „Peaks“ bei der Fettsäure-Analyse identifiziert werden. Hierbei handelte es sich hauptsächlich um spät eluierende, möglicherweise um verzweigte und länger-kettige Verbindungen, deren Detektionssignale sich meist proportional zu denen der identifizierten Fettsäuren verhielten. Obwohl auch Verbindungen mit längerem oder verzweigtem Kohlenstoff-Gerüst von Sulfatreduzieren als Elektronen-Donatoren genutzt werden können (Mountfort & Bryant, 1982; Aeckersberg, 1991), spielen sie in marinen Sedimenten nur eine untergeordnete Rolle (Widdel, 1988).

4.2.3.1 Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen als Steuergrößen in Freiland-Untersuchungen

1. Gesamt-Konzentration freier Aminosäuren:

Die Gesamt-Konzentration freier Aminosäuren im Porenwasser der untersuchten Sedimente konnte zwischen unterschiedlichen Probennahmen, aber auch im Vertikalprofil derselben Probennahme stark schwanken (1-180 μM , Abbildung 34). Die Verteilung der Gesamt-Konzentration freier Aminosäuren über die Sedimentsäule war meistens, ähnlich wie die Sulfatreduktionsraten, von distinkten Maxima geprägt.

Die höchsten Aminosäure-Konzentrationen beim Hiddensee-Sediment kamen häufig im obersten Sediment-Horizont (0-1 cm) vor. Am Standort Fährdorf traten Konzentrationsmaxima von Aminosäuren hauptsächlich in 3-7 cm Sedimenttiefe auf und nur selten an der Sedimentoberfläche. Relativ hohe Aminosäure-Konzentrationen in einer Sedimenttiefe von fast einem Meter im Gotland-Tief (3.2.3.2, Abbildung 44) vermitteln nicht den Eindruck, daß in dieser Tiefe leicht verfügbare und oxidierbare organische Substanz limitierend ist.

In einigen Fällen beobachtete gegenläufige Verteilungsmuster hoher Sulfatreduktions-Raten und niedriger Aminosäuren-Konzentrationen im Vertikalprofil beider Proben-

nahme-Standorte sprechen für einen raschen Turnover dieses organischen C-Pools in sulfidischen Sedimenten (Fährdorf: 3.2.1.1, 3.2.1.4-Abbildungen 15 und 21; Hiddensee: 3.2.2.1, 3.2.2.7-Abbildungen 26 und 37; Gotland-Tief: 3.2.3.2, Abbildung 44). In anderen Fällen gingen hohe Aminosäure-Konzentrationen mit hohen Sulfatreduktions-Raten einher (Fährdorf: 3.2.1.2, 3.2.1.5-Abbildungen 17 und 24; Hiddensee: 3.2.2.4-Abbildung 32). Dieses Aminosäure-Maximum fiel mit einer gesteigerten Aktivität der dissimilatorischen Sulfatreduktion zusammen.

2. Niederkettige Fettsäuren:

Die Fettsäure-Konzentrationen bewegten sich in der gleichen Größenordnung wie die der Aminosäuren. Im Vertikalprofil folgten Fettsäure- und Aminosäure-Konzentrationen gegenüber den Sulfatreduktions-Raten ähnlichen Trends: In einigen Fällen waren sie gegenläufig, in anderen verliefen sie parallel. Das spiegelt das grundsätzliche Problem wider, dynamische Prozesse sich wechselseitig beeinflussender Größen im Freiland zu erkennen und zu deuten (siehe auch 4.2.2.1: Sulfat als Einflußgröße).

3. Fettsäure- und Aminosäure-Zusammensetzung:

Als ubiquitäre Aminosäuren erwiesen sich Serin, Glycin, Alanin, Prolin, Valin und Leucin. In den meisten Fällen stach keine Aminosäure besonders hervor. Eine besonders hohe Arginin-Konzentration wurde am 3.11.1993 im Sediment-Horizont von 0-1 cm registriert (3.2.2.6, Abbildung 34). Es wird vermutet, daß ein Zusammenhang mit einer zu diesem Zeitpunkt gut entwickelten Cyanobakterien-Matte besteht, die Ort einer gesteigerten proteolytischen Aktivität von extrazellulären Enzymen in Bakterien Schleimen darstellen könnte (Decho, 1990).

Acetat, Propionat und Succinat waren die wichtigsten Fettsäuren. Die Dominanz von Succinat während vieler Probenahmen könnte auf die Gärung durch Prokaryonten (z.B. *Clostridium spp.*) wie auch auf die Gärung durch Metazoen (z.B. Bivalvia; Bussmann & Reichardt, 1991) zurückzuführen sein.

Ein Rückschluß auf die anaeroben Abbauege oder auf die Art der stattgefundenen Fermentation (d.h. welche Aminosäure zu welcher Fettsäure umgesetzt wurde) ist allein anhand der Verteilungsmuster von Aminosäuren und Fettsäuren nicht möglich. In einigen Fällen jedoch läßt sich durch gegenläufige Verteilungsmuster ein Zusammenhang zwischen bestimmten Aminosäure-Fettsäure-Paaren herstellen. Am 24.4.1993 am Standort Fährdorf zum Beispiel nahm von 2-6 cm die Konzentration von Leucin im gleichen Maße ab, wie die Konzentration von Acetat zunahm. Die Transformation von Koh-

lenhydraten über Leucin und Acetat konnte auch in Sediment-Suspensionen, die mit Glukose hypertrophiert wurden, festgestellt werden.

4.2.3.2 Aminosäure- und Fettsäure-Konzentration als Steuergröße in Mikrokosmos-Experimenten

Die Mikrokosmos-Experimente (3.4.1.1 und 3.4.1.3) mit und ohne Zugabe von Glukose fanden unter den gleichen Bedingungen statt. Eine mehrfache Steigerung der Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen in den hypertrophierten Ansätzen kann daher eindeutig auf die Glukose-Zugabe zurückgeführt werden. Selbst in eutrophen natürlichen Lebensräumen ist es unwahrscheinlich, daß die zugegebene Menge von Glukose (5 mM) vorkommt. Doch lassen sich so Präferenzen für bestimmte Abbauege deutlicher aufzeigen. Die Spaltung von Biopolymeren und die Produktion von Kohlenhydraten in marinen Sedimenten wird durch extrazelluläre Enzyme bewerkstelligt (Reichardt, 1986; Meyer-Reil, 1987) und unterliegt quantitativen und qualitativen Regulations-Mechanismen, die oft durch eine negative Rückkopplung gekennzeichnet sind (Overbeck & Sako, 1988).

1. Freie Aminosäuren:

Die Hypertrophierung von Sediment-Suspensionen mit Glukose hatte eine Freisetzung charakteristischer Aminosäuren und Fettsäuren zur Folge (3.4.1.3, Abbildung 52). Leucin hatte mit 90% einen hohen Anteil an der Aminosäure-Gesamt-Konzentration in allen Mikrokosmen. Leucin gehört neben Alanin und Valin zur sogenannten „Pyruvat-Familie“. Diese Aminosäuren werden über die Glykolyse, den Pentose-Phosphat-Weg und den Zitronensäure-Zyklus über Pyruvat synthetisiert und empfangen ihre Amino-gruppe aus der Transaminierung von Alanin oder Glutamin bzw. Glutamat, die an der primären Ammonium-Assimilation beteiligt sind. In eutrophierten Sedimenten gelten Alanin und Glutamin als einer der Schlüsselstellen im Stickstoff- und Kohlenstoff-Kreislauf (Burdige, 1991; Carlucci *et al.*, 1991). Alanin war jedoch nur in sehr geringen Konzentrationen vorhanden. Offensichtlich werden nicht assimilierte Aminosäuren im untersuchten Sediment fast ausschließlich über Glutamin zu Leucin umgebaut und ausgeschieden. Im Vergleich zu Mikrokosmen, denen keine Glukose zugegeben wurde (3.4.1.1, Abbildung 49), fielen die Konzentrations-Steigerungen der anderen Aminosäuren sehr gering aus.

Ein Nachweis von Glutamin mit der HPLC-Methode als Vorstufe dieses Schlüsselweges war allerdings nicht möglich, da kommerziell erwerbbares Glutamin bzw. Glutamat („reinst“) verschiedener Firmen in hohem Grad mit anderen Aminosäuren kontaminiert und somit eine eindeutige Identifizierung ausgeschlossen war.

Die Leucin-Konzentrationen in oxischen Sediment-Suspensionen und Sediment-Suspensionen mit Eh-Gradient (suboxisch) waren signifikant niedriger ($p=0.05$; 3.4.1.3, in Abbildung 52 sind der Übersicht halber die Standard-Abweichungen nicht aufgeführt) als in rein anoxischen Ansätzen, lagen aber im gleichen Konzentrationsbereich vor (310 bis 380 μM). Andere Aminosäuren kamen nur in Konzentrationen bis 4 μM vor. Die Aminosäure-Konzentration konnte daher nicht allein für die unterschiedlichen Sulfatreduktions-Raten verantwortlich sein.

2. Niederkettige Fettsäuren:

Im Vergleich zu Sediment-Mikrokosmen ohne Glukose-Zugabe (3.4.1.1, Abbildung 49) lag die Gesamt-Fettsäure-Konzentration im anoxischen Ansatz mit 170 μM 25mal und in suboxischen Ansätzen mit 113 μM 19mal höher. Man kann also auch bei den Fettsäure-Konzentrationen nicht von einer direkten Steuerung der dissimilatorischen Sulfatreduktion sprechen, da die höchsten Sulfatreduktions-Raten in suboxischen Ansätzen gemessen wurden. Im Gegensatz zu oxischen Ansätzen ohne Glukose-Zugabe konnten in Ansätzen mit Glukose-Zugabe Fettsäuren nachgewiesen werden (30 μM). Eine Fermentation fand also auch unter rigoroser Luftzufuhr statt.

4.2.3.3 Hinweise auf bestimmte Abbauwege und eine enge Kopplung von Fermentation und dissimilatorischer Sulfatreduktion

Betrachtet man die Aminosäuren als wichtigste Vorstufe für die Haupt-Kohlenstoff-Quelle der Sulfatreduzierer in marinen Sedimenten, den niederkettigen Fettsäuren (s.o.), lassen sich aus dem Verhältnis zwischen Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen einerseits und dem Verhältnis von Sulfatreduktions-Raten und Konzentrationen der beiden Stoffgruppen andererseits Aussagen über die Wechselwirkungen zwischen Fermentation und dissimilatorischer Sulfatreduktion herleiten. Die Probennahmen vom 3.11.1993 (3.2.2.6) und 19.5.1994 (3.2.2.7) am Standort Hiddensee sollen zur Veranschaulichung zweier unterschiedlicher Zustände der anaeroben Abbauprozesse dienen:

Im November 1993 war in einer Sedimenttiefe von 0 bis 1 cm mit 180 μM eine sehr hohe Aminosäure-Konzentration zu verzeichnen. Dieser stand mit 10 μM eine relativ geringe Fettsäure-Konzentration gegenüber. Mit 400 $\text{nmol cm}^{-3} \text{d}^{-1}$ lag die Sulfatreduktions-Rate in diesem Horizont zwar unter dem Maximum in 3-4 cm Tiefe, doch kann man wegen des oxidierten Milieus (s. Eh in diesem Horizont) und der Reoxidation von Sulfid von einer Unterschätzung ausgehen. Intensive proteolytische Prozesse oder Leaching mag hier zu einem Überschuß von Fermentations-Substraten geführt haben. Relativ hohe

Sulfatreduktions-Raten bei positivem Redoxpotential deuten an, daß unter diesen Bedingungen auch Fermentation stattgefunden haben muß. Während also die Fermentations-Aktivität und damit die Fettsäure-Freisetzung als sehr hoch anzunehmen ist, deuten die niedrigen Fettsäure-Konzentrationen auf einen raschen Turnover dieser Stoffgruppe durch die dissimilatorische Sulfatreduktion hin.

Eine andere Situation herrschte im Sediment-Horizont von 2-7 cm im Mai 1994 vor. Relativ niedrige Aminosäuren-Konzentrationen (10-19 μM) im Vergleich zu sehr hohen Fettsäure-Konzentrationen deuten auf einen raschen Turnover von Aminosäuren durch Fermentation hin. Die Akkumulation von Fettsäuren ist wahrscheinlich eine Folge starker Fermentations-Aktivität und niedriger anaerober Respirationsraten (z.B. Sulfatreduktions-Raten).

In der Regel lagen Aminosäuren und Fettsäuren im gleichen Konzentrationsbereich vor. Es ist vorstellbar, daß dieser „Normalfall“ einen Gleichgewichtszustand zwischen Fermentation und dissimilatorischer Sulfatreduktion darstellt, der in den oben aufgeführten Beispielen durch bestimmte Ereignisse und Randbedingungen, z.B. die Sedimentation einer Planktonblüte oder hohe Photosynthese-Aktivität an der Sedimentoberfläche gestört wurde (s. auch 4.3.2, „Saisonale Aspekte“).

Auffällig war die enorme Anreicherung von Propionat in anoxischen, mit Glukose hypertrophierten Sediment-Suspensionen (3.4.1.3, Abbildung 52). Propionat kann von vielen fermentierenden Bakterien gebildet werden; die wichtigsten sind Propionsäure-Bakterien und Clostridien. Im Gegensatz zu Propionsäure-Bakterien spielen Clostridien in vielen aquatischen Lebensräumen bei der anaeroben Fermentation eine wichtige Rolle (Schlegel, 1985). Von ihnen ist bekannt, daß sie insbesondere Threonin effektiv zu Propionsäure fermentieren (Elsden & Hilton, 1978). Die zehnfache Anreicherung von Threonin unter anoxischen Bedingungen im Vergleich zu oxischen und suboxischen spricht für eine wichtige Rolle dieses Fermentationswegs in reduzierten Sedimenten.

Die Acetat- und Butyrat-Konzentrationen in Ansätzen mit Eh-Gradient und mit rein anoxischen Bedingungen hatten nahezu identische Konzentrationen und das gleiche Verhältnis zueinander, was auf ähnliche Abbauewege schließen läßt. Acetat und Butyrat werden neben der Fermentation von Leucin (z.B. durch *Clostridium sporogenes*) in anaerobem Milieu hauptsächlich aus Glutamin gebildet (Barker, 1981). Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, daß Glutamin ein wichtiges Zwischenprodukt beim Abbau organischen Kohlenstoffs in marinen Sedimenten ist (vgl. dazu „Freie Aminosäuren“ in 4.3.3.2). Bei der Fermentation werden Acetat, Butyrat, Ammonium, Kohlendioxid und Wasserstoff zu gleichen Teilen produziert. Die geringeren Acetat-Konzentrationen deuteten dann auf eine stärkere Acetat-Mineralisierung in suboxischen und anoxischen Ansätzen hin.

Zusammenfassend läßt sich über den Einfluß potentieller Steuergrößen auf die Sulfatreduktions-Raten in den untersuchten Sedimenten sagen (4.2). daß

- die Variabilität der Sulfatreduktions-Raten in Sedimenten mit steilen Eh-Gradienten am höchsten war,
- die Sulfatreduktions-Raten, unabhängig vom Sulfat-Gehalt, in Sedimenten mit steilen Eh-Gradienten (und einer hohen Konzentration organischen Kohlenstoffs in Mikrokosmos-Experimenten) am höchsten waren (bis zu $1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$),
- in Sedimenten mit einem Redoxpotential unter -100 mV , unabhängig von der Sulfat-Konzentration und der Konzentration organischen Kohlenstoffs im Porenwasser, die Sulfatreduktions-Raten einen Wert von $410 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ nie überschritten (mit Ausnahme eines einzigen Meßpunktes im Gotland-Tief, s. 3.2.3.1),
- im Kurzzeit-Experiment mit anoxischen Sediment-Suspensionen eine fünffache Erhöhung der Sulfat-Konzentration, die ohnehin viermal über dem in der Literatur beschriebenen „Schwellenwert“ für marine Sedimente lag, zu einer signifikanten Steigerung der Sulfatreduktions-Raten führte,
- eine Erhöhung der Salinität sowohl im Kurzzeit- als auch im Langzeit-Experiment eine Teilhemmung der Sulfatreduktions-Raten induzierte,
- Leucin das wichtigste Zwischenprodukt beim Abbau von Glukose unter allen Redox-Bedingungen war,
- Threonin und Propionat unter rein anoxischen Bedingungen sich im Vergleich zu oxischen und suboxischen Bedingungen stark anreicherten.

Schlußfolgerungen (4.2.):

1. In allen untersuchten Sedimenten existieren zwei Populationen Sulfat-reduzierender Bakterien, die sich hinsichtlich ihrer Ansprüche an Konzentrationen verfügbaren organischen Kohlenstoffs und an Redox-Bedingungen unterscheiden. Die im Oberflächen-Sediment lebende Population wird durch die Existenz eines steilen Eh-Gradienten begünstigt und reagiert auf die Zufuhr organischen Kohlenstoffs mit wesentlich höheren Sulfatreduktions-Raten als die zweite Population. Diese kann geringe Konzentrationen an organischem Kohlenstoff hervor-

ragend unter rein anoxischen Bedingungen nutzen, ist aber physiologisch weniger flexibel.

2. Das Gros der Sulfat-reduzierenden Bakterien greift auf einen Pool von Elektronenakzeptoren und -donatoren zurück, der nicht denen im Porenwasser entspricht. Für den Ort eines „alternativen“ Pools kommt nur der Ort der Umsetzung selber in Betracht, nämlich Aggregate und Partikel.
3. In den untersuchten Sedimenten sind sowohl Süßwasser- als auch marine Arten Sulfat-reduzierender Bakterien vertreten. Marine Sulfat-reduzierende Bakterien können einen Überschuß an Sulfat besser nutzen.
4. Glukose wird am Standort Fährdorf (wahrscheinlich über Glutamin) hauptsächlich zu Leucin transformiert. Das Potential für die gleichzeitig stattfindende Ammonium-Assimilation muß dabei sehr hoch sein. Diese Transformation kann daher als Schlüsselstelle im Stickstoff- und Kohlenstoff-Kreislauf angesehen werden.
5. In reduzierten Sediment-Horizonten oder in permanent anoxischen Sedimenten spielt die Fermentation von Threonin zu Propionat wahrscheinlich eine wichtige Rolle.

4.3 ROLLE DER DISSIMILATORISCHEN SULFATREDUKTION IM SCHWEFEL- UND KOHLENSTOFF-KREISLAUF DER OSTSEE-SEDIMENTE

4.3.1 Sulfatreduktions-Raten der untersuchten Standorte im globalen Vergleich und Standort-spezifische Beobachtungen

Die dissimilatorische Sulfatreduktion ist hauptverantwortlich für die Deposition von reduzierten Schwefelverbindungen in marinen Sedimenten (Volkov & Rosanov, 1983). Im globalen Schwefelkreislauf kommt ihr zwar nicht so eine hohe Bedeutung zu wie der assimilatorischen Sulfatreduktion (Widdel, 1988), in Küsten-Sedimenten und auf den Kontinental-Schelfen nimmt sie aber eine herausragende Stellung im Schwefel- und Kohlenstoff-Kreislauf (Skyring, 1987) sowie im Metallhaushalt (Thamdrup *et al.*, 1994) ein. Die höchsten Aktivitäten der dissimilatorischen Sulfatreduktion findet man in Biofilmen und Cyanobakterien-Matten (bis $2000 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$, Tabelle 10), gefolgt von Salzmarschen, Ästuaren, Buchten und Nebenmeeren, wie der Ostsee. In Sedimenten des offenen Ozeans liegen die Sulfatreduktions-Raten um einen Faktor von 100-1000 niedriger. Damit scheint die Intensität des Abbaus organischen Kohlenstoffs durch die dissimilatorische Sulfatreduktion dem Trophie-Grad mariner Ökosysteme zu folgen.

Die in den Sedimenten der Standorte Fährdorf und Hiddensee gemessenen Sulfatreduktions-Raten sind vergleichbar mit denen anderer Salzmarsch- und Ästuar-Sedimente. Die Sulfatreduktions-Raten vom 19.5.1994 am Standort Hiddensee gehören zu den höchsten, die in vergleichbaren Lebensräumen gemessen wurden. Sie erreichen im Oberflächen-Sediment eine Größenordnung, die von Cyanobakterien-Matten und Biofilmen bekannt ist (Tabelle 10, s. auch Jørgensen & Cohen, 1977; Kühl & Jørgensen, 1992). Man kann daher behaupten, daß die dissimilatorische Sulfatreduktion beim Abbau organischen Kohlenstoffs in den Bodden-Sedimenten eine herausragende Stellung einnimmt.

Sulfatreduktions-Raten-Bestimmungen im Gotland-Tief (bei Anoxie des Bodenwassers) sind nur von Lein *et al.* (1982) bekannt (Tabelle 10). Mit diesen sollen die eigenen Werte im folgenden verglichen werden. Trotz der oxischen Verhältnisse im Bodenwasser des Gotland-Tiefs seit Anfang 1993 liegen die in eigenen Messungen bestimmten Sulfatreduktions-Raten bis zu 50mal höher als in der Vergleichs-Untersuchung, während der anoxische Verhältnisse vorherrschten. Die Population Sulfat-reduzierender Bakterien im Oberflächensediment des Gotland-Tiefs scheint demnach durch die Oxidierung des Bodenwassers nicht in ihrer Mineralisierungs-Leistung beeinträchtigt worden zu sein.

Ort	Ökosystem/ Sedimenttyp	Jahreszeit (°C)	Sed.-tiefe [cm]	SRR [nmol cm ⁻³ d ⁻¹]	SRR [mmol m ⁻² d ⁻¹] ^c	Referenz
Gr. Sippiwisset, USA	<i>Spartina</i> , Salzmarsch	Sommer (25)	0-10	1070	107	Howarth & Merkel (1984) ^a
Gr. Sippiwisset, USA	<i>Spartina</i> , Salzmarsch	Herbst	4-6	339		Hines <i>et al.</i> (1994)
Sapelo Island, USA	<i>Spartina</i> , Salzmarsch	Frühling	0-12	1123	112	King (1983) ^a
	<i>Spartina</i> , Salzmarsch	Winter	0-14	1257	126	
Great Marsh	Salzmarsch	Jahresmittel (13)	0-2	130	26	Lord & Church (1983) ^a
Limfjord, DK	geschlossener Fjord	Sommer (25)	0-10	50-400	15	Jørgensen (1977b) ^a
	geschlossener Fjord	Winter (5)	0-10	10-15	2,5	Thode-Andersen & Jørgensen (1989)
Aarhus Bucht, DK	Schlick	Frühling (4)	0-15	18-70		ebenda
Kysingfjord, DK	feiner Sand	Frühling (10)	0-15	40-350		ebenda
Kalølagune, DK	Sulfuretum	Sommer (18)	0-15	150-1200		ebenda
Lendruplagune, DK	Silt, Makroalgen	Sommer (19)	0-15	80-585		ebenda
Kattegat, DK	feiner Sand	Frühling (5,5)	0-10	5-19		Jørgensen & Bak (1991)
Solar Lake, Ägypten	Hypersaliner See, Cyanobakterienmatte	(20)	1-10 mm	200-2000	14	Fründ & Cohen (1992)
Atlantik	Kontinentalhang		0-5	0,1-2,2	0,055	Battersby <i>et al.</i> , 1985
			5-10	0,4	0,020	
Ostsee, Gotland-Tief	Schlick, 240m Tiefe		0-5	1 ^b	0,05	Lein <i>et al.</i> (1982)
			25-40	32 ^b	4,8	
Ostsee, Gotland-Tief, „Alkor“-Station	240m Tiefe, „Fluff“	(4)	0-5	7-50	0,63	<i>vorliegende Untersuchung</i>
	„Fluff“/Schlick		5-10	15-1150	2,64	
	Schlick		10-85	0,5-20	0,57	
„Helcom“-Station	220m Tiefe, Schlick	(4)	0-30	4-30	0,03	
Hiddensee	Bodden, Sulfuretum	Jahresverlauf	0-1	90-1800	0,9-18	
			1-5	15-700	12,25	
			5-10	5-410	7,5	
Fährdorf	Salzhaff	Jahresverlauf	0-1	20-320	0,2-3,2	
			1-5	15-770	12,35	
			5-10	1-500	6,3	

Tabelle 10: Sulfatreduktions-Raten der untersuchten Standorte im globalen Vergleich. SRR: Sulfatreduktionsraten; ^a aus Skyring (1987);

^bumgerechnet von $\mu\text{g S kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, eine Dichte von 1,2 vorausgesetzt; ^c über die Sedimenttiefe integrierte SRR

Experimente mit Agar-Systemen bestätigen, daß die in den obersten fünf Zentimetern lebenden Sulfatreduzierer mit suboxischen Verhältnissen gut zurecht kommen (3.4.2.2, Abbildung 54). Der Sediment-Horizont von 5-10 cm, der von Lein *et al.* (1982) nicht beprobt wurde, hatte sich an der „Alkor“-Station (240 m Wassertiefe) als Zone maximaler Sulfatreduktions-Raten und H₂S-Konzentrationen erwiesen (3.2.3.1 und 3.2.3.2, Abbildungen 40 bzw. 43). Auch von der jüngsten Ausfahrt zur „Alkor“-Station (Anfang Mai 1995) wurde bei oxischem Bodenwasser wieder ein distinktes Maximum der H₂S-Konzentration in diesem Horizont berichtet (Dr. R. Schmaljohann, IfM, Kiel). Diese Sedimentschicht kann bei den hydrographischen Verhältnissen, wie sie nach einem Salzwasser-Einschub über der Sedimentoberfläche des Gotland-Tiefs zu beobachten sind (s. 3.2.3.1 und 3.2.3.2), als eine „Aktivitätszone“ der dissimilatorischen Sulfatreduktion bezeichnet werden. An der nur zwei Seemeilen entfernten „Helcom“-Station (220m) ist diese „Aktivitätszone“ nicht beobachtet worden. Die Heterogenität der mikrobiellen Aktivität im Gotland-Tief könnte daher Ausdruck der unterschiedlichen organischen Gehalte in den Rinnen („Alkor“-Station) und Hügeln („Helcom“-Station) des Meeresbodens sein (Niemistö & Voipio, 1974). Die Rinnen können im wahrsten Sinne des Wortes als Kohlenstoff-Senken bezeichnet werden, in denen sich aus der Wassersäule und von den Hügeln herabsedimentierendes Plankton sammelt und zu relativ hohen Sulfatreduktions-Raten führt. Oxische Verhältnisse haben möglicherweise zu einer erhöhten hydrolytischen Aktivität extrazellulärer Enzyme geführt, die unter sulfidischen Bedingungen gehemmt sind (Reichardt, 1986). Die Diffusion der Spaltprodukte könnte dann in der Schicht von 5-10 cm zu einem Maximum von Sulfatreduktions-Raten geführt haben.

4.3.2 Saisonale Aspekte und Einfluß der Temperatur

Trotz der relativ großen Zeitintervalle zwischen den einzelnen Proben-Entnahmen sind doch saisonale Trends zu erkennen. So wurden die höchsten Sulfatreduktions-Raten der Standorte Fährdorf und Hiddensee im Frühjahr bei Wassertemperaturen zwischen 13 und 15 °C beobachtet (3.2.1.4, 3.2.1.5-Abbildungen 22 und 23 bzw. 3.2.2.4, 3.2.2.7-Abbildungen 31 und 36). Während einer Probennahme (3.2.2.5) konnten zwar im Frühsommer bei 13,5 °C Wassertemperatur ebenfalls relativ hohe Sulfatreduktions-Raten gemessen werden, die etwa viermal höher waren als bei 3,8 °C am gleichen Standort, doch führte in den anderen Fällen eine höhere Temperatur nicht zu höheren Raten. Auch eine Sedimenttemperatur von 24°C und 30 °C unmittelbar unter der Sedimentoberfläche (3.2.2.1 bzw. 3.2.2.2-Abbildungen 25 und 27) hatte keinen stimulierenden Einfluß auf die Sulfatreduktion.

Über die Temperatur-Optima von Sulfatreduzierern weiß man noch sehr wenig. Viele weisen ein Temperatur-Optimum zwischen 30 und 37 °C auf (Widdel, 1988). Andererseits beobachtete Jørgensen (1977b) eine Differenzierung von Winter- und Sommerpopulationen, die auf die Existenz psychrophiler oder psychrotropher Sulfatreduzierer hinweisen. Auch maximale Sulfatreduktions-Raten in den untersuchten Küsten-Sedimenten zwischen 13 und 15 °C (s.o.) könnten auf Kälte-adaptierte Sulfatreduzierer deuten. In anderen Untersuchungen beobachtete proportionale Beziehungen zwischen Temperatur und Sulfatreduktions-Raten in marinen Sedimenten ($Q_{10} = 2.0$ bis 3,5; Abdollahi & Nedwell 1979; Widdel, 1988) können hier nicht festgestellt werden. Allerdings reichen die Freiland-Beobachtungen nicht aus, um die Temperatur-Charakteristika der Sulfat-reduzierenden Bakterien in den untersuchten Sedimenten ausreichend zu beschreiben. Denn offensichtlich spielen andere potentielle Steuergrößen (z.B. Eh und gelöste organische Verbindungen, s. 4.2) an den Küsten-Standorten eine größere Rolle, die durch jahreszeitlich abhängige Ereignisse induziert werden. Hierzu können vor allem der beobachtete Larvenfall benthischer Makrofauna (Fährdorf, s. auch nächster Abschnitt) und die Bildung einer Cyanobakterien-Matte (Hiddensee) gezählt werden. Diese können im Frühjahr zu einem verstärkten Abbau von polymeren Kohlenstoff-Verbindungen durch extrazelluläre Enzyme (Reichardt, 1986; Meyer-Reil, 1987) und zu maximalen Sulfatreduktions-Raten an der Sedimentoberfläche führen. Eine Stimulation mikrobieller Aktivitäten an der Sedimentoberfläche durch verstärkte Sedimentation organischen Materials ist in marinen Sedimenten im Freiland und in Experimenten häufig beobachtet worden (Ram *et al.*, 1982; Graf, 1987; Duyf & Kop, 1990; Blum & Mills, 1991). Die dort produzierten gelösten organischen Kohlenstoff-Verbindungen können in tiefere Sedimentschichten gelangen und auch dort zu einer gesteigerten dissimilatorischen Aktivität führen. Dies könnte eine Erklärung für das oft beobachtete „zweite“ Maximum der Sulfatreduktions-Raten zwischen drei und acht Zentimeter Sedimenttiefe sein.

Hohe Sulfatreduktions-Raten sowie die hohen Konzentrationen und die Verteilung der Aminosäuren und Fettsäuren im Vertikalprofil am 19.5.1994 (Hiddensee, 3.2.2.7, Abbildung 37) deuten auf ein vorangegangenes „Initial“-Ereignis hin, bei dem organisches Material eingetragen wurde. Ein Minimum der Fettsäure-Konzentrationen an der Sedimentoberfläche spricht für einen schnellen Turnover dieser gut verfügbaren Stoffgruppe und für einen raschen Abbau organischen Kohlenstoffs. Dieser könnte dort im Laufe der Zeit zu einem limitierenden Faktor werden und die vergleichsweise niedrigen Sulfatreduktions-Raten in den Sommer-Monaten erklären. Obwohl von Cyanobakterien-Matten eine enorm hohe Primärproduktion ausgehen kann (Cohen, 1984), führten in den Sommern von 1992 und 1993 stark ausgeprägte Cyanobakterien-Matten am Standort Hiddensee nicht zu einer vergleichbaren Steigerung der

Sulfatreduktions-Raten. Hingegen deutet das „zweite“ Maximum in tieferen Horizonten über längere Zeit im Jahr auf eine langsamere Aufzehrung des organischen Kohlenstoffs in dieser Schicht hin. Die Bestimmung der kinetischen Parameter V_{max} und K_m für die Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs in einem späteren Abschnitt (4.3.5) weist ebenfalls auf unterschiedliche am Abbau organischen Kohlenstoffs beteiligte Mechanismen und Populationen Sulfat-reduzierender Bakterien hin.

4.3.3 Bioturbation als stimulierende Einflußgröße für den anaeroben Abbau organischen Kohlenstoffs an den Untersuchungs-Standorten

Die Aktivität der Makrofauna in marinen Sedimenten zerstört den durch Diffusion geprägten vertikalen Verlauf von physikalisch-chemischen Gradienten und trägt zur Oxidierung tieferer Sedimentschichten bei. Der Bau von Röhren oder andere durch die Mobilität benthischer Makro- und Meiofauna verursachte Umlagerungen des Sediments können zur Steigerung biogeochemischer Prozesse der Frühdiagenese von Sedimenten beitragen (Aller & Yingst, 1978; Reichardt, 1988).

Der Standort Fährdorf wurde durch die Aktivität verschiedener Arten benthischer Makrofauna geprägt (Harpacticoiden, Ostracoden: v.a. *Cyprideis torosa*, Polychaeten: v.a. *Nereis diversicolor*, Amphipoden: v.a. *Corophium volutator*, I. Gamenick, Uni Hamburg; K. Vopel, Uni Rostock; A. Jahn & C. Bittkau, IfM Kiel, persönliche Mitteilungen). Die teilweise oxidierten Wohnröhren von benthischer Makrofauna können Orte gesteigerter Enzymaktivitäten sein (Reichardt, 1988, 1989) und stellen Lebensräume sowohl von Schwefel-oxidierenden als auch von Sulfat-reduzierenden Bakterien dar. Dies konnte anhand von Biomarkern (Hydroxy-Fettsäuren und Fettsäuren von Phospholipiden) und Lebend-Zellzahlen der beiden Bakteriengruppen nachgewiesen werden (Reichardt, 1989).

Ein typisches Beispiel für die starke Bioturbation an diesem Beispiel bietet die Probenahme vom 13.6.1992 (3.2.1.2). Die enge Besiedlung und hohe Aktivität von *Corophium volutator* führte zu einer gänzlichen Oxidierung des Sediments in den oberen acht Zentimetern. Obwohl im obersten Zentimeter die Umlagerungen am stärksten waren (eigene Beobachtung), wurden hier die höchsten Sulfatreduktions-Raten gemessen (Abbildung 16). *Corophium volutator* erwies sich als empfindlichster Makrofauna-Bewohner dieses Habitats gegenüber H_2S (Gamenick & Giere, 1995, DYSMON-Workshop). Dies ist ein Beispiel dafür, daß selbst unter stark oxidierten Bedingungen ein Zusammenleben von obligat aeroben und obligat anaeroben Organismen auf engstem Raum möglich ist und sogar zu einer Steigerung des Umsatzes im anaeroben Stoffwechsel führen kann.

Der Standort Hiddensee dagegen kann als nahezu rein sulfidisch bezeichnet werden. Als sporadischer Bewohner dieses Untersuchungsgebietes wurde der Ostracode *Cyprideis torosa* gefunden, der sich in dem in 2.3 beschriebenen Feldexperiment als sehr widerstandsfähig gegen hohe H_2S -Konzentrationen erwies (Jahn & Gamenick, 1995, ebd.). Als wichtigste Meiofauna wurden die epibenthischen Harpacticoiden *Clectocamptus confluens*, *Mesochra lilljeborgi* und *Nitocra spinipes* identifiziert, die eine hohe Sulfid-Resistenz aufwiesen (44 Stunden bei 1,4 mM H_2S ohne lethale Folgen; Vopel & Arlt, 1995, ebd.). Das Sediment war ansonsten frei von Makrofauna und wies „ungestörte“ vertikale Gradienten auf, die, wie die Vertikalprofile der Sulfat-Konzentrationen an diesem Standort belegen, hauptsächlich durch Diffusion bestimmt wurden.

Der erste Einstrom von Salzwasser (Januar/Februar 1993) bis in das Gotland-Becken seit Ende der siebziger Jahre führte zu einer Oxidierung des Bodenwassers und zu einer Wiederbesiedlung des bis dahin weitgehend als azoisch zu bezeichnenden Sediments (Gerlach, 1994). So wurden schon während der Ausfahrt Ende April/Anfang Mai 1993 fast in jedem entnommenen Sedimentkern aus dem Gotland-Tief ein bis zwei *Harmothoe* sp. gefunden, die sich in einer Sedimenttiefe von bis zu 25 cm aufhielten (eigene Beobachtung). Abgesehen von dieser Art war das Sediment von Makrofauna unbewohnt und zeigte typische, durch Diffusion geprägte Vertikalprofile der Sulfat-Konzentration.

4.3.4 Physiologische Flexibilität Sulfat-reduzierender Bakterien und Wechselwirkungen mit anderen Bakteriengruppen

Jüngere Untersuchungen an Kulturen von Sulfat-reduzierenden Bakterien belegen, daß viele Vertreter dieser Bakteriengruppe weitaus flexibler sind als bisher angenommen. So widerstehen Stämme von *Desulfovibrio desulfuricans* einer Sauerstoff-Exposition über mehrere Tage (Abdollahi & Wimpenny, 1990) und sind sogar in der Lage, ATP durch Sauerstoff-Respiration zu gewinnen (Dilling & Cypionka, 1990). Neben der Möglichkeit der Disproportionierung von Thiosulfat (Bak & Pfennig, 1987; Jørgensen & Bak, 1991) können Sulfat-reduzierende Bakterien bei geringen Sulfid-Konzentrationen Nitrat reduzieren (Dalsgaard & Bak, 1994). Sie sind ebenso in der Lage, in Gegenwart von Sauerstoff und Nitrat H_2 , organische Verbindungen und anorganische Schwefelverbindungen zu oxidieren. Bei der Oxidation reduzierter Schwefelverbindungen benutzen Sulfatreduzierer die gleichen Enzyme wie bei der Sulfatreduktion (Dannenberg *et al.*, 1992). Damit können dieselben Organismen in Abhängigkeit der Randbedingungen die meisten Schritte der Sulfatreduktion reversibel betreiben.

Weiterhin zeigen andere Untersuchungen, daß eine funktionelle und räumliche Kopplung der Sulfatreduktion an andere Oxidations- und Reduktionsprozesse besteht. So fanden innerhalb eines 3-4 mm dicken „aeroben“ Biofilms sowohl O₂-Respiration und bakterielle aerobe H₂S-Oxidation als auch durch NO₃⁻ induzierte anaerobe H₂S-Oxidation und dissimilatorische Sulfatreduktion statt (Kühl & Jørgensen, 1992). An Cyanobakterien-Matten konnte gezeigt werden, daß bei intensiver Photosynthese und O₂-Produktion in den oberen 3 mm die dissimilatorische Sulfatreduktion erheblich stimuliert wurde (Fründ & Cohen, 1992). Eine enge Kopplung des Schwefelkreislaufs an die Reduktion von Mangan (IV) und Eisen (II) in marinen Sedimenten konnte ebenfalls gezeigt werden (King, 1990; Nealson & Myers, 1992; Thamdrup *et al.*, 1994). Der mikrobiell gesteuerte Mechanismus für diese Kopplung wurde in der durch Mangan (IV) und Eisen (II) angetriebenen Disproportionierung von Elementarschwefel zu Sulfat und Sulfid gefunden (Thamdrup *et al.*, 1993).

4.3.4.1 Sulfatreduktion im Gesamtrahmen des biogeochemischen Kreislaufs

Der Standort Hiddensee eignete sich zur Untersuchung mikrobiell gesteuerter frühdiagenetischer Prozesse besonders gut, da hier die benthische Makrofauna so gut wie keine Rolle spielte (4.3.1). Am Beispiel dieses Standorts sollen daher die Wechselwirkungen im Schwefel-Kreislauf modellhaft dargestellt werden (Abbildung 63).

Die Sedimentschicht von 0-1 cm zeichnete sich durch steile physikalisch-chemische Gradienten aus. Hier wurden die höchsten Sulfatreduktions-Raten und die höchsten Abundanzen (Most Probable Number) von Sulfatreduzierern in dieser Untersuchung gefunden (3.2.2.1 bis 3.2.2.7-Abbildungen 25 und 36). Diese gingen einher mit maximalem aeroben und anaeroben Thiosulfat-Umsatz (bei gleichzeitiger Nitrat-Reduktion), der mit Sulfat-Bildung verbunden war und mit maximalen Zellzahlen aerober und denitrifizierender Schwefel-oxidierender Bakterien (L. Podgorsek & A. Schneider, IfM, Kiel, pers. Mitteilung). In einigen Fällen konnte ein zweites „Aktivitäts-Maximum“ verzeichnet werden, das aber bei weitem nicht so ausgeprägt war.

Der oberste oxische bis suboxische Sediment-Horizont scheint daher Ort eines raschen Umsatzes von Schwefelverbindungen zu sein, der sowohl oxidative als auch reduktive Prozesse umfaßt. Denkbar wäre, daß wegen der physiologischen Flexibilität Sulfat-reduzierender Bakterien alle im Modell (Abbildung 63) dargestellten Wege des Schwefelkreislaufs von dieser Bakteriengruppe selber beschriftet werden können (s. auch 4.3.4.3).

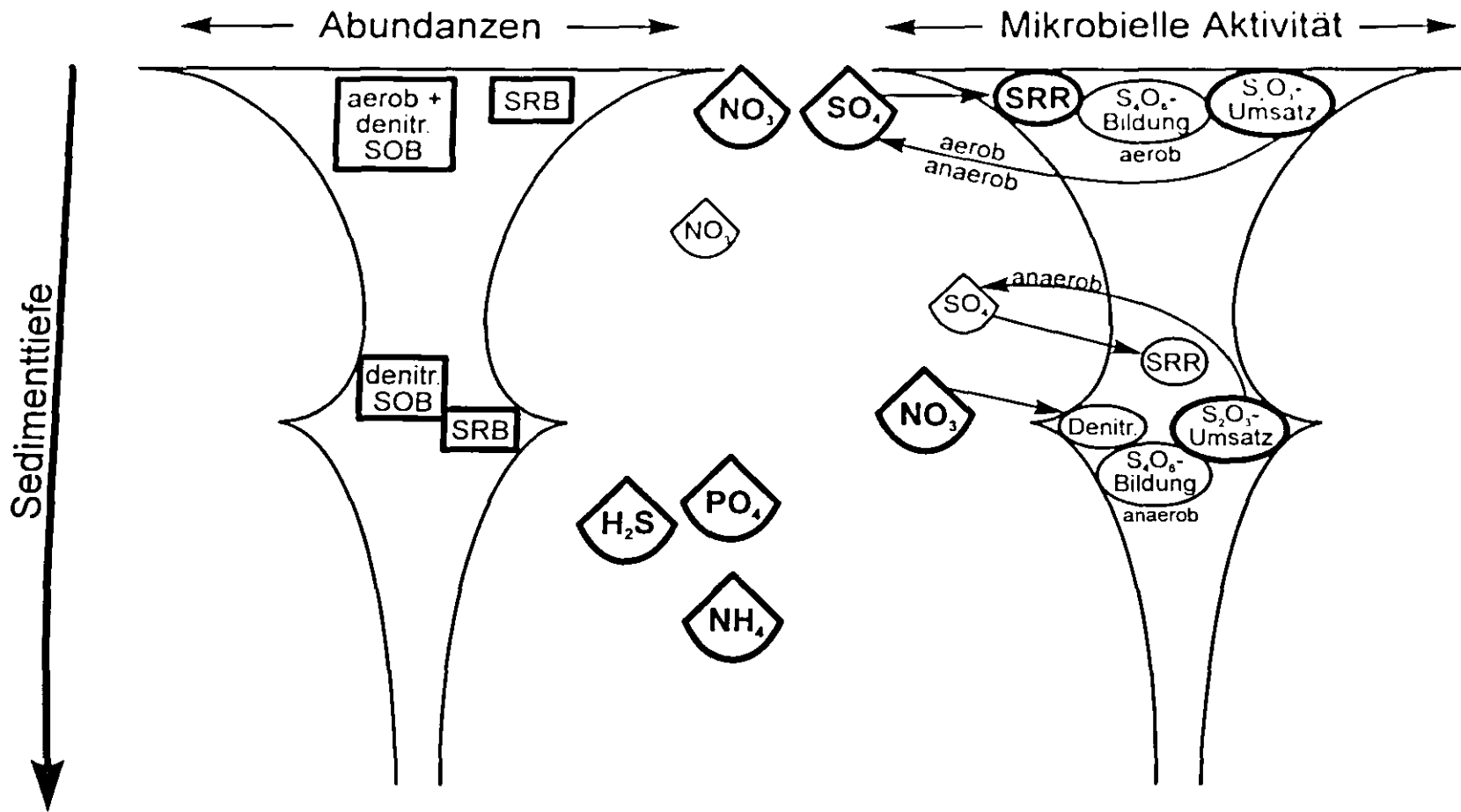


Abbildung 63: Schematische Darstellung des Schwefelkreislaufs im Sediment-Vertikalprofil (0-10 cm) des Standorts Hiddensee anhand der gemessenen Abundanzen (links) und Aktivitäts-Parameter (rechts). Pfeile zeigen die Bildung gelöster anorganischer Verbindungen im Porenwasser (Mitte) bzw. deren Verwendung durch mikrobiell gesteuerte Prozesse an. Taillierte Kurven und Größe der Symbole repräsentieren die Höhe der Abundanzen und die Aktivität der beteiligten Prozesse. Die Konzentrationen der anorganischen Verbindungen sind durch die Größe der Symbole schematisch dargestellt. SRB: Sulfat-reduzierende Bakterien; SOB: Schwefel-oxidierende Bakterien; SRR: Sulfatreduktions-Raten; Nitrat-Konzentrationen, Abundanzen Schwefel-oxidierender Bakterien und Thiosulfat-Umsatz wurden von L. Podgorsek und A. Schneider, IfM, Kiel, bestimmt.

Dies könnte ein Grund dafür sein, daß in bestimmten Fällen eine Molybdat-Zugabe einerseits zu einer nachgewiesenen Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion führte, aber nicht zu einer Hemmung der Sulfatreduktions-abhängigen Mineralisierung. Die Oxidation der eingesetzten C-Quellen durch Sulfat-reduzierende Bakterien kann nicht nur über die Reduktion von Sulfat, sondern auch über die Reduktion von Thiosulfat, Sulfit und Tetrathionat erfolgen. Dabei würde sich die Mineralisierungs-Aktivität der Sulfat-reduzierenden Bakterien der Beobachtung entziehen, da Molybdat nur den ersten Schritt der dissimilatorischen Sulfatreduktion hemmt (s. 4.1.5).

Insbesondere Thiosulfat hat sich als Hauptprodukt bei der chemischen Oxidation von reduzierten Schwefelverbindungen erwiesen (Moses et al., 1987) und wird in marinen Sedimenten hauptsächlich von Sulfatreduzieren reduziert (Jørgensen & Bak, 1991). Als Elektronen-Akzeptor wird Thiosulfat von Sulfat-reduzierenden Bakterien vorgezogen, weil im Gegensatz zum Sulfat eine ATP-verbrauchende Aktivierung nicht notwendig ist (Jørgensen & Bak, 1991). Ein Oxidations-Reduktions-Kreislauf von Thiosulfat mit schnellem Umsatz wurde in aquatischen Sedimenten schon beschrieben (Jørgensen, 1990a; Jørgensen, 1990b).

Eine enge Kopplung der dissimilatorischen Sulfatreduktion an Schwefel-oxidierende Prozesse wird auch deutlich, wenn man die zeitliche Entwicklung der Sulfat-Konzentration im Mikrokosmos-Experiment verfolgt (3.4.1.3, Abbildung 51). Während die Sulfat-Konzentration in oxischen Ansätzen um 9 mM auf 23 mM innerhalb von sechs Wochen stieg, nahm sie in den suboxischen Ansätzen von 5,0 auf 2,5 mM, in den anoxischen von 5,5 auf 0,1 mM ab. Aus der Abnahme der Sulfat-Konzentration läßt sich eine Sulfatreduktions-Rate berechnen (Jørgensen, 1978b). Sie beträgt 992 nmol cm^{-3} Suspension d^{-1} in den suboxischen und 2143 nmol cm^{-3} Suspension d^{-1} in den anoxischen Ansätzen. Im Vergleich dazu liegen die direkt gemessenen Sulfatreduktions-Raten bei 1058 nmol cm^{-3} d^{-1} in den suboxischen und 300 nmol cm^{-3} d^{-1} in den anoxischen Ansätzen (jeweils Mittelwert aus Raten nach zwei Wochen und nach acht Wochen Hälterung).

Zum Vergleich mit den Sulfatreduktions-Raten, die mit Hilfe der ^{35}S -Methode gemessen wurden, ermittelt man anhand des „Anfangswertes“ (nach zwei Wochen Hälterung) und des „Endwertes“ (nach acht Wochen Hälterung) die durchschnittliche $^{35}\text{SO}_4^{2-}$ -Reduktions-Rate über den Zeitraum von sechs Wochen. Sie liegt bei 1058 nmol cm^{-3} Suspension d^{-1} in den suboxischen und bei 300 nmol cm^{-3} Suspension d^{-1} in den anoxischen Ansätzen. In den suboxischen Ansätzen sind die zwei unterschiedlich ermittelten Sulfatreduktions-Raten nahezu gleich. Der große Unterschied in den anoxischen Ansätzen impliziert, daß 1843 nmol cm^{-3} Suspension d^{-1} (86%) mehr Sulfat reduziert als durch die ^{35}S -Methode erfaßt wurde. Diese Unterschätzung durch die ^{35}S -Methode kann man mit

der raschen Reoxidation von ^{35}S -Sulfiden erklären. Das wichtigste Oxidationsprodukt von Sulfiden ist Thiosulfat (s. nächster Absatz). Der Anstieg der Thiosulfat-Konzentration von 0 auf 2,7 mM innerhalb von sechs Wochen zeigt, daß Thiosulfat auch in anoxischen Sedimenten ein wichtiges Oxidations-Produkt von reduzierten Schwefelverbindungen in den Suspensionen war (3.4.1.3, Abbildung 51; s. auch 4.3.4.3: Sulfid-Oxidation mit Thiosulfat-Bildung durch Nitrat-Reduktion).

Auch in anderen aquatischen Sedimenten hatte sich Thiosulfat als „Weiche“ im Schwefelkreislauf erwiesen (Jørgensen, 1990 a,b). Im reduzierten Sediment des Kysing Fjords (Dänemark) wurden innerhalb weniger Stunden 92% des reduzierten Schwefels zu Thiosulfat oxidiert (Fossing & Jørgensen, 1990). Eine Thiosulfat-Bildungsrate von $1100 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ Suspension d}^{-1}$ in den anoxischen Sediment-Suspensionen der hypertrophierten Mikrokosmen (3.4.1.3, Abbildung 51) konnte somit zu einer nicht unerheblichen Unterschätzung der mit der Radio-Isotopen-Technik ermittelten Sulfatreduktions-Raten beitragen. Die Oxidation von elementarem Schwefel und Sulfiden zu Thiosulfat kann jedoch wegen der Beibehaltung der Oxidationsstufe von -2 nicht an den Abbau organischen Kohlenstoffs gekoppelt sein. Dieser Prozess dürfte daher bei der Beurteilung der Mineralisierung organischen Kohlenstoffs in einem späteren Kapitel (4.3.5) keine Rolle spielen.

Die Existenz von Thiosulfat im Porenwasser der Untersuchungsgebiete Hiddensee und Gotland-Tief (ohne Abbildung) sowie die Ergebnisse aus dem Mikrokosmos-Experiment deuten darauf hin, daß Thiosulfat in den untersuchten Sedimenten eine wichtige Rolle im Schwefelkreislauf einnimmt.

4.3.4.2 Syntrophische Beziehungen und Konkurrenz Sulfat-reduzierender Bakterien mit anderen Bakteriengruppen

Wechselwirkung mit fermentierenden Bakterien:

Hinweise für eine enge syntrophische Beziehung zu anderen Bakteriengruppen findet man in den Thymidin- und Leucin-Inkorporations-Messungen zur Bestimmung der Biomasse-Produktion. Die Hemmung der Thymidin-Inkorporation in Gegenwart von Molybdat (3.2.1.3 und 3.2.2.3, Abbildungen 18 und 28) zeigt, daß andere als Sulfat-reduzierende Bakterien durch den „Ausschluß“ der dissimilatorischen Sulfatreduktion in ihrer Biomasse-Produktion beeinträchtigt wurden, denn in Reinkultur zeigen Sulfatreduzierer im Gegensatz zu den meisten heterotrophen Bakterien keine nennenswerte Thymidin-Inkorporation (Gilmour *et al.*, 1990; Piker, 1990, 1991). Molybdat hemmte die Thymidin- und Leucin-Inkorporation auf eine ganz ähnliche Weise (3.2.1.3

und 3.2.2.3, Abbildungen 18 und 28). Danach müßte der systematische Fehler, der der einen Methode anhaftet, auch für die andere gelten. Es ist daher fraglich, ob die Leucin-Inkorporations-Methode eine bessere Alternative zur Bestimmung der Biomasse-Produktion in sulfidischen Sedimenten ist, wie Gilmour *et al.* (1990) vorschlugen.

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, daß die Fermentation von Aminosäuren eine Schlüsselstellung für die Nachlieferung von niederkettigen Fettsäuren, der Haupt-Kohlenstoff-Quelle für Sulfat-reduzierende Bakterien in den untersuchten Sedimenten, einnimmt (4.2.3.3). Der fermentative Abbau von Aminosäuren könnte gleichzeitig mit einer Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion indirekt beeinträchtigt worden sein. Denn Nanninga und Gottschal (1985) beobachteten, daß die Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion durch Molybdat in einer Mischkultur von Fermentierern und Sulfatreduzierern die Fermentation von Aminosäuren ebenfalls hemmte. Auch stellten sie einen verstärkten Abbau von Aminosäuren bei aktiver Sulfatreduktion fest. Sie folgern daraus, daß Fermentationsprozesse, bei denen Wasserstoff produziert wird (z.B. bei der sogenannten „Stickland-Reaktion“; Barker, 1981; Britz & Wilkinson, 1982), durch die Wasserstoff-konsumierende dissimilatorische Sulfatreduktion begünstigt wird. Die Hemmung der Thymidin-Inkorporation kann somit als ein Hinweis auf die wechselseitige Beeinflussung und enge Kopplung der Fermentation und Sulfatreduktion gelten. Wie stark diese Kopplung ist, hängt wahrscheinlich vom Sedimenttyp ab, denn in der Literatur findet man über die Wechselbeziehung zwischen Fermentation und Sulfatreduktion in marinen Sedimenten unterschiedliche Angaben. In einigen Experimenten fand nach Zugabe von Molybdat eine Akkumulation von typischen Fermentationsprodukten, wie Ammonium (Jacobson *et al.*, 1987) und niederkettigen Fettsäuren (Parkes *et al.*, 1989; Burdige, 1991) statt. Andererseits beobachteten Hansen *et al.* (1993) in anoxischen Sediment-Mikrokosmen gleichzeitig eine Hemmung der Fermentation. Sie äußerte sich in einer vier- bis fünffachen Abnahme der Ammonium-Produktion und des Aminosäure-Turnovers.

Wechselwirkung mit Methanogenen:

Eine Stimulation der Mineralisierung organischen Kohlenstoffs (4.1.5.2) spricht für die Konkurrenz mit anderen Bakteriengruppen. Da eine primäre Hemmwirkung der dissimilatorischen Sulfatreduktion bestätigt wurde (3.1.1.3, Abbildung 8), läßt ein Anstieg der Mineralisierungsraten in Gegenwart von Molybdat unter bestimmten Bedingungen (4.1.5.2, Tabelle 9 siehe auch Abbildung 59) auf eine Stimulierung anderer Bakteriengruppen und auf ein Konkurrenz-Verhältnis schließen.

Die Zugabe von Molybdat auf Sediment-Suspensionen vom Standort Hiddensee führten zu einer Steigerung der Methanogenese nach wenigen Stunden (Dr. Heyer, Fraunhofer Gesellschaft, Garmisch-Partenkirchen, pers. Mitteilung). Dies deutet darauf hin, daß Methanogene an diesem Standort mit Sulfatreduzieren um dieselben Elektronen-Donatoren konkurrieren, wie es in der Literatur auch von anderen marinen Sedimenten beschrieben wurde (Martens & Berner, 1974; Hines & Buck, 1982; Ward & Winfrey, 1985). Allerdings waren die Methanbildungsraten im Mittel um 2-3 Größenordnungen niedriger als die Sulfatreduktions-Raten und könnten somit nur einen kleinen Teil der durch Molybdat gehemmten Acetat-Mineralisierung kompensieren.

Wechselwirkung mit denitrifizierenden Bakterien:

Auch denitrifizierende Bakterien könnten vom Ausschluß der dissimilatorischen Sulfatreduktion „profitiert“ haben. Am Standort Hiddensee wurden bei der Probennahme vom 3.11.1993 in 0-4 cm Sedimenttiefe sowohl maximale Sulfatreduktions-Raten (3.2.2.6, Abbildung 35) als auch maximale Zellzahlen von denitrifizierenden Schwefeloxidierenden Bakterien und Sulfat-reduzierenden Bakterien gefunden (4.3.4.1). Die Untersuchung einiger Isolate dieser Bakteriengruppe deutet darauf hin, daß es sich dabei um heterotrophe Schwefel-Oxidierer handelt, die Nitrat reduzieren, gleichzeitig Thiosulfat oxidieren und mit Acetat als Kohlenstoff-Quelle wachsen (L. Podgorsek & A. Schneider, IfM, Kiel, pers. Mitteilung). Eine Kompensation bzw. Überkompensation der gehemmten Sulfatreduktions-abhängigen Acetat-Mineralisierung durch die Denitrifikation ist daher möglich.

4.3.4.3 *Dominieren Sulfat-reduzierende Bakterien den anaeroben Abbau organischen Kohlenstoffs in marinen Sedimenten?*

Im obigen Abschnitt wurde anhand der Wirkung von Molybdat im „Ausschlußverfahren“ versucht, die Rolle verschiedener Bakteriengruppen beim Abbau organischen Kohlenstoffs am sulfidischen Standort Hiddensee zu charakterisieren. Hierbei schieden Methanogene als signifikante Konkurrenten für Sulfatreduzierer aus. Respiration mit Sauerstoff konnte nur in den obersten 1-3 mm in den Untersuchungsgebieten Hiddensee und Gotland-Tief stattfinden, da in größeren Tiefen kein Sauerstoff nachgewiesen werden konnte (J. Rethmeier, Uni Bremen; eigene Messungen, Abbildung 42). Die Reduktion von Mn^{4+} und Fe^{3+} ist zwar für den Metall- und Schwefelhaushalt in marinen Sedimenten von großer Bedeutung, der Abbau organischen Kohlenstoffs durch diese Elektronen-Akzeptoren spielt aber nur eine untergeordnete Rolle in marinen Sedi-

menten (Thamdrup *et al.*, 1994). Als Konkurrenten für Sulfatreduzierer in suboxischen Zonen kommen daher nur noch Denitrifizierer und Nitrat-Ammonifizierer in Betracht.

Hohe Zellzahlen heterotropher denitrifizierender Schwefel-oxidierender Bakterien, die Thiosulfat produzieren, wurden am Standort Hiddensee nachgewiesen. Die gleichen Eigenschaften werden von vielen Sulfat-reduzierenden Bakterien beschrieben (Dannenberg *et al.*, 1992). Ein Stamm von *Desulfovibrio desulfuricans*, der zur Nitrat-Ammonifikation fähig ist, wies eine höhere Affinität zu Nitrat ($K_m=0,05 \mu\text{M}$) als zu Sulfat ($K_m=5 \mu\text{M}$) auf (Dalsgaard & Bak, 1994). Dieser K_m -Wert lag damit höher als bei „echten“ Denitrifizierern ($K_m=1,8$ bis $13,7 \mu\text{M}$) oder anderen Nitrat-Ammonifizierern ($K_m=500 \mu\text{M}$; *ebd.*). Die Nitrat-Ammonifikation durch diesen Stamm fand auch in Gegenwart von höheren Sulfid-Konzentrationen statt (bis $700 \mu\text{M}$). Nitrat-Konzentrationen zwischen 5 und $50 \mu\text{M}$ (ohne Abbildung) und H_2S -Konzentrationen von maximal $500 \mu\text{M}$ im Porenwasser der obersten 4 cm am Standort Hiddensee ließen eine effektive Nitrat-Reduktion von Sulfat-reduzierenden Bakterien zu.

Die hohe physiologische Flexibilität Sulfat-reduzierender Bakterien (s. Referenzen in 4.3.4, 1. Abschnitt) und die in 4.3.4 angebrachten Argumente legen die Vermutung nahe, daß der anaerobe Abbau organischen Kohlenstoffs am Standort Hiddensee vorwiegend durch Sulfatreduzierer kontrolliert wird.

Zusammenfassung von 4.3.1 bis 4.3.4:

- Distinkte Maxima von Sulfatreduktions-Raten im Sediment-Vertikalprofil waren für alle Untersuchungsgebiete charakteristisch. Am Standort Hiddensee wurden häufig zwei „Aktivitätshorizonte“ festgestellt. An der Sedimentoberfläche (0-1 cm) gingen maximale Sulfatreduktions-Raten und Thiosulfat-Umsatz mit höchsten Zellzahlen von Sulfatreduzierern und heterotrophen denitrifizierenden Schwefel-oxidierenden Bakterien, die Thiosulfat bilden, einher. Ein zweiter „Aktivitätshorizont“ zeigte sich oft zwischen vier und acht Zentimeter Sedimenttiefe, der nicht so ausgeprägt war, aber die gleichen Merkmale aufwies.
- Die Sulfatreduktions-Raten am Standort Hiddensee (Bodden) gehören zu den höchsten, die jemals in marinen Sedimenten gemessen wurden (bis zu $1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$).
- Die beiden Stationen des Gotland-Tiefs zeigten unterschiedliche Aktivitäten der dissimilatorischen Sulfatreduktion. Die „Alkor“-Station (240 m) wies mit über $1000 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ wesentlich höhere Sulfatreduktions-Raten auf als die „Helcom“-Station (220 m).
- Im Frühjahr wurden die höchsten Sulfatreduktions-Raten festgestellt. Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Temperatur und Sulfatreduktions-Raten lag nicht vor.
- In oxidierten Sediment-Horizonten, in denen eine starke Bioturbation Schwefelwasserstoff-empfindlicher Organismen (Corophium) beobachtet wurde, konnten maximale Sulfatreduktions-Raten im Sediment-Vertikalprofil gemessen werden ($250 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$).
- In anoxischen Sediment-Mikrokosmen wurde Sulfat doppelt so schnell verbraucht wie in suboxischen, obwohl die Sulfatreduktions-Raten in den suboxischen Ansätzen mindestens zweimal so hoch waren. Gleichzeitig reicherte sich in anoxischen Sediment-Mikrokosmen unter Sulfat-limitierten Bedingungen Thiosulfat an.
- Die Thymidin-Inkorporation wurde in sulfidischen Sedimenten durch Molybdat, einem spezifischen Inhibitor der dissimilatorischen Sulfatreduktion, signifikant gehemmt, obwohl Sulfat-reduzierende Bakterien in Reinkultur keine nennenswerte Thymidin-Inkorporation aufweisen.

Schlußfolgerungen (4.3.1 bis 4.3.4):

1. Reduktive und oxidative Wege des Schwefelkreislaufs finden sowohl unter oxidierten als auch unter reduzierten Bedingungen gleichzeitig statt. Ein besonders rascher Turnover von Schwefel-Verbindungen in „beide Richtungen“ findet dabei in suboxischen Sedimenten mit steilen Eh-Gradienten statt. Thiosulfat nimmt im Schwefelkreislauf der untersuchten Sedimente eine herausragende Stellung ein.
2. Es ist denkbar, daß aufgrund der hohen Sulfatreduktions-Raten und der physiologischen Flexibilität von Sulfat-reduzierenden Bakterien die Endoxidation organischen Kohlenstoffs am Standort Hiddensee vorwiegend von dieser Bakteriengruppe kontrolliert wird.
3. Die dissimilatorische Sulfatreduktion in Salzhaff- und Bodden-Sedimenten wird im Frühjahr durch ein Initial-Ereignis, vermutlich den Eintrag an organischem Material, besonders stimuliert. Dabei wirkt der relative Anstieg der Temperatur eher als zusätzliches Stimulans als absolut hohe Temperaturen. Kälteadaptierte Sulfatreduzierer könnten hier eine Rolle spielen.
4. Die dissimilatorische Sulfatreduktion kann selbst in Horizonten mit starker Bioturbation stattfinden und könnte durch diese verstärkt werden. Der entstehende Schwefelwasserstoff wird umgehend oxidiert, so daß H_2S -empfindliche Organismen auf engstem Raum mit Sulfatreduzierern koexistieren können.
5. Senken im Gotland-Tief stellen die Haupt-Aktivitätszonen der dissimilatorischen Sulfatreduktion dar.
6. Die durch Molybdat gehemmte Thymidin-Inkorporation in sulfidischen Sedimenten deutet auf eine Abhängigkeit anderer Bakteriengruppen von der Sulfatreduktion oder auf die Fähigkeit von Sulfatreduzierern, unter bestimmten Bedingungen exogenes Thymidin zur Biomasse-Produktion aufzunehmen, hin.

4.3.5 Charakterisierung der Sediment-Mikroflora anhand der kinetischen Parameter V_{\max} und K_m für die Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs

Die aus Konzentrations-abhängigen Mineralisierungs- und Inkorporations-Messungen erhaltenen kinetischen Parameter V_{\max} und K_m können den physiologischen Zustand natürlicher Bakterien-Populationen beschreiben. Sie liefern Informationen über das Mineralisierungs-Potential (V_{\max}) und die „Substrat-Affinität“ (K_m ; s. 4.1.6 und dort aufgeführte Referenzen). Acetat soll im folgenden besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden, da

es die wichtigste Kohlenstoff-Quelle bei der anaeroben Mineralisierung in marinen Sedimenten ist (s. 4.2.3, 2. Absatz und 4.2.3.1, 3. Abschnitt).

4.3.5.1 Vergleich der V_{max} - und K_m -Werte in den Untersuchungsgebieten

Aus einem Vergleich der Untersuchungsgebiete geht hervor, daß die Sediment-Mikroflora der Küsten-Standorte Hiddensee und Fährdorf ein wesentlich höheres Mineralisierungs-Potential für Acetat hat als diejenige des Gotland-Tiefs (Tabellen 4 A-D). Die deutlich niedrigeren V_{max} -Werte im Gotland-Tief können unter anderem auf die niedrige Temperatur von 4 °C zurückgeführt werden. Ein Vergleich der beiden Stationen im Gotland-Tief zeigt, daß die Bakterien-Population im Sediment der „Helcom“-Station an geringere Acetat-Konzentrationen angepaßt war (niedrigere K_m) und ein niedrigeres Mineralisierungs-Potential hatte (niedrigere V_{max}) als diejenige der „Alkor“-Station. Das stimmt gut mit der Höhe von Sulfatreduktions-Raten der beiden Stationen überein (3.2.3, Abbildungen 40, 43, 46) und ist ein weiterer Hinweis für die Heterogenität der mikrobiellen Aktivität im Gotland-Tief (s. auch 4.3.1, 3. Absatz).

Insgesamt lagen die V_{max} und K_m -Werte für die Acetat-Mineralisierung der Standorte Hiddensee und Fährdorf sehr hoch. V_{max} -Werte zwischen 38 und 2538 nmol cm⁻³ h⁻¹ sind Ausdruck eines hohen Mineralisierungs-Potentials in Bodden- und Salzhaff-Sedimenten (3.6.2.3, Tabelle 4 A-D). Höhere K_m -Werte für die Acetat- und Laktat-Mineralisierung am Standort Hiddensee (0,61-31,21 bzw. 0,13-0,50 mM) deuten darauf hin, daß die dort lebende Bakterien-Population besser an höhere Konzentrationen organischen Kohlenstoffs angepaßt ist als diejenige am Standort Fährdorf (0,11-0,97 bzw. 0,013-0,019 mM; Tabellen 4 A-D).

4.3.5.2 Vergleich der V_{max} - und K_m -Werte bei unterschiedlichen Redox-Bedingungen

Aus dem Vergleich zweier Sediment-Horizonte der Untersuchungsgebiete, in denen unterschiedliche Redox-Bedingungen herrschten, wird ersichtlich, daß sowohl V_{max} als auch K_m in Sedimentschichten mit steilem Eh-Gradienten höher waren (3.6.2.3) als in durchgehend reduzierten. Dies zeigt sich am besten an einem Vergleich der kinetischen Parameter am Standort Hiddensee, da hier keine „Störungen“ des Eh-Gradienten durch Bioturbation beobachtet wurden. Mit einer Ausnahme, dem V_{max} -Wert der Laktat-Mineralisierung vom 24.4.1993 am Standort Fährdorf, läßt sich dies auch bei den anderen Untersuchungsgebieten feststellen. In Sediment-Mikrokosmen mit ausgeprägtem Eh-Gradient wurden ebenfalls die höchsten V_{max} -Werte für die Mineralisierung und Inkorporation

aller eingesetzten Substrate verzeichnet (Tabelle 6; Ausnahme: Acetat-Mineralisierung in Kontroll-Ansätzen).

Daraus läßt sich folgern, daß unmittelbar unter der Sedimentoberfläche eine copiotrophe, an hohe Substrat-Konzentrationen angepaßte Population mit hohem Mineralisierungs-Potential lebt. Unter rein anoxischen Bedingungen hingegen findet sich eine Population, deren Mineralisierungs-Potential niedriger ist und die eine höhere Substrat-Affinität aufweist. Da der durch Molybdat hemmbare Anteil an der Gesamt-Mineralisierung im Sediment-Horizont mit steilen Eh-Gradienten häufig am stärksten war, trifft diese Unterteilung auch für Sulfatreduzierer zu. Das wird auch aus einem Vergleich der Experimental- und Kontrollfläche des Feldexperiments (2.3 und 3.3) deutlich. Unter der über mehrere Monate abgedeckten Experimentalfläche fand eine Anpassung der Bakterien-Population an der Sedimentoberfläche durch eine künstlich hervorgerufene Anoxie statt. Die V_{max} - und K_m -Werte im oberen und unteren Sediment-Horizont waren nach der Abdeckung vergleichbar. Angesichts vergleichbarer Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen im Porenwasser beider Sediment-Horizonte (Tabelle 4 C, Ausnahme: Kontrollfläche, Hiddensee am 3.11.1993) stellt sich die Frage, woher ein höheres Mineralisierungs-Potential (hoher V_{max} -Wert) und eine Anpassung an hohe Substrat-Konzentrationen (hohe K_m) herrühren. Diese Frage wird im Zusammenhang mit den berechneten Turnover-Raten und der Verfügbarkeit organischen Kohlenstoffs in einem späteren Abschnitt (4.3.5.4) zu klären sein.

4.3.5.3 Konzentrations-abhängige Mineralisierung und Inkorporation organischen Kohlenstoffs unter Ausschluß der dissimilatorischen Sulfatreduktion

Der Molybdat-hemmbare Anteil an der Gesamt-Mineralisierung oder -Inkorporation spiegelt aller Wahrscheinlichkeit nach nicht den wirklichen Beitrag von Sulfatreduzierern am Gesamt-Kohlenstoff-Umsatz wider. Dieser wird wegen der oft ausgebliebenen Hemmung trotz beobachteter Sulfatreduktions-Raten (vgl. Abbildung 31, 3.2.2.4, mit Tabelle 9 in 4.1.5.2) als größer eingestuft (s. auch nächster Abschnitt). Dafür spricht auch die physiologische Flexibilität von Sulfatreduzierern, die die Mineralisierung organischen Kohlenstoffs mit anderen Elektronen-Akzeptoren als Sulfat ermöglicht (4.3.3). Sulfatreduzierende Bakterien wären in der Lage, nach Hemmung der ATP-Sulfurylase (4.1.5.1) auf andere Redox-Prozesse „umschalten“, wie z.B. auf die Reduktion von Nitrat oder Thiosulfat. Der Molybdat-hemmbare Anteil an der Mineralisierung und Inkorporation stellt daher einen Mindest-Beitrag dar, den Sulfatreduzierer in marinen Sedimenten am Abbau organischen Materials haben. Eine quantitative Bestimmung der

Sulfatreduktions-abhängigen Prozesse über eine spezifische Hemmung ist daher nur bedingt möglich.

Die Aufnahme einer Substratsättigungs-Kurve und ein Vergleich von V_{\max} und K_m zwischen Mineralisierungs-Messungen mit und ohne Molybdat erlaubt hingegen eine genauere Beschreibung des Abbaus organischen Kohlenstoffs durch die dissimilatorische Sulfatreduktion. Am Standort Hiddensee wurde immer, am Standort Fährdorf gelegentlich eine Beteiligung der dissimilatorischen Sulfatreduktion am Abbau organischen Kohlenstoffs (bei Substratsättigung) verzeichnet (Verringerung der V_{\max} -Werte nach Molybdat-Hemmung; Tabelle 4 B-D).

Das Acetat- und Benzoat-Mineralisierungs-Potential wurde am stärksten herabgesetzt, während die Laktat-Mineralisierung selten gehemmt wurde. Sulfat-reduzierende Bakterien teilt man in zwei physiologische Gruppen ein. Sie unterscheiden sich darin, daß sie organischen Kohlenstoff (meist Acetat über den Tricarbonsäure-Zyklus) vollständig oxidieren können oder nicht (Laktat). Von einigen Arten der Gattungen *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfotomaculum* und *Desulfovibrio*, die zur vollständigen Oxidation befähigt sind, ist allerdings bekannt, daß sie auch Laktat verwerten können (Widdel, 1988). Die V_{\max} -Werte der Laktat-Mineralisierung im Freiland (Tabelle 4 B, D) und Sediment-Mikrokosmen (Tabelle 6) wurden durch die Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion nicht verringert. Das deutet darauf hin, daß die energetisch ungünstige Laktat-Oxidation (Winfrey & Ward, 1985) von Sulfat-reduzierenden Bakterien in den untersuchten Sedimenten nicht durchgeführt wird. Aber auch eine unvollständige Oxidation zu Acetat war kein wichtiger Abbauschritt. Eine Endoxidation des über Laktat produzierten Acetats durch die Sulfatreduktion wäre sonst an einer Hemmung der „Laktat“-Mineralisierungsraten zu erkennen gewesen. Laktat wurde hingegen von Sulfatreduzieren assimiliert, wie niedrigere V_{\max} -Werte für die Laktat-Inkorporation in den Molybdat-Ansätzen der Sediment-Mikrokosmen zeigen (Tabelle 6). Ein fehlender Hinweis auf eine vollständige oder unvollständige Laktat-Oxidation von den Mineralisierungs-Messungen ist erstaunlich, da Laktat-verwertende Sulfatreduzierer die mit Abstand höchsten Abundanzen im Vergleich zu Acetat- und Benzoat-verwertenden Sulfatreduzieren aufwiesen (3.2.1.5, 3.2.2.7, Abbildungen 32 bzw. 36). Eine Populations-Beschreibung anhand von Anreicherungs-Kulturen mit Hilfe verschiedener Substrate kann daher irreführend sein.

Am stärksten war die dissimilatorische Sulfatreduktion in Sediment-Horizonten mit steilen Eh-Gradienten an der Acetat-Mineralisierung beteiligt, denn hier wurde am häufigsten eine Hemmwirkung durch Molybdat erzielt (Tabelle 7). Dies stimmt gut mit den beobachteten hohen Sulfatreduktions-Raten in dieser Sedimentschicht überein (s. auch 4.2.1.1.).

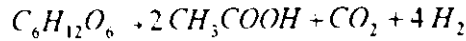
Aus dem Verlauf einiger Substratsättigungs-Kurven von Acetat und Laktat ging hervor, daß bei niedrigen Substrat-Konzentrationen (zwischen 0,06 und 234 μM) eine Stimulierung durch Molybdat erfolgte (4.1.5.2: s. Beispiel in Tabelle 9, s. auch Abbildung 59). In suboxischen Sediment-Horizonten mit steilem Eh-Gradient am Standort Hiddensee war eine Stimulation der Mineralisierung am auffälligsten. Infolgedessen sank auch der K_m -Wert in diesen Fällen (Tabelle 4 A-D), d.h. die „Substrat-Affinität“ stieg. Der Ausschluß der dissimilatorischen Sulfatreduktion hatte demnach andere am Abbau organischen Kohlenstoffs beteiligte Prozesse begünstigt, die unter Beteiligung der Sulfatreduktion eine geringere „Substrat-Affinität“ besitzen (zu Wechselwirkungen mit anderen Prozessen s. 4.3.3.2). Dies impliziert, daß Sulfat-reduzierende Bakterien anderen Bakteriengruppen im Wettbewerb um leicht verfügbare Elektronendonatoren (Acetat) überlegen sind.

4.3.5.4 Vergleich von Turnover- und Sulfatreduktions-Raten

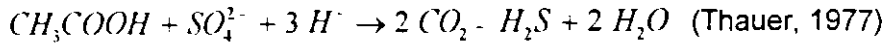
Acetat ist die wichtigste intermediäre Verbindung beim anaeroben Abbau organischen Materials in marinen Sedimenten (z.B. Fenchel & Blackburn, 1979; Lovley & Klug, 1982; s. auch 4.2.3, 2. Absatz). Auch in den untersuchten Küsten-Sedimenten der süd-westlichen Ostsee und im Gotland-Tief war Acetat im Porenwasser immer vertreten (3.2.1 bis 3.2.3). Es erwies sich in den Mineralisierungs-Messungen als wichtigste Kohlenstoff-Quelle für Sulfatreduzierer (4.3.5.3) und war eines der Haupt-Produkte des anaeroben Abbaus von Glukose (3.4.1.3) und Cellulose (3.4.2.3). Damit eignet es sich als Modell-Substrat zur Berechnung des Kohlenstoff-Umsatzes und der Beteiligung der dissimilatorischen Sulfatreduktion beim Abbau organischen Kohlenstoffs in anoxischen Ostsee-Sedimenten sehr gut.

Andererseits fällt auf, daß die durch Mineralisierungs-Messungen erhaltenen (Gesamt-) Acetat-Turnover-Raten um 2-3 Größenordnungen niedriger liegen als die parallel gemessenen Sulfatreduktions-Raten (Tabelle 7; 3.6.2.4). Letztere lassen sich eher mit den V_{max} -Werten vergleichen. Anhand eines Vergleichs zwischen Sulfatreduktions-Raten und Acetat-Oxidation soll gezeigt werden, daß die Acetat-Turnover-Rate unterschätzt worden ist. Aus dieser Unterschätzung lassen sich Schlußfolgerungen ableiten, die sich mit anderen Beobachtungen dieser Untersuchung decken.

Setzt man voraus, daß ein Hexose-Molekül im Sediment folgendermaßen fermentiert wird:



und Sulfat-reduzierende Bakterien Acetat weiter mineralisieren mit



wird pro Mol reduziertes SO_4^{2-} ein Mol Acetat oxidiert.

Die am 25.4.1993 in Hiddensee gemessene Sulfatreduktionsrate in 0-1 cm Sedimenttiefe von $1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (Tabelle 7 in 3.6.2.4) entspräche einem Acetat-Turnover durch Sulfat-reduzierende Bakterien desselben Wertes. Die aus der Turnover-Zeit und der Konzentration im Porenwasser ermittelte Turnover-Rate für die gesamte Bakterien-Population beträgt aber nur $34 \text{ nmol Acetat cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ und einen Sulfatreduktions-abhängigen Anteil von 32 % vorausgesetzt (s. Tabelle 7) sogar nur $11 \text{ nmol Acetat cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ für Sulfatreduzierer.

Vier mögliche Erklärungen kommen für diese Diskrepanz zunächst in Betracht:

1. Die Sulfatreduktions-Raten wurden überschätzt,
2. Acetat wird in der Rolle als C-Quelle für Sulfat-reduzierende Bakterien überschätzt und andere niederkettige Fettsäuren werden vorzugsweise oxidiert,
3. Die Turnover-Raten wurden unterschätzt,
4. Die Konzentration von Acetat im Porenwasser wurde unterschätzt oder stellt nicht den alleinigen Acetat-Pool im Sediment dar.

zu 1. Die mit Hilfe der ^{35}S -Methode ermittelten Sulfatreduktions-Raten stellen eine gute Näherung an tatsächliche Sulfatreduktions-Raten dar (Jørgensen, 1978a; s. auch 4.1.1.3). Durch die aerobe und anaerobe Reoxidation von ^{35}S -Sulfiden muß sogar von einer Unter-Bestimmung ausgegangen werden (Fossing & Jørgensen, 1990; s. auch 4.3.4.1)

zu 2. Als potentielle Kohlenstoff-Quellen für Sulfat-reduzierende Bakterien wurden Propionat, Butyrat und Succinat ebenfalls im Porenwasser nachgewiesen und als wichtige Fermentations-Produkte in Experimenten identifiziert (3.4.1.3 und 3.4.2.3). Das hohe

Mineralisierungs-Potential für Acetat und der relativ hohe Molybdat-hemmbarer Anteil weisen aber auf eine zentrale Rolle des Acetats für Sulfat-reduzierende Bakterien hin (s. auch Referenzen in 4.2.3, 2. Absatz). Eine Oxidation von Propionat, Butyrat und Succinat reicht nicht zur Erklärung eines Unterschieds zwischen Acetat-Turnover- und Sulfatreduktions-Raten von mehreren Größenordnungen aus.

zu 3. Eine grobe Unterschätzung der Acetat-Turnover-Raten steht im Gegensatz zu den meisten bisherigen Untersuchungen an marinen Sedimenten. Dort entstand der Eindruck einer vermeintlichen Überschätzung der Turnover-Raten im Vergleich mit den aus stöchiometrisch abgeleiteten Werten bzw. Sulfatreduktions-Raten (Ansbaek & Blackburn, 1980; Christensen & Blackburn, 1982; Parkes *et al.*, 1984; Sansone, 1986; Novelli *et al.*, 1988; Michelson *et al.*, 1989). Alle Turnover-Raten basierten auf der zeitlichen Abnahme des in einer Standard-Konzentration zugegebenen ^{14}C -Acetats bzw. der $^{14}\text{CO}_2$ -Zunahme. Aus dem Quotienten der Acetat-Konzentration im Porenwasser und der so ermittelten Konstanten für die Oxidationsrate wurde die Turnover-Rate bestimmt. Die Autoren vertrauten auf die angewendete Tracer-Methode und führten die Turnover-Raten auf eine Überschätzung des biologisch verfügbaren Acetats-Pools durch Adsorptions-Effekte an Sediment- und organische Partikel zurück. Wang & Lee (1993) stellten fest, daß 90% des in Konzentrationen zwischen 0 und $0,15 \mu\text{M}$ eingesetzten Acetats irreversibel an Sediment adsorbiert wird, ein Großteil davon an organisches Material. In diesem Konzentrationsbereich wurden auch die Mineralisierungs-Messungen in den oben aufgeführten Untersuchungen durchgeführt. Im Gegensatz dazu fußte die Berechnung der Turnover-Raten in der vorliegenden Untersuchung auf Mineralisierungs-Messungen im Konzentrationsbereich von $0,06 \mu\text{M}$ bis 23 mM . Die so erhaltenen Turnover-Raten sind aufgrund der Berücksichtigung von V_{max} und K_m verlässlicher. Zudem ist es unwahrscheinlich, daß bei so hohen Acetat-Konzentrationen eine Adsorption die biologische Verfügbarkeit entscheidend beeinflusst. Hines *et al.* (1994) verzeichneten hingegen, wie im vorliegenden Fall, eine Unterschätzung der Acetat-Turnover-Rate, die sie auf methodische Fehler bei der Injektion des ^{14}C -Acetats und auf eine unzureichende Verteilung im Porenwasser zurückführen.

zu 4. Da es sich bei Acetat um eine flüchtige Fettsäure handelt, könnte dies zu einer Unter-Bestimmung der Acetat-Konzentration im Porenwasser geführt und damit zu einer Unterschätzung der Acetat-Turnover-Rate beigetragen haben. Aus den methodischen Untersuchungen geht hervor, daß nach der Derivatisierung ein Acetat-Verlust von maximal 37% auftreten konnte (3.1.3.2). Dieser Verlust wurde jedoch bei der Berechnung der Turnover-Raten berücksichtigt, so daß auch von dieser Seite keine gravierende Unterschätzung zu erwarten ist.

Acetat kommt zum großen Teil in Partikel-gebundener Form vor und ist damit beschränkt für die biologische Oxidation verfügbar (Wang & Lee, 1993; bis zu 83% bei Christensen & Blackburn, 1982). Selbst wenn dieser Teil gänzlich verfügbar wäre (was unwahrscheinlich ist), stiege die Acetat-Konzentration am Beispiel der Messungen vom 25.4.1993 auf 100 μM und die Turnover-Rate entsprechend auf nur auf 200 $\text{nmol cm}^{-3}\text{d}^{-1}$ bzw. 60 $\text{nmol cm}^{-3}\text{d}^{-1}$ für die Sulfatreduktions-abhängige Mineralisierung.

Deshalb kommt die Unterschätzung der Turnover-Raten aller Wahrscheinlichkeit nach nicht durch einen systematischen Fehler bei den Messungen zustande, sondern durch eine Unterschätzung der biologisch verfügbaren Acetat-Menge. Der verfügbare Acetat-Pool muß also noch größer sein als die Summe des refraktären und im Porenwasser meßbaren Teils. Das ist möglich, wenn z.B. durch Fermentation produziertes Acetat direkt und unverzüglich an die Sulfat-reduzierenden Bakterien weitergegeben werden. Unterstützt wird diese Annahme durch das hohe Mineralisierungs-Potential (hoher V_{max}) und vor allem die Anpassung an hohe Substrat-Konzentrationen (K_m von ungefähr 1 mM, ohne den Extremwert vom 23.8.1992 am Standort Hiddensee, Tabelle 4 A-D).

Zusammenfassung von 4.3.5:

- V_{max} und K_m für die Mineralisierung organischen Kohlenstoffs waren in den Sedimenten der Küsten-Standorte um zwei bis drei Größenordnungen höher als in den Sedimenten des Gotland-Tiefs. Es läßt sich folgende Reihe für die beiden kinetischen Parameter in den Untersuchungsgebieten festlegen:
Hiddensee > Fährdorf >> Gotland-Tief („Alkor“- > „Helcom“-Station).
- V_{max} und K_m sowie der Molybdat-hemmbarer Anteil an der Acetat-Mineralisierung lagen in Sediment-Horizonten mit steilen Eh-Gradienten höher als in durchgehend reduzierten Bereichen.
- Trotz gemessener Sulfatreduktions-Raten wurde in einigen Fällen keine Hemmung der Mineralisierungs-Prozesse durch Molybdat beobachtet. Bei geringen Konzentrationen organischen Kohlenstoffs wurde sogar häufig eine Stimulierung der Mineralisierung festgestellt.
- Die Acetat-Turnover-Raten lagen zwei bis drei Größenordnungen niedriger als die Sulfatreduktions-Raten.

Schlußfolgerungen:

1. An den Küsten-Standorten findet man unmittelbar unter der Sediment-Oberfläche eine copiotrophe Population Sulfat-reduzierender Bakterien, die an hohe Konzentrationen organischen Kohlenstoffs angepaßt sind.
2. Die unterschiedliche Molybdat-Hemmung der Mineralisierungs-Prozesse in Abhängigkeit der Substrat-Konzentration zeigt weiterhin, daß a) der Ausschluß der dissimilatorischen Sulfatreduktion andere Abbauprozesse beeinflusst, b) der Abbau organischen Kohlenstoffs durch Sulfat-reduzierende Bakterien eng an andere Abbauprozesse gekoppelt ist, c) in Substratsättigungs-Konzentrationen eine enge Kopplung an andere Abbauprozesse unwichtiger wird und damit d) das Mineralisierungspotential Sulfat-reduzierender Bakterien bei hohen Substrat-Konzentrationen höher ist als das anderer Bakteriengruppen.
3. Die Acetat-Turnover-Rate wird unterschätzt, weil der Acetat-Pool im Porenwasser nicht der einzige Pool ist, der den Sulfatreduzierern zur Verfügung steht.

4.3.6 Diffusionsmodelle zur Erfassung der Sulfatreduktion in eutrophen marinen Sedimenten

Das Berner'sche Diffusionsmodell (Berner, 1964; 2.9.1.3) wurde für alle Sedimentkerne angewendet, bei denen die Voraussetzung für seine Anwendung, nämlich eine exponentielle Abnahme der Sulfat-Konzentration, beobachtet wurde. In keinem Fall konnte das Modell die Sulfatreduktions-Raten im Vertikalprofil jedoch ausreichend beschreiben (Abbildung 57 in 3.5). Ein Vergleich der über die Sedimenttiefe integrierten Sulfatreduktions-Raten ergibt, daß das Modell zu einer Unterschätzung von 81 bis 99% führte. Da das Modell auf dem Abbau organischen Kohlenstoffs mit einer Kinetik 1. Ordnung (exponentielle Abnahme) in Bezug auf Zeit und Sedimenttiefe beruht, war es nicht in der Lage, distinkte Maxima im Vertikalprofil zu beschreiben.

In einem einzigen Fall ergab ausnahmsweise die Anwendung des Modells durch die getrennte Berechnung der Sulfatreduktions-Raten für zwei Sediment-Horizonte (0-4 und 4-6 cm) vergleichbare, exponentiell abnehmende Raten (19.5.1994, Hiddensee; Abbildung 56). So deuten die Aminosäure- und Fettsäure-Konzentrationen in diesem Vertikalprofil auf einen kurz zuvor stattgefundenen Eintrag an organischem Material hin (s. auch 4.3.2, letzter Absatz). In anderen Fällen führte auch eine Unterteilung der Vertikalprofile (Jørgensen, 1978c) nicht zu einem realistischen Ergebnis.

Das Berner'sche Modell hat sich als nützliches Werkzeug zur Beschreibung des Abbaus organischen Kohlenstoffs durch die dissimilatorische Sulfatreduktion in vielen offshore-Sedimenten bewährt (Westrich & Berner, 1984). Es eignet sich jedoch weniger für eutrophe Küsten-Sedimente, die sowohl durch eine starke zeitliche und räumliche Variabilität der Konzentration organischen Kohlenstoffs und anderer Einflußgrößen als auch durch hochdynamische Wechselbeziehungen zwischen verschiedenen Abbauwegen gekennzeichnet sind. Insbesondere berücksichtigt es nicht die beobachteten Zusammenhänge zwischen Redox-Gradienten und organischem Kohlenstoff, die vermutlich ein entscheidendes Steuergrößen-Paar in diesen Sedimenten darstellt (s. Zusammenfassung von 4.2).

4.3.7 Kritische Schlußbetrachtung und Indizien für Aggregat- und Konsortien-interne Stoff- und Energieflüsse

Zur Untersuchung des Abbaus organischen Kohlenstoffs in marinen Sedimenten und seiner potentiellen Steuergrößen stellen die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Porenwassers wichtige Bezugsgrößen dar. Auch in dieser Untersuchung basierten viele Schlußfolgerungen auf Messungen im Porenwasser. Aus dem Vergleich von mikrobiellen Aktivitäten mit Messungen im Porenwasser traten oft scheinbar widersprüchliche Ergebnisse auf (s.u.). Das ist aber nicht verwunderlich, da das Porenwasser einen recht groben Vermittler zwischen dem Ort der bakteriellen Aktivität und dem Beobachter darstellt, wenn man sich vorstellt, daß die Sediment-Mikroflora zum größten Teil in Aggregaten, Mikrofloken und auf Partikeln lebt (Lewis & Gattie, 1990). Einige Beobachtungen in dieser Untersuchung deuten darauf hin, daß der Abbau organischen Kohlenstoffs in eutrophen marinen Sedimenten im allgemeinen und die dissimilatorische Sulfatreduktion im besonderen vorwiegend in Aggregaten oder auf deren Oberflächen stattfindet. Diese Punkte seien noch einmal kurz zusammengefaßt:

- *Erst eine rigorose Änderung der physikalisch-chemischen Parameter im Porenwasser haben einen Einfluß auf die dissimilatorische Sulfatreduktion:* Dies wurde vor allem bei der Erhöhung der Sulfatreduktions-Raten durch sehr hohe Sulfat-Konzentrationen (11-52 mM) deutlich, die weit über dem Schwellenwert lagen, ab der eine Stimulierung der dissimilatorischen Sulfatreduktion in Reinkultur (1 mM) oder in marinen Sedimenten (2-4 mM) nicht mehr zu erwarten ist (4.2.2.2). Aber auch die fehlende direkte Beeinflussung durch einzelne potentielle Steuergrößen im Porenwasser in Freiland-Untersuchungen (4.2.1.1, 4.2.2.1, 4.2.3.1) könnte ein Hinweis darauf sein.

- Die Existenz von „kurzgeschlossenen“ Kreisläufen, die sich im Porenwasser nicht bemerkbar machen. Hierfür spricht insbesondere die Diskrepanz zwischen Sulfatreduktions-Raten und Turnover-Raten (4.3.5.4), die sehr wahrscheinlich durch eine Unterschätzung des Acetat-Pools zustande kommt. Weitere Indizien für „kurzgeschlossene“ Kreisläufe sind das hohe Mineralisierungspotential (V_{\max}) und die Anpassung an hohe Konzentrationen organischen Kohlenstoffs (hoher K_m) bei gleichzeitig relativ niedrigen Konzentrationen leicht verfügbarer organischer Verbindungen im Porenwasser.
- Oxidierte Sedimente können Orte gesteigerter Sulfatreduktion sein. Eine O_2 -Toleranz und die Nutzung von O_2 als Elektronen-Akzeptor durch Sulfat-reduzierende Bakterien ist zwar mittlerweile nachgewiesen, doch die Enzyme, die an der dissimilatorischen Sulfatreduktion beteiligt sind, benötigen ein niedriges Redoxpotential. Dieses könnten Sulfatreduzierer in Aggregaten finden.

Die Messung von Sulfatreduktions-Raten in oxidierten Sedimentschichten bzw. „fecal pellets“ in Sauerstoff-haltigem Wasser führten schon vor fast zwei Jahrzehnten zu theoretischen Berechnungen über die mögliche Existenz von „Mikronischen“ (Jørgensen, 1977a). Diese führten zu der Aussage, daß der Durchmesser einer „Mikronische“, in deren Zentrum reduzierte Bedingungen vorzufinden sind, in Abhängigkeit von der angrenzenden Sauerstoff-Konzentration zwischen 100 μm und mehreren Millimetern betragen muß. Diese Berechnungen fanden auf der Annahme einer idealen Kugel statt.

Diese Idealisierung berücksichtigte aber nicht die Besiedlung der Partikel oder Aggregate durch Bakterien. Die Oberfläche eines kugelförmigen Partikels mit 100 μm Durchmesser, der mit einer Schicht von 40000 Bakterien (Durchmesser: 1 μm) vollständig bewachsen ist, wird beispielsweise um das Vierfache vergrößert. Dabei wird die gesamte Fläche der Bakterien als potentielle Sauerstoff-verbrauchende Fläche angesehen. Der Diffusionsfluß F zu einem kugelförmigen Objekt wird als eine Funktion der Partikeloberfläche, der Diffusivität und der (O_2 -)Konzentration ausgedrückt (von-Smoluchowski-Gleichung):

$$F = -4 \pi D R_A (C_1 - C_0)$$

D_0 : Diffusionskoeffizient für Sauerstoff in Biofilmen ($1,5 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$; Christensen & Characklis, 1990)

R_A : Radius des Aggregats

C_1 : O_2 -Konzentration an der Aggregat-Oberfläche

C_0 : O_2 -Konzentration außerhalb des Diffusions-Einflußbereichs

Durch eine vierfache Vergrößerung der Oberfläche nimmt die „effektive“, in die Berechnung eingehende Radius-Länge und damit der Diffusionsfluß (z.B. Sauerstoff-Verbrauch), entsprechend um das Doppelte zu.

Wenn sich unter der ersten Bakterien-schicht weitere befinden, verdoppelt sich annähernd mit jeder weiteren Schicht die „Respirations-Fläche“. Es findet keine vollständige Verdoppelung statt, weil mit jeder Schicht, die näher am Zentrum des Aggregats liegt, immer weniger Bakterien Platz haben. Dies ist vernachlässigbar, wenn R_A viel größer ist als der Radius der Bakterien (r). Der „effektive“ Radius und mit ihm auch die Fluß- bzw. Verbrauchsrate nehmen mit dem Faktor $\sqrt{2}$ zu (genau genommen nähert sich die Zunahme mit jeder weiteren Schicht immer mehr $\sqrt{2}$). In Abbildung 64 ist die Oberflächen-zunahme des Aggregats durch die Bakterien und die Verbrauchsrate von Sauerstoff in Richtung Zentrum, ausgehend von der Aggregat-Oberfläche (=0) dargestellt. In diesem hypothetischen Aggregat haben die Bakterien, die die einzelnen Schichten zu $\frac{1}{4}$ bewachen, einen einheitlichen Durchmesser von 1 μm . Die Sauerstoff-Konzentration außerhalb des Aggregats betrage 100 nmol cm^{-3} . Für die Berechnung des Diffusionsflusses von Sauerstoff wurden folgende Annahmen gemacht:

- Diffusionsprozesse sind der einzige limitierende Faktor bei der Sauerstoff-Verteilung auf einem kleinskaligen Raum von wenigen μm in Aggregaten, die von Porenwasser umgeben sind (Diffusions-Grenzschicht; Jørgensen & Revsbech, 1985).
- Die Konzentration der diffundierenden Verbindung an den Bakterien-Oberflächen ist Null. Diese Annahme geht von einer maximalen Aufnahmerate aus und ist gerechtfertigt, da kleinste Organismen die größte Aufnahme-Effizienz aufweisen (Aufnahme-Effizienz = $3 D / r^2$; Koch, 1990). Sie ist bei den Bakterien des hypothetischen Aggregats ($r=0,5 \mu\text{m}$) 16mal höher als bei Organismen mit einem Radius von 2 μm .
- Die Enzym-Kinetik als co-limitierende Größe hat keinen Einfluß auf die Sauerstoff-Aufnahme. Wieder wird von einer maximalen Aufnahmerate ausgegangen. Sauerstoff liegt (zumindest an der Aggregat-Oberfläche) in Substratsättigung vor.

Es wäre somit möglich, daß durch die Oberflächen-Vergrößerung die Sauerstoff-Konzentration in „Mikronischen“ schneller abnimmt als man mit O_2 -Mikrosonden erfassen kann. Die empfindlichsten Elektroden haben eine „Meßspitze“ von ca. 2 μm , die sich konisch zum Schaft erweitert. Eine Erfassung der Sauerstoff-Verteilung in Systemen von wenigen μm ist nicht möglich, da Messungen zu einer signifikanten Störung der Diffusionsprozesse führen würden.

Aufgrund der in dieser Untersuchung vorgestellten Ergebnisse und der theoretischen Berechnungen sind Aggregat-interne anaerobe Stoffwechsel-Prozesse auch bei relativer Nähe (wenige μm) von Sauerstoff denkbar. Exopolymere übernehmen dabei eine wichtige Rolle bei der aktiven oder passiven Regulation mit Hilfe verschiedenster Mechanismen der Beziehungen zur unmittelbaren Umgebung der Zellen (Decho, 1990; Heise, 1995). Metabolite könnten so unmittelbar zwischen verschiedenen physiologischen Bakteriengruppen ausgetauscht und sofort weiterverwendet werden. Ein bekanntes Beispiel für eine „kommensalische“ Beziehung zwischen verschiedenen Bakteriengruppen in Mischkulturen ist der sogenannte „Interspecies Hydrogen Transfer“, bei dem die Wasserstoff-konsumierenden Bakterien (z.B. Sulfatreduzierer) für die Stimulation der Wasserstoff-produzierenden Bakterien (Fermentierer) sorgen (Nanninga & Gottschal, 1985), die damit gleichzeitig Substrate für erstere schneller nachliefern.

Oxische Bedingungen im Porenwasser erleichtern die Hydrolyse von Biopolymeren. Die dabei entstehenden Monomere können an Aggregaten aerob umgesetzt werden und führen zu einem hohen Sauerstoff-Verbrauch, der den fermentativen Abbau organischen Kohlenstoffs fördert. Fermentationsprodukte, wie z.B. Acetat, würden dann im Inneren der Aggregate direkt den Sulfatreduzieren zur Verfügung stehen. Durch die sofortige Oxidation würden die Fermentationsprodukte (im Gleichgewichtszustand des Systems Porenwasser-Aggregat) nur in sehr kleinen Konzentrationen im Porenwasser auftauchen. Die Turnover-Rate von Acetat beispielsweise könnte auf Grundlage der Konzentrations-Bestimmungen im Porenwasser um ein Vielfaches unterschätzt werden (4.3.5.4).

Abschließend soll eine Computer-Simulation diese Situation veranschaulichen. Das Computer-Programm „Stoffwechsel“ (Vers. 2.3), das seine Berechnungen aufgrund der Wahrscheinlichkeiten von Reaktionen durchführt, wurde freundlicherweise von Ronald Schmidt, Uni Münster, zur Verfügung gestellt und wurde zur Simulation anaerober Stoffwechselprozesse in *Nereis diversicolor* entwickelt. 35 verschiedene Reaktionen (Photosynthese, O_2 -Respiration, wichtige Schritte des Tricarbonsäure-Zyklus, mehrere Fermentations-Prozesse, Sulfatreduktion mit Thiosulfat als „Weiche“) und beteiligte Metabolite, die in marinen Sedimenten eine Rolle spielen (Glukose, Leucin, Glutamat, Acetat, Butyrat, u.v.a.), gingen in die Berechnungen ein. Die Wahrscheinlichkeiten der Reaktionen sind frei wählbar. Für die durchgeführten Berechnungen ist $p=1$ für den Glukose-Verbrauch durch Fermentation (u.a. zu Acetat, Butyrat, Propionat und Succinat) und O_2 -Respiration, $p=1$ für andere Acetat-produzierende Reaktionen und $p=0,1$ für die Acetat- und Butyrat-Oxidation durch Sulfatreduktion. Dem System wurde genügend Sulfat zur Verfügung gestellt (in einem realistischen Verhältnis zu anderen Metaboliten). Obwohl die dissimilatorische Sulfatreduktion der einzige Acetat- und Butyrat-verbrauchende Prozess war und mit einer relativ geringen Wahrscheinlichkeit belegt war,

wurden diese beiden Verbindungen ungefähr 500mal umgesetzt, tauchten aber außerhalb des Systems nur sporadisch auf (Abbildung 65).

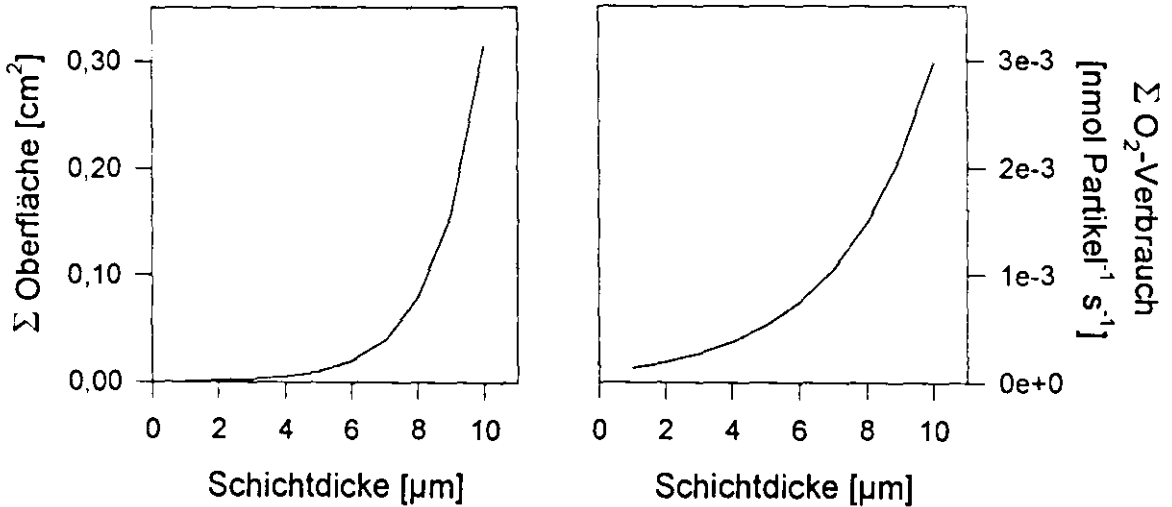


Abbildung 64: Oberflächenzunahme (links) und Verbrauchsrate (rechts) eines hypothetischen, mit Mikroorganismen bewachsenen Aggregats (Erläuterung s. Text).

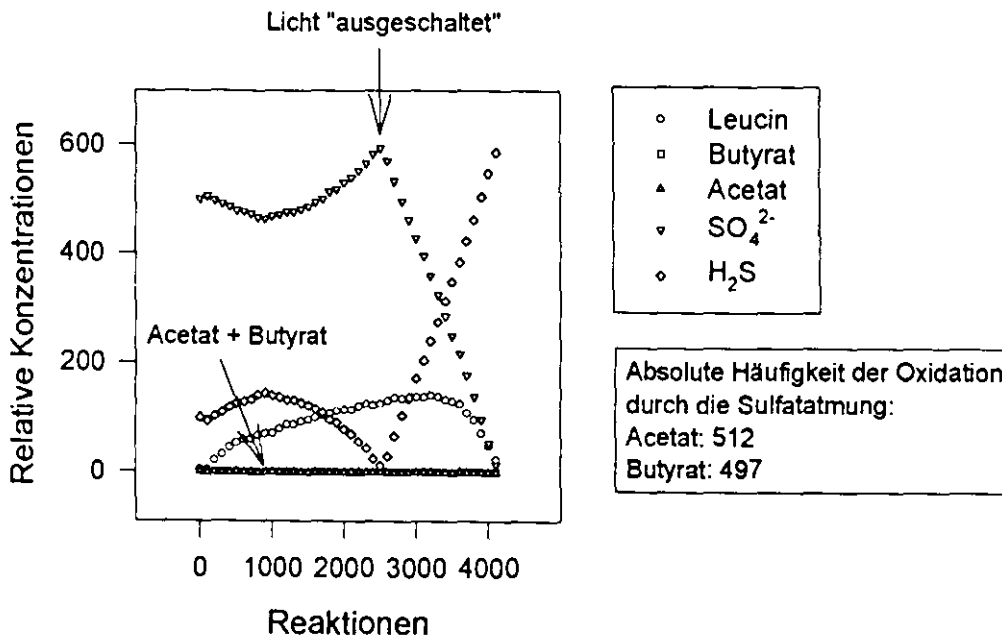


Abbildung 65: Computer-Simulation eines einfachen mikrobiell gesteuerten Stoff-Flusses im Oberflächen-Sediment (Erläuterung s. Text). „Licht ausgeschaltet“ bedeutet, daß seit diesem Zeitpunkt im System keine Photosynthese mehr betrieben wurde.

5 ZUSAMMENFASSUNG

A 1. Methoden zur Bestimmung von freien Aminosäuren und Fettsäuren wurden für Porenwasser-Proben bzw. für Proben aus Gel-stabilisierten Systemen modifiziert und im Vergleich zu bisherigen Untersuchungen zum Teil verbessert. Während die Bestimmung freier Aminosäuren weitgehend unempfindlich gegenüber der Salzmatrix und der Art der Aufkonzentrierung war, wurde die quantitative Fettsäure-Bestimmung vom Salzgehalt beeinflusst und war abhängig von der Art der Aufkonzentrierung.

A 2. Eine miniaturisierte MPN-Methode zur Keimzahl-Bestimmung von Sulfat-reduzierenden Bakterien wurde auf Basis einer Simultan-Beimpfung in Multidisk-Platten und Inkubation unter Argon-Atmosphäre entwickelt. Ein Vergleich der zellspezifischen Sulfatreduktions-Raten mit anderen Untersuchungen zeigt, daß die Multidisk-MPN gleichwertig mit der herkömmlichen MPN-Methode für Sulfatreduzierer ist. Eine Überimpfung unter Luftsauerstoff war möglich, ohne Einbußen der Keimzahlen hinnehmen zu müssen, und die Handhabung war ungleich effizienter als die herkömmliche Methode.

B 1. In Sediment-Vertikalprofilen der untersuchten Sedimente wurden „Aktivitätshorizonte“ beobachtet, die durch distinkte Maxima von Sulfatreduktions-Raten unmittelbar unter der Sedimentoberfläche bzw. in den obersten Zentimetern gekennzeichnet waren. Diese Maxima (bis zu $1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$) korrespondierten oft mit steilen Redox-Gradienten im oxischen und suboxischen Bereich. Maxima von Sulfatreduktions-Raten im durchgehend anoxischen Bereich traten seltener auf und waren weniger stark ausgeprägt (bis zu $410 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$).

B 2. An der Sedimentoberfläche (0-1 cm) gingen maximale Sulfatreduktions-Raten und maximaler Thiosulfat-Umsatz mit höchsten Abundanzen von Sulfatreduzieren und heterotrophen denitrifizierenden Schwefel-oxidierenden Bakterien einher. In anoxischen Sediment-Mikrokosmen reicherte sich Thiosulfat im Gegensatz zu suboxischen Ansätzen an. In den Sedimenten der Küsten-Standorte laufen reduktive und oxidative Prozesse des Schwefelkreislaufs daher sowohl unter oxidierten als auch unter reduzierten Bedingungen ab. Ein besonders rascher oxidativer und reduktiver Turnover von Schwefel-Verbindungen findet dabei in suboxischen Sedimenten mit steilen Eh-Gradienten statt.

B 3. Die maximalen Sulfatreduktions-Raten an der Station Hiddensee lagen mit 150 bis $1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$ doppelt so hoch wie an der Station Fährdorf im Salzhaff der

Wismarer Bucht (75 bis 800 nmol cm⁻³ d⁻¹) und gehören zu den höchsten in vergleichbaren Lebensräumen gemessenen Sulfatreduktions-Raten.

B 4. Sulfatreduktions-Raten einerseits und Aminosäuren und Fettsäuren andererseits zeigten oft gegenläufige Verteilungsmuster im Sediment-Vertikalprofil. Die Konzentration der Aminosäuren als auch die der Fettsäuren spielten in diesen Fällen offensichtlich eine entscheidende Rolle bei der Steuerung der dissimilatorischen Sulfatreduktion.

B 5. Im Jahresverlauf wurden die höchsten Sulfatreduktions-Raten im Frühjahr verzeichnet und niedrigere im Sommer und Herbst. Ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen Temperatur und Sulfatreduktions-Raten konnte nicht beobachtet werden. Vielmehr ist die Kombination aus steilen Redox-Gradienten und einem „Initial“-Ereignis (z.B. Sedimentation organischer Substanz) wahrscheinlich für maximale Sulfatreduktions-Raten im Frühjahr verantwortlich.

B 6. Die Abundanzen Sulfat-reduzierender Bakterien im Bodden-Sediment lagen mit bis zu 4×10^6 Zellen cm⁻³ 10 bis 20 mal höher als im Salzhaff- oder Gotland-Sediment. Sowohl im Bodden-Sediment als auch im Sediment des Gotland-Tiefs waren die Abundanzen der Laktat-verwertenden Sulfatreduzierer mit zunehmender Tiefe zugunsten der Acetat-verwertenden Sulfatreduzierer verschoben.

C 1. In Experimenten mit Sediment-Suspensionen unter Glukose-Zugabe und in Experimenten mit Gel-stabilisierten Systemen unter Cellulose-Zugabe konnte gezeigt werden, daß eine Beziehung zwischen maximalen Sulfatreduktions-Raten und der Existenz eines Redox-Gradienten besteht. Die Sulfatreduktions-Raten in Ansätzen dieser Experimente mit Redox-Gradienten waren zwei bis dreimal so hoch wie in rein anoxischen Ansätzen. In Sediment-Suspensionen ohne zusätzlichen organischen Kohlenstoff zeigten hingegen die rein anoxischen Ansätze die höchsten Sulfatreduktions-Raten.

C 2. Eine Erhöhung der Sulfat-Konzentration in Kurzzeit-Experimenten mit anoxischen Sediment-Suspensionen von 11 auf 52 mM führte zu einer signifikanten Zunahme der Sulfatreduktions-Rate. Der Konzentrationsbereich für eine Raten-Limitierung lag damit weit über dem in der Literatur beschriebenen Schwellenwert für marine Sedimente (3 mM) und Reinkulturen von Sulfatreduzierern (1 mM).

C 3. Eine Erhöhung der Salinität in Mikrokosmos-Experimenten (mit Suspensionen vom Standort Fährdorf) hemmte die Sulfatreduktions-Raten zu etwa 50%. In den Sedimenten der Küsten-Standorte sind sowohl marine als auch Süßwasser-Stämme von Sulfatreduzierern vertreten.

C 4. Die Hypertrophierung von Sediment-Mikrokosmen mit Glukose hatte eine Freisetzung charakteristischer Aminosäuren und Fettsäuren zur Folge. Leucin war unter verschiedenen Redox-Bedingungen mit Abstand das wichtigste Zwischenprodukt beim Abbau von Glukose. Diesem Abbauweg (wahrscheinlich über Glutamin) kommt in Küsten-Sedimenten offenbar eine wichtige Rolle zu. Das Potential für die gleichzeitig stattfindende Ammonium-Assimilation muß dabei sehr hoch sein. Diese Transformation kann daher als Schlüsselstelle im Stickstoff- und Kohlenstoff-Kreislauf angesehen werden. Threonin und Propionat reicherten sich unter anoxischen Bedingungen im Vergleich zu oxischen und suboxischen Bedingungen stark an. Das mag darauf hinweisen, daß in reduzierten Sediment-Horizonten oder in permanent anoxischen Sedimenten die Fermentation von Threonin zu Propionat (wahrscheinlich durch Clostridien) eine wichtige Rolle spielt. Die Fermentations-Produkte Butyrat, Acetat und Succinat lagen sowohl in suboxischen als auch in anoxischen Sediment-Mikrokosmen im Verhältnis von 6:4:1 vor.

D 1. Die Anwendung der Michaelis-Menten-Kinetik für die Acetat-Mineralisierung ergab in Freiland-Untersuchungen Turnover-Raten von 0,6 bis 34 nmol cm⁻³ d⁻¹. Der aufgrund von Molybdat-Hemmung der dissimilatorischen Sulfatreduktion zugeschriebene Anteil an der Acetat-Mineralisierung belief sich auf bis zu 53%. Sowohl Acetat-Turnover-Raten als auch der Anteil der Sulfat-reduzierenden Bakterien an der Acetat-Mineralisierung waren meist im Sedimenthorizont mit ausgeprägtem Redox-Gradienten, d.h. unmittelbar unter der Sedimentoberfläche, am höchsten. Dieser Zusammenhang ließ sich auch in Sediment-Mikrokosmen feststellen.

D 2. Molybdat hemmte die dissimilatorische Sulfatreduktion um über 90%. Die Hemmwirkung auf die Mineralisierung organischen Kohlenstoffs war hingegen von der Konzentration der Kohlenstoff-Quellen abhängig. Eine Erhöhung der Mineralisierungsraten und eine Teilhemmung der Thymidin-Inkorporation unter Ausschluß der dissimilatorischen Sulfatreduktion deuten auf eine enge Kopplung an andere Abbauprozesse vor allem in Küsten-Sedimenten. V_{max} und K_m sowie der Molybdat-hemmbarer Anteil an der Acetat-Mineralisierung lagen in Sediment-Horizonten mit steilen Eh-Gradienten höher als in durchgehend reduzierten Bereichen. Die Acetat-Turnover-Raten waren um zwei bis drei Größenordnungen niedriger als die Sulfatreduktions-Raten

Die Ergebnisse der Untersuchung lassen auf die Existenz zweier unterschiedlicher Populationen von Sulfat-reduzierenden Bakterien schließen:

a.) Copiotrophe, an variierende Umweltbedingungen angepaßte Sulfat-reduzierende Bakterien mit hohen V_{max} - und K_m -Werten sowie hohen Turnover-Raten. Deren hohe Sulfatreduktions-Raten bei meist oxischen und suboxischen Verhältnissen ist nur mit einer Einbindung in Konsortien und einer direkten Abhängigkeit von den vorherrschenden Diffusions- und Redox-Gradienten zu erklären. Diese an der Sedimentoberfläche angesiedelten Populationen wiesen hohe Abundanzen Laktat-verwertender Sulfatreduzierer auf.

b) An niedrige Konzentrationen organischen Kohlenstoffs und permanent niedrige Redoxpotentiale angepaßte „autochtone“ Sulfatreduzierer.

Die aus der Sulfat-Konzentration des Porenwassers und der Anwendung des Berner'schen Diffusionsmodells errechneten Sulfatreduktions-Raten lagen immer um ein Mehrfaches unter den direkt gemessenen Raten. Daher kann dieses Modell auf die untersuchten Sedimente nicht angewendet werden.

Die Anwendung eines Modells, das auf der Abnahme des Redoxpotentials im Porenwassers und auf einer räumlichen Projektion der thermodynamisch favorisierten Energie-Gewinnung (Redox-Reaktionen) auf das Sediment-Vertikalprofil basiert, ist insbesondere für hochdynamische Küsten-Standorte nicht gerechtfertigt. Die hervorragende Anpassung von Sulfatreduzierern an oxidierte Bedingungen deutet vielmehr darauf hin, daß ein Großteil des Abbaus organischen Kohlenstoffs durch die dissimilatorische Sulfatreduktion in Aggregat- und Konsortien-interne Stoff- und Energie-Flüsse eingebettet ist. Die Konzentrationen an Elektronen-Donatoren und -Akzeptoren wirken hier als entscheidende Steuergrößen mit wechselndem Einfluß.

SUMMARY

The focus of this study was the dissimilatory sulfate reduction (DSR) dynamics and its role for carbon mineralization in Baltic Sea sediments. Two study sites at the Southwestern Baltic coast (Fährdorf and Hiddensee) and two stations in the Gotland Depth (Central Baltic) were sampled between April 1992 and June 1994. Sulfate reduction rates (SRR) and rates of carbon mineralization, viable cell counts (Most Probable Number - MPN) of sulfate reducing bacteria (SRB) as well as factors potentially regulating DSR, i.e. redox potential, pH, concentration of sulfate, dissolved free amino acids (DFAA) and volatile fatty acids (VFA) were measured in these sediments. In order to point out the influence of regulating factors to SRR laboratory experiments using sediment microcosms and gel-stabilized systems were performed under controlled conditions.

A 1. Methods for the determination of DFAA and VFA by HPLC in samples of pore water and gel-stabilized systems were modified and improved.

A 2. A microtechnique of the MPN-analysis of SRB based on simultaneous inoculation into multidisk plates and incubation under Argon atmosphere was developed. Its application resulted in equivalent cell-specific SRR compared to recent data from literature determined by the conventional MPN-method, but was much more efficient in handling.

B 1. In vertical sediment profiles layers of elevated SRR were observed. These distinct maxima of SRR often corresponded to steep redox gradients in the oxic and suboxic range beneath the sediment surface (up to $1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$). However, maxima throughout anoxic layers did not exceed $410 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$.

B 2. Maximal SRR at the study site Hiddensee (150 to $1800 \text{ nmol cm}^{-3} \text{ d}^{-1}$) are among the highest SRR in comparable habitats and were two times higher than SRR at the station Fährdorf.

B 3. At the sediment surface (0-1 cm sediment depth) maxima of SRR and thiosulfate turnover coincided with highest cell counts of SRB and heterotrophic denitrifying sulfur-oxidizing bacteria. Thiosulfate accumulated in anoxic but not in suboxic sediment microcosms. These results indicate that both reductive and oxidative turnover

of sulfur compounds took place, particularly in suboxic sediments characterized by steep Eh-gradients.

B 4. SRR as well as concentrations of DFAA and VFA on the other hand often showed reverse distribution patterns in the vertical profile of the sediments. Concentrations of DFAA and VFA could therefore be important factors regulating DSR.

B 5. SRR were higher in spring than in other seasons, apparently independent of temperature. Maximal SRR in spring could rather be attributed to the combination of a steep Eh-gradient and an "initial event", e.g. sedimentation of organic material.

B 6. Maximum values of MPN were found at Hiddensee (4×10^6 cells cm^{-3}) and exceeded MPN-values determined in sediments of Fährdorf and the Gotland depth 10 to 20 times. MPN of SRB growing on acetate increased, while MPN of SRB growing on lactate decreased with increasing sediment depth at Hiddensee and in the Gotland depth.

C 1. Experiments using sediment microcosms and gel-stabilized systems supplied with glucose or cellulose, respectively, revealed two to three times higher SRR within Eh-gradients than under pure anoxic conditions. However, sediment microcosms without additional organic carbon showed maximal SRR after anoxic incubation compared to oxic and suboxic incubation.

C 2. Increasing sulfate concentration (11 to 52 mM) before anoxic short time incubation in sediment microcosms resulted in a significant increase of SRR. In these experiments the rate-limiting concentration of sulfate exceeded the literature-derived threshold values for marine sediments (3 mM) or pure cultures of SRB (1 mM) by an order of magnitude.

C 3. Increasing salinity inhibited SRR by 50% in sediment microcosms containing sediment from the study site Fährdorf, indicating the coexistence of fresh water and marine species of SRB in Southwestern Baltic sediments.

C 4. Characteristic DFAA and VFA were released after addition of glucose on sediment microcosms. Leucine was the most important intermediate product of glucose transformation under different redox conditions. This degradation pathway (probably with glutamine as a precursor) seems to play an important role in the investigated coastal sediments indicating a very high potential for simultaneous ammonium assimilation. An

accumulation of threonine and propionate under anoxic conditions indicates that the fermentation of threonine to propionate (typically carried out by *Clostridia*) is also involved in the degradation of organic carbon. Anoxic and suboxic sediment microcosms revealed a concentration ratio of 6:4:1 for the fermentation products butyrate, acetate, and succinate, respectively.

D 1. Acetate turnover rates of 0.6 to 34 nmol cm⁻³ d⁻¹ were calculated after analysis of mineralization measurements using the kinetic model of Michaelis-Menten. The molybdate-inhibited acetate mineralization - the portion of the mineralization, which was attributed to DSR - reached 53%. This portion as well as acetate turnover rates, V_{\max} and K_m (of acetate) were highest in sediment layers characterized by a steep Eh-gradient *in situ* and/or in sediment microcosms under controlled redox milieu. In all cases rates of acetate turnover were lower than SRR by two to three orders of magnitude.

D 2. Molybdate inhibited DSR by at least 90%, whereas molybdate-inhibition of organic carbon mineralization was dependent of carbon substrate concentration. Particularly in coastal sediments the exclusion of DSR by molybdate causes partial inhibition of thymidine incorporation and stimulates rates of organic carbon mineralization at lower substrate concentration levels. This supports the model of extremely narrow coupling of DSR to other metabolic processes.

Results of this study suggest the existence of two different populations of SRB:

a) Copiotrophic, versatile SRB characterized by high V_{\max} , K_m and turnover rates of organic carbon at the sediment surface (0-1 cm), showing high cell numbers of lactate-using species. Surprisingly high SRR in oxic and suboxic sediment layers may be explained by an "embedding" in consortia and aggregates, and the prevalent properties of diffusion and Eh herein.

b) An "autochthonous" population which is adapted to low concentrations of organic carbon and permanently low redoxpotential.

A comparison between calculated SRR using Berner's model of diffusion and directly measured SRR revealed always lower values of the former. Therefore the applied model did not describe DSR in the investigated sediments properly.

Furthermore, the results of this study are not in accord with a model based upon the spatial projection of thermodynamically favoured redox-reactions on to the vertical

sediment profile. This is particularly true for highly dynamic coastal sediments. On the contrary, the prominent adaptation of SRB to oxidized conditions strongly suggests an embedding of DSR in the carbon- and energy-flow within aggregates. Concentrations of electron donors and electron acceptors herein act as predominant regulating factors with alternating influence.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- Abdollahi, H. & D.B. Nedwell (1979): Seasonal temperature as a factor influencing bacterial sulfate reduction in a saltmarsh sediment. *Microb. Ecol.*, 5, 73-79.
- Abdollahi, H. & J.W.T. Wimpenny (1990): Effects of oxygen on the growth of *Desulfovibrio desulfuricans*. *J. Gen. Microbiol.*, 136, 1025-1030.
- Aeckersberg, F., F. Bak & F. Widdel (1991): Anaerobic oxidation of saturated hydrocarbons to CO₂ by a new type of sulfate-reducing bacterium. *Arch. Microbiol.*, 156, 5-14.
- Albert, D.B. (1985): Sulfate reduction and iron sulfide formation in sediments of the Pamlico River estuary, North Carolina. Ph.D., The University of North Carolina, Chapel Hill, NC.
- Aller, R.C. & J.Y. Yingst (1980): Relationships between microbial distributions and the anaerobic decomposition of organic matter in surface sediments of Long Island Sound, U.S.A. *Mar. Biol.*, 56, 29-42.
- Alperin, M.J. & W.S. Reeburgh (1985): Inhibition experiments on anaerobic methane oxidation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 50(4), 940-945.
- Amann, R.I., J. Stromley, R. Devereux, R. Key & D.A. Stahl (1992): Molecular and microscopic identification of sulfate-reducing bacteria in multispecies biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(2), 614-623.
- Ansbæk, J. & T.H. Blackburn (1980): A method for the analysis of acetate turnover in a coastal marine sediment. *Microb. Ecol.*, 5, 253-264.
- Bak, F. & N. Pfennig (1987): Chemolithotrophic growth of *Desulfovibrio sulfodismutans* sp. nov. by disproportion of inorganic sulfur compounds. *Arch. Microbiol.*, 147, 184-187.
- Bak, F. & N. Pfennig (1991a): Microbial sulfate reduction in littoral sediment of Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 85, 31-42.
- Bak, F. & N. Pfennig (1991b): Sulfate-reducing bacteria in littoral sediment of Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 85(1), 43-52.
- Banat, I.M., E.B. Lindstrøm, D.B. Nedwell & M.T. Balba (1981): Evidence for coexistence of two distinct functional groups of sulfate-reducing bacteria in salt marsh sediment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42(6), 985-992.
- Barker, H.A. (1981): Amino acid degradation by anaerobic bacteria. *Ann. Rev. Biochem.*, 50, 23-40.
- Bather, J.M. & J.P. Riley (1954). *J. du Conseil*, 20, 237-241.
- Battersby, N.S., S.J. Malcolm, C.M. Brown & S.O. Stanley (1985): Sulphate reduction in oxic and suboxic North-East Atlantic sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 31, 225-228.
- Berner, R.A. (1964): An idealized model of dissolved sulfate distribution in recent sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 28, 1497-1503.

- Berner, R.A. (1980): Early diagenesis. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Bidlingmeyer, B.A., S. Cohen & T.L. Tarvin (1984): Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatization. *J.Chrom.*, 336, 93-104.
- Blackburn, T.H. (1987): Microbial food webs in sediments. In T.H. Blackburn & J. Sorensen (Eds.), Nitrogen cycling in coastal marine environments. (pp 171-206). Chichester: John Wiley & Sons, Inc.
- Blackburn, T.H. (1988): Benthic Mineralization and bacterial production. In T.H. Blackburn & J. Sorensen (Eds.), Nitrogen cycling in coastal marine environments. (pp 175-189). Chichester: John Wiley & Sons, Inc.
- Blum, L.K. & A.L. Mills (1991): Microbial growth and activity during the initial stages of seagrass decomposition. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 70, 73-82.
- Boudreau, B.P. & J.T. Westrich (1984): The dependence of bacterial sulfate reduction on sulfate concentration in marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 48, 2503-2516.
- Britz, M.L. & R.G. Wilkinson (1982): Leucine dissimilation to isovaleric and isocaproic acids by cell suspensions of amino acid fermenting anaerobes: the Stickland reaction revisited. *Can. J. Microbiol.*, 28, 291-300.
- Burdige, D.J. (1991): Microbial processes affecting alanine and glutamic acid in anoxic marine sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 85, 211-232.
- Bussmann, I. & W. Reichardt (1991): Sulfate-reducing bacteria in temporarily oxic sediments with bivalves. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 78, 97-102.
- Carlucci, A.F., D.B. Craven & D.M. Wolgast (1991): Microbial populations in surface films and subsurface waters: amino acid metabolism and growth. *Mar. Biol.*, 108, 329-339.
- Chambers, L.A. & P.A. Trudinger (1979): Microbiological fractionation of stable sulfur isotopes: a review and critique. *Geomicrobiol. J.*, 1, 249-293.
- Chin-Leo, G. & D.L. Kirchmann (1988): Estimating bacterial production in marine waters from the simultaneous incorporation of thymidine and leucine. *Appl. Environ. Microb.*, 54, 1934-1939.
- Christensen, B.E. & W.G. Characklis (1990): Physical and chemical properties of biofilms. In W. G. Characklis & K. C. Marshall (Eds.), Biofilms (pp. 93-130). New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons, Inc.
- Christensen, D. (1984): Determination of substrates oxidized by sulfate reduction in intact cores of marine sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 29(1), 189-192.
- Christensen, D. & T.H. Blackburn (1982): Turnover of ¹⁴C- labelled acetate in marine sediments. *Mar. Biol.*, 71, 113-119.
- Cline, J.D. (1969): Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnol. Oceanogr.*, 14, 454-458.
- Cohen, Y. (1984): Oxygenic photosynthesis, anoxygenic photosynthesis, and sulfate reduction in cyanobacterial mats. In M. J. Klug & C. A. Ready (Eds.), Current

- perspectives in microbial ecology (pp. 435-441). Washington, D.C.: American Society for Microbiology.
- Colberg, P.J. (1988): Anaerobic microbial degradation of cellulose, lignin, oligolignols, and monoaromatic lignin derivatives. In A. J. B. Zehnder (Ed.), Biology of anaerobic microorganisms (pp. 333-372). New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley & Sons.
- Cord-Ruwisch, R. (1985): A quick method for the determination of dissolved and precipitated sulfides in cultures of sulfate-reducing bacteria. *J. Microbiol. Meth.*, 4, 33-36.
- Cypionka, H. (1989): Characterization of sulfate transport in *Desulfovibrio desulfuricans*. *Arch. Microbiol.*, 152, 237-243.
- Dalsgaard, T., & F. Bak (1994): Nitrate reduction in a sulfate-reducing bacterium, *Desulfovibrio desulfuricans*, isolated from rice paddy soil: sulfide inhibition, kinetics, and regulation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 291-297.
- Dannenberg, S., M. Kroder, W. Dilling & H. Cypionka (1992): Oxidation of H₂, organic compounds and inorganic sulfur compounds coupled to reduction of O₂ or nitrate by sulfate-reducing bacteria. *Arch. Microbiol.*, 158, 93-99.
- Decho, A.W. (1990): Microbial exopolymer secretions in ocean environments: Their role(s) in food webs and marine processes. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, 28, 73-153.
- Dilling, W. & H. Cypionka (1990): Aerobic respiration in sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol. Let.*, 71, 123-128.
- Duyl, F.C.v. & A.J. Kop (1990): Seasonal patterns of bacterial production and biomass in intertidal sediments of the Western Dutch Wadden Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 59, 249-261.
- Dyrssen, D. & K. Kremling (1990): Increasing hydrogen sulfide concentration and trace metal behaviour in the anoxic Baltic waters. *Mar. Chem.*, 30, 193-204.
- Elsden, S.R. & M.G. Hilton (1978): Volatile acid production from threonine, valine, leucine and isoleucine by Clostridia. *Arch. Microbiol.*, 117, 165-172.
- Fenchel, T.M. & T.H. Blackburn (1979): Bacteria and mineral cycling. London: Academic Press.
- Findlay, S. E. G., Meyer, J. L. & Edwards, R. T. (1984): Measuring bacterial production via rate of incorporation of ³[H] thymidine into DNA. *J. Microbiol. Meth.*, 2, 57-72.
- Fossing, H. & B.B. Jørgensen (1990): Oxidation and reduction of radiolabeled inorganic sulfur compounds in an estuarine sediment, Kysing Fjord, Denmark. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 54, 2731-2742.
- Fossing, H. & B.B. Jørgensen (1989): Measurement of bacterial sulfate reduction in sediments: evaluation of a single-step chromium reduction method. *Biochem.*, 8, 205-222.
- Fründ, C. & Y. Cohen (1992): Diurnal cycles of sulfate reduction under oxic conditions in cyanobacterial mats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 70-77.

- Fürst, P., L. Pollack, T.A. Graser, H. Godel & P. Stehle (1990): Appraisal of four pre-column derivatization methods for the high-performance liquid chromatographic determination of free amino acids in biological materials. *J. Chrom.*, 499, 557-569.
- Gerlach, S.A. (1978): Food-chain relationships in subtidal silty sand marine sediments and the role of meiofauna in stimulating bacterial productivity. *Oecologia (Berl.)*, 33, 55-69.
- Gerlach, S.A. (1994): Oxygen conditions improve when the salinity in the Baltic Sea decreases. *Mar. Poll. Bull.*, 28(7), 413-416.
- Gibson, G.R., R.J. Parkes & R.A. Herbert (1987): Evaluation of viable counting procedures for the enumeration of sulfate-reducing bacteria in estuarine sediments. *J. Microbiol. Meth.*, 7, 201-210.
- Gilmour, C.C., M.E. Leavitt & M.P. Shiaris (1990): Evidence against incorporation of exogenous thymidine by sulfate-reducing bacteria. *Limnol. Oceanogr.*, 35, 1401-1409.
- Gjerde, D.T., G. Schmuckler & J.S. Fritz (1980): Anion Chromatography with low-conductivity eluents. II., *J. Chrom.*, 187, 35-45.
- Goldhaber, M.B. & I.R. Kaplan (1980): Mechanisms of sulfur incorporation and isotope fractionation during early diagenesis in sediments of the Gulf of California. *Mar. Chem.*, 9, 95-143.
- Graf, G. (1987): Benthic energy flow during a simulated autumn bloom sedimentation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 39, 23-29.
- Grossmann, S. & W. Reichardt (1991): Impact of *Arenicola marina* on bacteria in intertidal sediments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 77, 85-93.
- Hansen, L.S., M. Holmer & T.H. Blackburn (1993): Mineralization of organic nitrogen and carbon (fish food) added to anoxic sediment microcosms: role of sulfate reduction. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 102, 199-204.
- Healey, F.P. (1980): Slope of the Monod Equation as an indicator of advantage in nutrient competition. *Microbiol. Ecol.*(80), 281-286.
- Heise, S. (1995): Der Einfluß von Umweltfaktoren auf die Bildung von exopolymerer Substanz (EPS) durch ein marines Bakterium. Dissertation, Institut für Meereskunde, Universität Kiel.
- Henrichs, S.M. (1992): Early diagenesis of organic matter in marine sediments: progress and perplexity. *Mar. Chem.*, 39, 119-149.
- Hines, M.E., G.T. Banta, A.E. Giblin & J.E. Hobbie (1994): Acetate concentrations and oxidation in salt-marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 39(1), 140-148.
- Hines, M.E. & J.D. Buck (1982): Distribution of methanogenic and sulfate-reducing bacteria in near-shore marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 447-453.
- Hobbie, J.E., R.J. Daley & S. Jasper (1977): Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1225-1228.
- Hollibaugh, F.T. & F. Azam (1983): Microbial degradation of dissolved proteins in seawater. *Limnol. Oceanogr.*, 28(6), 1104-1116.

- Höpner, T. (1981): Design and use of a diffusion sampler for interstitial water from fine grained sediments. *Environm. Techn. Letters*, 2, 187-196.
- Howarth, R.W. (1979): Pyrite: Its rapid formation in a salt marsh and its importance in the ecosystem metabolism. *Science*, 203, 49-51.
- Howarth, R.W. & A. Giblin (1983): Sulfate reduction in the salt marshes at Sapelo Island, Georgia. *Limnol. Oceanogr.*, 28, 70-82.
- Howarth, R.W. & S. Merkel (1984): Pyrite formation and the measurement of sulfate reduction in salt marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 29(3), 598-608.
- Howarth, R.W. & J.M. Teal (1979): Sulfate reduction in a New England salt marsh. *Limnol. Oceanogr.*, 29, 598-608.
- Hüttel, M. (1988): Zur Bedeutung der Makrofauna für die Nährsalzprofile im Wattsediment. *Ber. Institut für Meereskunde Kiel*, 182, 203 pp.
- Ivanov, M.V. (1956): Isotopes in the determination of the sulfate-reduction rate in Lake Belovod. *Mikrobiologiya*, 25, 305-309.
- Ivanov, M.V. (1964): Microbiological processes in the formation of sulfur deposits. Jerusalem: Israel Program for Scientific Translations.
- Jacobson, M.E., J.E. Mackin & D.G. Capone (1987): Ammonium production in sediments inhibited with molybdate: Implications for the sources of ammonium in anoxic marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(10), 2435-2439.
- Jørgensen, B.B. (1990a): A thiosulfate shunt in the sulfur cycle of marine sediments. *Science*, 249(4965), 152-154.
- Jørgensen, B.B. (1990b): The sulfur cycle of freshwater sediments: Role of thiosulfate. *Limnol. Oceanogr.*, 35(6), 1329-1342.
- Jørgensen, B.B. (1977a): Bacterial sulfate reduction within reduced microniches of oxidized marine sediments. *Mar. Biol.*, 41, 7-17.
- Jørgensen, B.B. (1977b): The sulfur cycle of a coastal marine sediment (Limfjorden, Denmark). *Limnol. Oceanogr.*, 22, 814-832.
- Jørgensen, B.B. (1978a): A comparison of methods for the quantification of bacterial sulfate reduction in coastal marine sediments. I. Measurement with radiotracer techniques. *Geomicrobiol. J.*, 1(1), 11-27.
- Jørgensen, B.B. (1978b): A comparison of methods for the quantification of bacterial sulfate reduction in coastal marine sediments. III. Estimation from chemical and bacteriological field data. *Geomicrob. J.*, 1, 49-64.
- Jørgensen, B.B. (1978c): A comparison of methods for the quantification of bacterial sulfate reduction in coastal marine sediments. II. Calculation from mathematical models. *Geomicrob. J.*, 1, 29-48.

- Jørgensen, B.B. & F. Bak (1991): Pathways and microbiology of thiosulfate transformations and sulfate reduction in a marine sediment (Kattegat, Denmark). *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 847-856.
- Jørgensen, B.B. & Y. Cohen (1977): Solar Lake (Sinai) 5. The sulfur cycle of the benthic cyanobacterial mats. *Limnol. Oceanogr.*, 22, 657-666.
- Jørgensen, B.B. & Fenchel, T. (1974): The sulfur cycle of a marine sediment model system. *Mar. Biol.*, 24, 189-201.
- Jørgensen, B.B. & N.P. Revsbech (1985): Diffusive boundary layers and the oxygen uptake of sediments and detritus. *Limnol. Oceanogr.*, 30(1), 111-122.
- Kadota, H., Y. Hata & H. Miyoshi (1966): A new method for estimating the mineralization activity of lake water and sediment. *Mem. Res. Inst. Food Sci. Kyoto Univ.*, 27, 28-30.
- King, G.M. (1983): Sulfate reduction in Georgia salt marsh soils: an evaluation of pyrite formation by use of ^{35}S and ^{55}Fe tracers. *Limnol. Oceanogr.*, 28, 987-995.
- King, G.M. (1990): Effects of added manganic and ferric oxides on sulfate reduction and sulfide oxidation in intertidal sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 73, 131-138.
- King, G.M., B.L. Howes & J.W.H. Dacey (1985): Short-term end products of sulfate reduction in a salt marsh: formation of acid volatile sulfides, elemental sulfur, and pyrite. *Geochim. Cosmochim. Acta.*, 49, 1561-1566.
- King, G.M., M.J. Klug & D.R. Lovley (1983): Metabolism of acetate, methanol, and methylated amines in intertidal sediments of Lowes Cove, Maine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(6), 1848-1853.
- Koch, A.L. (1990): Diffusion: The crucial process in many aspects of the biology of bacteria. In K. C. Marshall (Ed.), *Advances in Microbial Ecology* (pp. 37-70). New York, London: Plenum Press.
- Köster, M. (1993): Mikrobielle Aktivitäten an Grenzflächen. In L.-A. Meyer-Reil (Ed.), *Mikrobiologie des Meeresbodens* (pp. 83-120), Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- Konisky, J. (1990): Inhibitory effects of 2-bromoethanesulfonate and protection by addition of coenzyme M in hydrogen-oxidizing marine enrichment cultures. *FEMS Microb. Ecol.*, 73, 239-242.
- Kühl, M. & B.B. Jørgensen (1992): Microsensor measurements of sulfate reduction and sulfide oxidation in compact microbial communities of aerobic biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 1164-1174.
- Lein, A.Y., M.B. Vaynshteyn, B.B. Namsarayev, Y.V. Kashparova, A.G. Matrosov, V.A. Bondar & M.V. Ivanov (1982): Biogeochemistry of anaerobic diagenesis of recent Baltic Sea sediments. *Geochem. Int.*, 19, 90-103.
- Lewis, D.L. & D.K. Gattie (1990): Effects of cellular aggregation on the ecology of microorganisms. *ASM News*, 56(5), 263-268.
- Lineweaver, H. & D. Burk (1934): The determination of enzyme dissociation constants. *J. Amer. Chem. Soc.*, 56, 658-666.

- Lord, C.J. & T.M. Church (1983): The geochemistry of salt marches: sedimentary iron diffusion, sulfate reduction, and pyritization. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 47, 1381-1391.
- Lovley, D.R. & M.J. Klug (1982): Kinetic analysis of competition between sulfate reducers and methanogens for hydrogen in sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 552-560.
- Luther, G.W., A. Giblin, R.W. Howarth & R.A. Ryans (1982): Pyrite and oxidized iron mineral phases formed from pyrite oxidation in salt marshes and estuarine sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 46, 2665-2669.
- Marmur, T., (1961): A procedure for the isolation of desoxyribonucleic acids from microorganisms. *J. Mol. Biol.*, 3, 208-218.
- Meadows, P.S. & J.I. Campbell (1985): An introduction to marine science, 2nd ed. Glasgow, London: Blackie, New York: Halsted Press.
- Meyer-Reil, L.A. (1987): Seasonal and spatial distribution of extracellular enzymatic activities and microbial incorporation of dissolved organic substrates in marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(8), 1748-1755.
- Michelson, A.R., M.E. Jacobson, M.I. Scranton & J.E. Mackin (1989): Modeling the distribution of acetate in anoxic estuarine sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 34(4), 747-757.
- Miwa, H. (1985): Reversed-phase ion-pair chromatography of some biologically important carboxylic acids as 2-nitrophenylhydrazides. *J. Chrom.*, 333, 215-219.
- Miwa, H., C. Hiyama & M. Yamamoto (1985): High performance liquid chromatography of short- and long-chain fatty acids as 2-nitrophenylhydrazides. *J. Chromat.*, 321, 165-174.
- Miwa, H. & M. Yamamoto (1990): Liquid chromatographic determination of free and total fatty acids in milk and milk products as their 2-nitrophenylhydrazides. *J. Chromatogr.*, 523, 235-246.
- Moriarty, D. J. W. (1986): Measurement of bacterial growth rates in aquatic systems from rates of nucleic acid synthesis. *Adv. Microb. Ecol.*, 9, 245-291.
- Morse, J. W. (1994): Interactions of trace metals with authigenic sulfide minerals: implications for their bioavailability. *Mar. Chem.*, 46, 1-6.
- Moses, C.O., D.K. Nordstrom, J.S. Herman & A.L. Mills (1987): Aqueous pyrite oxidation by dissolved oxygen and by ferric iron. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 51, 1561-1571.
- Mountfort, D.O. & M.P. Bryant (1982): Isolation and characterization of an anaerobic syntrophic benzoate-degrading bacterium from sewage sludge. *Arch. Microbiol.*, 133, 249-256.
- Mueller-Harvey, I. & R.J. Parkes (1987): Measurement of volatile fatty acids in pore water from marine sediments by HPLC. *Est. Coast. Shelf. Sc.*, 25, 567-579.
- Nanninga, H.J. & J.C. Gottschal (1985): Amino acid fermentation and hydrogen transfer in mixed cultures. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 31, 261-269.
- Nealson, K.H. & C.R. Myers (1992): Microbial reduction of manganese and iron: new approaches to carbon cycling. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(2), 439-443.

- Nelson, D.C., B.B. Jørgensen & N.P. Revsbech (1986): Growth pattern and yield of a chemoautotrophic *Beggiatoa* sp. in oxygen-sulfide microgradients. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52, 225-233.
- Newport, P.J. & D.B. Nedwell (1988): The mechanisms of inhibition of *Desulfovibrio* and *Desulfotomaculum* species by selenate and molybdate. *J. Appl. Bacteriol.*, 65, 419-423.
- Niemistö, L. & A. Voipio (1974): Studies on the recent sediments in the Gotland deep. *Merentutkimuslait. Julk./Havsforskningsinst. Skr.*, 238, 17-32.
- Novelli, P.C., A.R. Michelson, M.I. Scranton, G.T. Banta, J.E. Hobbie, & R.W. Howarth (1988): Hydrogen and acetate cycling in two sulfate-reducing sediments: Buzzards Bay and Town Cove, Mass., *Geochim. Cosmochim. Acta*, 52, 2477-2468.
- Novitsky, J.A. (1990): Evidence for sedimenting particles as the origin of the microbial community in a coastal marine sediment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 60, 161-167.
- Oremland, R.S. & D.S. Capone (1988): Use of "specific" inhibitors in biogeochemistry and microbial ecology. *Adv. Microb. Ecol.*, 10, 285-383.
- Overbeck, J. & Y. Sako (1988): Heterotrophic bacteria - how do they adapt to limited substrates in aquatic ecosystems? Studies on regulatory mechanisms. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, 23, 1815-1820.
- Parkes, R.J., N.J.E. Dowling, D.C. White, R.A. Herbert & G.R. Gibson (1993): Characterization of sulphate-reducing bacterial populations within marine and estuarine sediments with different rates of sulphate reduction. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 102, 235-250.
- Parkes, R.J., G.R. Gibson, I. Mueller-Harvey, W.J. Buckingham & R.A. Herbert (1989): Determination of the substrates for sulfate-reducing bacteria within marine and estuarine sediments with different rates of sulfate reduction. *J.Gen.Microbiol.*, 135, 175-187.
- Parkes, R.J., J. Taylor & D. Jörck-Ramberg (1984): Demonstration, using *Desulfobacter* sp., of two pools of acetate with different biological availabilities in marine pore water. *Mar. Biol.*, 83, 271-276.
- Piker, L. (1990): Produktionsraten Sulfat-reduzierender Bakterien in anoxischen Sedimenten. Diplomarbeit, Institut für Meereskunde, Universität Kiel.
- Piker, L. & W. Reichardt (1991): Do sulfate reducing bacteria respond to thymidine incorporation assays in marine sediments? *Kieler Meeresforsch., Sonderheft Nr. 8*, 102-106.
- Postgate, J.R. (1984): The sulphate-reducing bacteria, 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Ram, N.M., O. Zur & Y. Avnimelech (1982): Microbial changes occurring at the sediment-water interface in an intensively stocked and fed fish pond. *Aquaculture*, 27, 63-72.
- Reichardt, W. (1989): Microbiological aspects of bioturbation, Topics in Marine Biology, Ros., J.D. (ed.), *Scient. Mar.*, 53, 301-306.
- Reichardt, W.T. (1978): Einführung in die Methoden der Gewässermikrobiologie. Stuttgart, New York: Gustav-Fischer Verlag, pp. 250.

- Reichardt, W.T. (1986): Enzymatic potential for decomposition of detrital biopolymers in sediments from Kiel Bay. , *Ophelia*, 26, 369-384.
- Reichardt, W.T. (1988): Impact of bioturbation by *Arenicola marina* on microbiological parameters in intertidal sediments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 44, 149-158.
- Reichardt, W.T. & R.Y. Morita (1982): Influence of temperature adaptation on glucose metabolism in a psychrotrophic strain of *Cytophaga johnsonae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 44, 1282-1288.
- Rheinheimer, G. (1974): Bakterien und Pilze. In L. Magaard & G. Rheinheimer (Eds.), Meereskunde der Ostsee (pp. 161-170). Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag
- Revsbech, N.P. & B.B. Jørgensen (1986): Microelectrodes: Their use in microbial ecology. *Adv. Microbiol. Ecol.*, 9, 293-352.
- Rosser, H.R. & W.A. Hamilton (1983): Simple assay for accurate determination of [³⁵S]sulfate reduction activity. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(6), 1956-1959.
- Rowe, R., R. Todd & J. Waide (1977): Microtechnique for Most-Probable Number analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 675-680.
- Sansone, F.J. (1986): Depth distribution of short-chain organic acid turnover in Cape Lookout Bight sediments. *Geochim. Cosmochim Acta*, 50, 99-105.
- Sansone, F.J. & C.S. Martens (1981): Determination of volatile fatty acid turnover rates in organic-rich marine sediments. *Mar. Chem.*, 10, 233-247.
- Sawyer, T.E. & G.M. King (1993): Glucose uptake and end product formation in an intertidal marine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 120-128.
- Schlegel, H.G. (1985): Allgemeine Mikrobiologie (6nd ed.). Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.
- Shaw, D.G. & D.J. McIntosh (1990): Acetate in recent anoxic sediments: direct and indirect measurements of concentration and turnover rates. *Est. Coast. Sh. Sci.*, 31, 775-788.
- Skyring, G.W. (1987): Sulfate reduction in coastal ecosystems. *Geomicrobiol. J.*, 5, 295-374.
- Skyring, G.W. (1988): Acetate as the main energy substrate for the sulfate-reducing bacteria in Lake Eliza (South Australia) hypersaline sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 53, 87-94.
- Smith, R.L. & M.J. Klug (1981): Electron donors utilized by sulfate-reducing bacteria in eutrophic lake sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42, 116-121.
- Sorokin, Y.I. (1962): Experimental investigation of bacterial sulfate reduction in the Black Sea using S³⁵. *Microbiology (Engl. Transl.)*, 31, 329-335.
- Stahlmann, J., R. Warthmann & H. Cypionka (1991): Na⁺-dependent accumulation of sulfate and thiosulfate in marine sulfate-reducing bacteria. *Arch. Microbiol.*, 155, 554-558.

- Stams, A.J.M., T.A. Hansen & G.W. Skyring (1985): Utilization of amino acids as energy substrates by two marine *Desulfovibrio* strains. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 31, 11-15.
- Taylor, B.F. & R.S. Oremland (1979): Depletion of ATP in *Desulfovibrio* by oxyanions of group VI elements. *Curr. Microbiol.*, 3, 101-103.
- Taylor, J. & R.J. Parkes (1985): Identifying different populations of sulfate-reducing bacteria within marine sediment systems, using fatty acid biomarkers. *J. Gen. Microbiol.*, 131, 631-642.
- Thamdrup, B., K. Finster, J.W. Hansen & F. Bak (1993): Bacterial disproportionation of elemental sulfur coupled to chemical reduction of iron or manganese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 101-108.
- Thamdrup, B., H. Fossing & B.B. Jørgensen (1994): Manganese, iron, and sulfur cycling in a coastal marine sediment, Aarhus Bay, Denmark. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 58(23), 5115-5129.
- Thauer, R.K., K. Jungermann & K. Decker (1977): Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, 41, 100-180.
- Thode-Andersen, S. & B.B. Jørgensen (1989): Sulfate reduction and formation of ³⁵S-labeled FeS, FeS₂, and S₀ in coastal marine sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 34, 793-806.
- Traore, S.A. & V.A. Jacq (1991): A simple membrane-filter technique for the enumeration of S-reducing bacteria in soil and water samples. *J. Microbiol. Meth.*, 14, 1-9.
- Volkov, I.I. & A.G. Rosanov (1983): The sulfur cycle in oceans. Part 1, Reservoirs and fluxes. In M. V. I. & J. R. Freney (Ed.), The Global Biogeochemical Sulfur Cycle. SCOPE 19 Chichester: John Wiley.
- Wang, X.-C. & C. Lee (1993): Adsorption and desorption of aliphatic amines, amino acids and acetate by clay minerals and marine sediments. *Mar. Chem.*, 44, 1-23.
- Ward, D.M. & M.R. Winfrey (1985): Interactions between methanogenic and sulfate-reducing bacteria in sediments. *Adv. Aquat. Microbiol.*, 3, 141-177.
- Warthmann, R. & H. Cypionka (1990): Sulfate transport in *Desulfobulbus propionicus* and *Desulfococcus multivorans*. *Arch. Microbiol.*, 154, 144-149.
- Westrich, J.T. (1983): The consequences and controls of bacterial sulfate reduction in marine sediments. Ph. D. Diss., Yale University, New Haven, Conn.
- Westrich, J.T. & R.A. Berner (1984): The role of sedimentary organic matter in bacterial sulfate reduction: The G model tested. *Limnol. Oceanogr.*, 29(2), 236-249.
- Widdel, F. (1988): Microbiology and ecology of sulfate- and sulfur-reducing bacteria. In A. J. Zehnder (Ed.), Biology of Anaerobic Microorganisms (pp. 469-585). J. Wiley.
- Widdel, F. & N. Pfennig (1981a): Sporulation and further nutritional characteristics of *Desulfotomaculum acetoxidans*. *Arch. Microbiol.*, 129, 401-402.
- Widdel, F. & N. Pfennig (1981b): Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. I. Isolation of new sulfate-reducing bacteria enriched with acetate

from saline environments. Description of *Desulfobacter postgatei* gen. nov., sp. nov. Arch. Microbiol., 134, 286-294.

Widdel, F. & N. Pfennig (Eds.). (1984): Dissimilatory sulfate- or sulfur-reducing bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins.

Williams, P.J.L. & C. Askew (1968): A method of measurement the mineralization by microorganisms of organic compounds in seawater. Deep-Sea Res., 15, 365-375.

Wright, T.R. (1974): Mineralization of organic solutes by heterotrophic bacteria. In R. R. Colwell & R. Y. Morita (Eds.), Effect of the ocean environment on microbial activities (pp. 546-565). Baltimore, London, Tokyo: University Park Press.

Zhabina, N.N. & I.I. Volkov (Eds.). (1978): A method of determination of various sulfur compounds in sea sediments and rocks. Michigan: Ann Arbor Science Publisher.