

OLIVERA B. RISTIĆ und  
RADIVOJE Z. MARINOVIĆ

## BEITRAG ZUR ERFORSCHUNG DER MIKROFLORA EINIGER QUELLENGEWÄSSER VON KOSOVO UND METOCHIEN

Die Quellen sind bei uns noch immer keine häufigen Objekte der mikrobiologischen Untersuchung. Dabei wurden recht selten die Quellen von Kosovo und Metochien untersucht, wo sich auch eine Anzahl Mineralwasserguellen befinden. Um einen Beitrag zur Kenntnis ihrer Zusammensetzung hinsichtlich etlicher Mikrophyten geben zu können, wurde die Untersuchung ihrer Biocönose durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit enthält die Untersuchungsergebnisse der Biocönosen der Bakterien in den Poklekaquellen und im Bache der daraus entstanden ist. Den anderen Biocönosen wurde weniger Aufmerksamkeit geschenkt. Die Proben wurden zweimal monatlich in der Frühlings- und Sommersperiode (April — Juli) des Jahres 1967 entnommen.

Das Material ist im Laboratorium der Technologischen Fakultät in Novi Sad bearbeitet und die Präparate befinden sich bei den Biologischem Katheder der Philosophischen Fakultät in Novi Sad.

### MATERIAL UND METHODIK

Die Poklekaquellengewässer schlagen aus zwei Metallröhren hervor, und die Röhren sind an den Flankenseiten eines Betoneinschnittes im Abstand von etwa 1,5 Meter angebracht. Um diese Quellen ist eine grössere Anzahl trichterförmigen Bodenvertiefungen vorhanden, aus welchen das Wasser hervorquillt. Abfluss des Quellenwassers von den waagerechten Lagen ist bedeutend langsamer und in weit geringerer Menge als aus den Metallröhren. Ihrer chemischen Zusammensetzung nach gehören die Quellengewässer der eisenhaltigen säuerlichen Gewässern an (pH des Wassers ist etwa 6,3). Temperatur des Quellwassers bewegt sich um 12 Grad C und zeigt im Laufe des Jahres keine thermischen Oszillationen. Die Quelle der rechten Röhre wurde in dieser Arbeit mit der Nummer 1 und die aus der linken Röhre mit Nummer 2 bezeichnet.

Der Bach entsteht aus den Quellengewässern 1 und 2 wie auch aus um den zehn trichterartigen Quellen vom umliegenden Boden. Er ist 1

bis 2 Metter breit und hat ein geringes Gefälle, so dass er den Charakter eines langsam fliessenden Wassers hat, insbesondere aber in seinem unteren Lauf.

Die Wasserproben wurden der Quelle 1 und 2 wie auch aus der Bachoberfläche entnommen. Die Lokalität, aus welcher die Bachwasserproben entnommen wurden, ist etwa 500 Metter von der Quelle entfernt. Die Wasserproben sind immer von demselben Ort entnommen.

Die Probenbearbeitung war am Terrain nicht möglich, so dass sie im Laboratorium bearbeitet wurde, d.h. 24 h nach dem Entnehmen. Aus diesem Grunde war es auch nicht möglich die quantitative Vertretung dieser Mikroflora zu verfolgen (Wie auch die Gesamtzahl der Mikroorganismen nach direkten Methoden und ebenso die Zahlenmässigkeit der Heterotrophen). Erforscht ist die qualitative Zusammensetzung und zu diesem Zweck wurde je 2 ml Wasser am Nährboden Fleisch — Pepton — Agar und am Nährboden nach R a s u m o v, L i s k e, M a y e r und v a n N i e l zum Kultivieren der Eisenbakterien damit besät.

Neben den Kultivierungsmethoden ist die Zusammensetzung der Mikrobencönos mittels des Bewachsens der Objektgläschen — nach der H o l o d n i s und K o n s - Methode, mit der R o d i n a s Modifikation (1936) verfolgt. Durch diese Methode wurde ein vollständiges Bild der Mikrobensiedlungen gewonnen, während dies durch die Kultivierungsmethoden unmöglich war. Die bewachsenen Objektgläser wurden im Formalindampf fixiert und anschliessend mit 5% Eritrosin gefärbt. Ausserdem wurden die Präparate auch — von allen Proben — mit 5% gelbem Blutsalz und 0,5% HCL gefärbt, um die Anwesenheit der Eisenbakterien in den Biocönos festzustellen.

## DIE GEWONNENEN RESULTATE UND DISKUSSION

Die Untersuchungsergebnisse, die in der Tabelle Nummer 1 aufgestellt sind, obwohl sie kein qualitatives Bild der Bakterienflora geben beweisen jedoch klar, dass die Zahl der ausgesonderten Heterotrophen in den beiden Quellen klein ist; er bewegt sich von 2 — 10. In dieser Hinsicht zeigen jedoch die beiden Quellen das grösste Reichtum im Laufe des Monats Mai.

Im Wasser der untersuchten Quellen zeigen sich nur unbedeutende Differenzen nach der ausgesonderten Artenzahl am Nährboden F.P.A., obgleich sie in der Quelle Nummer 2 gewöhnlich etwas grösser war. Der Terminus »Artenzahl« bezeichnet die isolierten Bakterien nicht in systematischer Hinsicht, er ist vielmehr bedingt, denn als Charaktere für die Differenzbestimmung dienen: Form und Pigmentation der Kolonien, morphologische Eigenschaften der Zellen (ausser der Form und Grösse sind auch die Struktur, in den sichtbaren Grenzen des Phasenkontrastmikroskop, beobachtet worden), wie auch das Verhältnis zur Färbung nach G r a m, Anwesenheit der Kapseln, Beweglichkeit und Sporener-schaffungsfähigkeit. Die physiologischen Eigenschaften wurden nicht untersucht.

Zum Unterschied von den Quellen war die Zahl der ausgesonderten heterotrophen Bakterien aus dem Bachwasser grösser und bewegte sich von 14 bis 24. So beträgt die Maximalzahl der vertretenen Heterotrophen im Quellwasser nur 71% von der Minimalzahl dieser Bakterien im Bache. Dies spiegelt allerdings die etwas günstigeren Umweltbedingungen für diese Bakteriengruppe. Die lebendige Welt des Baches in seinen Metabolismusvorgangen, wie auch im Laufe seines Absterbens, vermehrt den organischen Materialgehalt im Wasser, und damit werden in der ersten Reihe günstigere Bedingungen für das Leben der Heterotrophen geschaffen. Ausserdem kommt es zum Einbringen der allochthonen Mikroflora vom umgebenden Boden, insbesondere in der Regenzeit, was allerdings die grösste Verschiedenheit der Mikroflora in diesem Biotop beeinflusst.

In den Quellen dominieren *kugelförmige* Vertreter der heterotrophen Bakterien. Prozentsatz der Kokkenvertretung gegen die Gesamtzahl der Heterotrophen variierte in Grenzen von 66 — 100%. Im Bache dominierten dagegen *stäbchenförmige* Formen mit prozentueller Anteilnahme von 70,9 bis 98,2 (Tab. 1).

Tabelle 1

Standort	Monat	Gesamtzahl ausgesondelter Bakterienarten	% <sub>0</sub> Verhältnis gegen die Gesamtzahl ausgesonderten Bakterien				% der Bakterienarten mit Kapseln gegen die Gesamtzahl	Zahl der augegesonderten Arten anderer Mikroorganismengruppen		
			Stäbchen	Kokken	Gram +	Gram —		Schimmelpilze	Aktinomyceten	Hefen
Quelle 1	April	3	—	100	100	—	75	—	—	—
Quelle 2	April	2	—	100	100	—	100	—	—	—
Bach	April	21	95,8	4,2	20,8	79,2	25	—	—	—
Quelle 1	Mai	7	28,5	71,5	85,7	14,3	35,7	1	—	—
Quelle 2	Mai	10	8,4	91,6	58,5	41,5	75	1	1	—
Bach	Mai	24	70,9	29,1	57,1	42,9	37,1	1	3	2
Quelle 1	Juni	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Quelle 2	Juni	5	20	80	100	—	100	—	—	—
Bach	Juni	8	100	—	87,5	12,5	25	—	1	—
Quelle 1	Juli	2	100	—	50	50	100	1	1	—
Quelle 2	Juli	3	33,3	66,7	100	—	100	1	1	—
Bach	Juli	14	98	1,8	57	43	32	—	4	8

Es ist festgestellt worden, dass in den Quellen weit mehr der kapsel-förmigen Bakterienarten als im Bach. Jedoch, da die Bakterienkapseln adaptiven Charakter sein können und auch eine Schutzrolle haben, wie es Frobisher (1956), Fjodorov (1955), Imšenjecki (1962) und ander bringen, wurde in dieser Arbeit die Vertretenheit der *kapselartiger* wie auch der *nicht kapselartiger* Bakterien analysiert. Die gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass die in den Quellen vertretenen Kapselbakterien 75 — 100% ausmachen, während die maximale Anteilnahme dieser Bakterien im Bache nur 37% beträgt. Diese Tatsache könnte uns zur Annahme der Festlegung bringen, dass die Bakterien in den Quellen ungünstigen Einflüssen ausgesetzt wären.

Die Vertretenheit anderer Mikroorganismengruppe im Vergleich mit den Bakterien ist kleiner in den Quellen wie auch im Bache. In allen Proben erscheinen die *Actinomyceten* häufiger als *Schimmelpilze*, wobei ihre ausgesonderte Artenzahl im Bach 3 — 4 Mal grösser war als die in den Quellen. Aus den Proben wurden auch die den *Hefen ähnlichen* Mikroorganismen ausgesondert, sie sind aber nur in den Bachgewässern festgestellt.

In den Quellwasserproben kam regelmässig ein reicher flockenartiger rostfärbiger Lösungsniederschlag zum Vorschein. Solche Niederschläge in Gewässern eisenhaltiger Quellen sind häufig Anwesenheitindikatoren der *Eisenbakterien*, die intensiv grosse Mengen von Ferrihydrxoid, als eines der Hauptprodukte der Oxydationsprozesses ausscheiden. Jedoch, das Bilden ähnlicher Niederschläge kann auch ein Ergebnis *abiogenerischer* Vorgänge sein.

Die mehrfachen Versuche Eisenbakterien — am vorher angegebenen Nährboden — zu kultivieren blieben bisher ständig erfolglos. Deshalb wurde auch bei Analysen von Mikrobenansiedlungen mit besonderer Aufmerksamkeit die Anwesenheit der *Ferrobakteriales* untersucht. Für viele von diesen Bakterien dient, ausser der Reaktion von berlinisch Blau, als zuverlässigem Charakter neben der Zellenmorphologie auch die Form oder die Struktur des eisenhaltigen Niederschlages an der Zelloberfläche.

Im beobachteten Material war es oft sehr schwer — wegen dem Vorhandensein reicher Niederschläge — Zellen von unspezifischer Form zu sehen. In solchen Bedingungen und beim Mangel an physiologischen Eigenschaften drängt sich unbedingt das Bedürfnis nach einer besonderen Umsicht auf. Trotzdem konnte man im Quellwasser der Mikrobengemeinschaften — und zwar in allen Proben — im eisenhaltigen Niederschlag winzige stäbchenförmige Zellen beobachten. Diese winzigen Stäbchen blieben beim Färben mit Eritrosen fast farblos, im Gegensatz zu den übrigen Repräsentanten der vertretenen Mikroflora (Abb. 1), während sie sich beim Färben mit gelbem Blutsalz blau gefärbt haben. Ihre blaue Farbe war regelmässig blässer als die Niederschlagsfarbe an ihnen oder um sie herum. Die eisenhaltigen Niederschläge zeigen einen gewissen genetischen Zusammenhang mit den Zellen, denn sie erscheinen als Spuren ihrer morphologischen Charakters. Die Niederschläge übersteigen mehr-

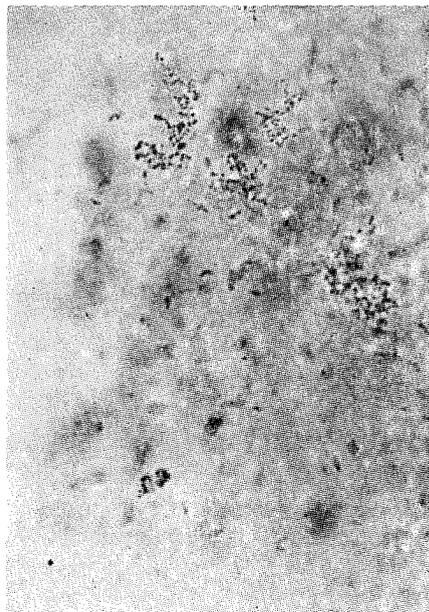


Abb. 1. — Eisenbakterien der Quelle № 1 im April  
(500 x)

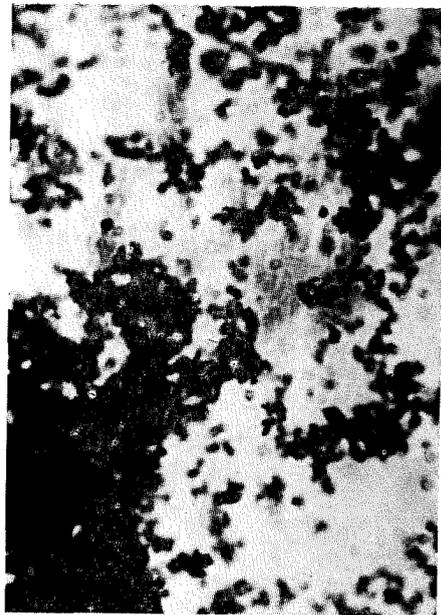


Abb. 2. -- Eisenbakterien der Quelle № 1 im Juli  
(1500 x)



Abb. 3. — Eisenbakterien der Quelle № 2 im Juni  
(1500 x);

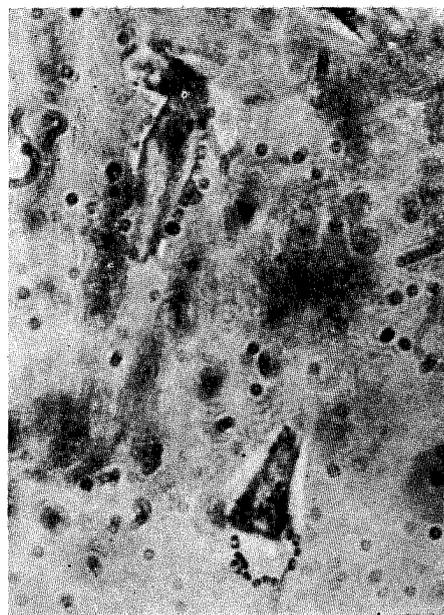


Abb. 4. — Mikroflora der Quelle № 1 im April  
(1500 x)

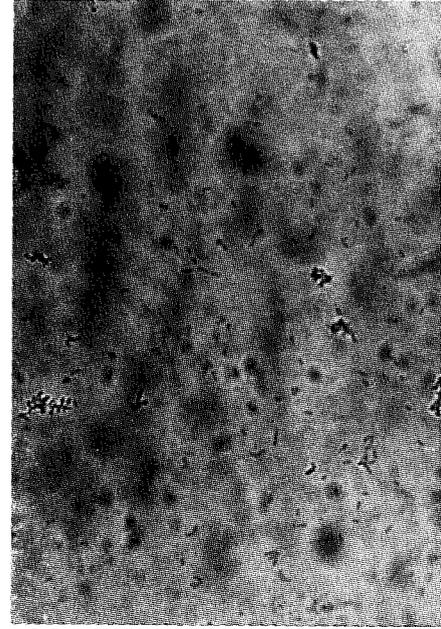


Abb. 5. — Mikroflora der Quelle № 2 im Mai (500 x)

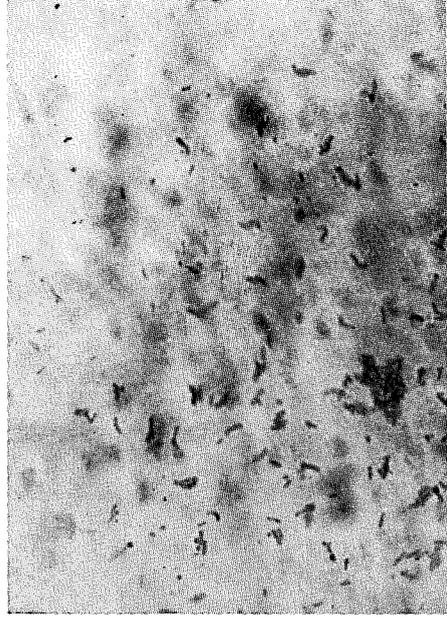


Abb. 6. — Mikroflora der Quelle № 2 im Juni (500 x)

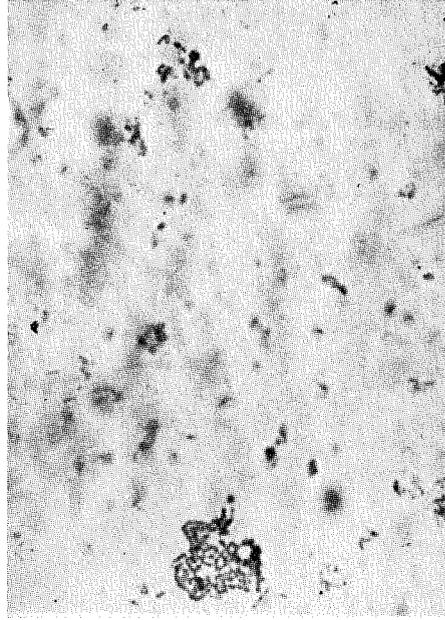


Abb. 7. — Bachmikroflora im Mai (500 x)

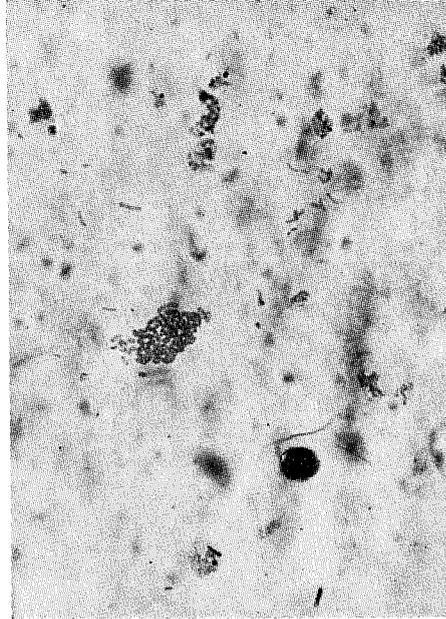


Abb. 8. — Bachmikroflora im Mai (500 x)

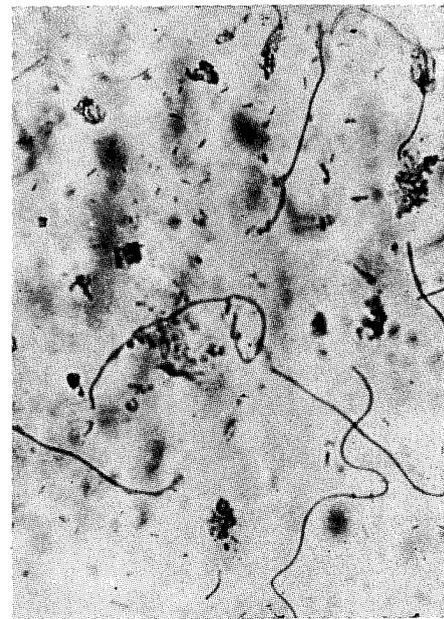


Abb. 9. — Bachmikroflora im Juni (500 x)

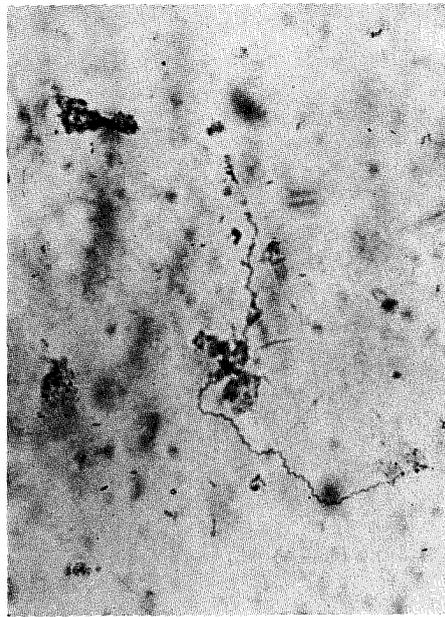


Abb. 10. — Bachmikroflora im Juni (500 x)



Abb. 11. — Bachmikroflora im Juni (500 x)



Abb. 12. — Bachmikroflora im Juni (500 x)

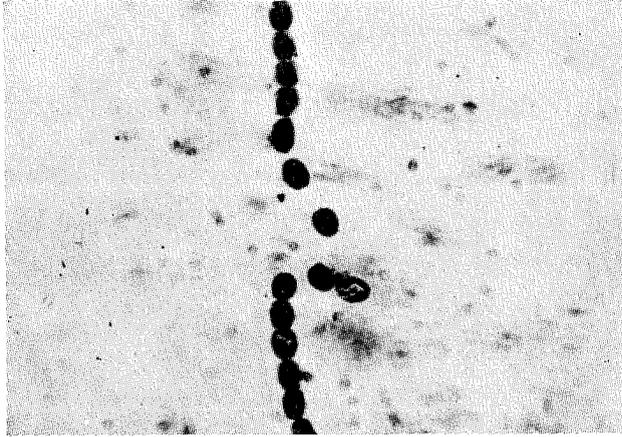


Abb. 13. — Bachmikroflora im Juni (500 x)

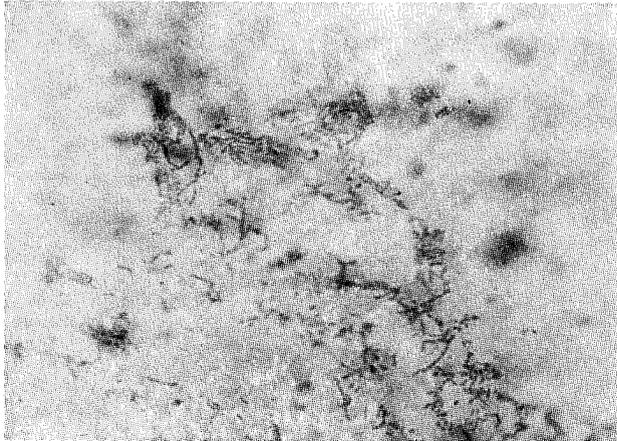


Abb. 14. — Bachmikroflora im Juli (500 x)

mals die Zellengrösse, so dass, höchstwahrscheinlich, diese Niederschläge ein Ergebnis der Bakterienaussonderungen sind (Abb. 2 und 3) denn die Anhäufung der Niederschläge weist auf eine Mengenabhängigkeit von der Kolonie auf, wo die Zellen von geringerer Anzahl sind, da sind auch die Niederschläge dürftiger.

Die angewandte Methode der Objektgläschenbewachung ermöglicht uns auch die Unterschiedlichkeit der vorhandenen Mikroorganismen in ihren natürlichen Standorten kennen zu lernen. Das Bild über die Mikrobenansiedlungsdichte ist allerdings realer als jenes, das durch die Kultivierungsmethode gewonnen wird. Fjodorov (1964) gibt an, dass die Mikroorganismenzahl in den Quellengewässern sehr gering ist, da sie sich gewöhnlich von 1 — 10 Kolonien im ml (Milliliter Wasser bewegt, während die gewonnenen Resultate, die durch Methoden gewonnen (an Membranfiltern) ein unverhältnismässig grosses Reichthum an Mikroorganismen an den gleichen Orten (40 bis 60000 Zellen) aufweisen.

Bei Analyse der Mikrobenansiedlungen des Quellengewässers (Quelle № 1) waren die häufigst vertretenen Koloniengruppen die der unidentifizierten Eisenbakterien (Abb. 1). Dannach kommen die Stäbchenartigen Bakterien, verschieden nach ihren morphologischen Eigenschaften. Dies sind meistens grosse Stäbchen, abgerundet an den Enden, von granulierter Struktur. Etwas weniger dicht waren die an einem, oder auch an beiden Enden sich verengerten, oft von Leicht schraubenförmigen bipolaren Körnchenstruktur. Die bakteriischen Sporen erschienen weit seltener, und zwar gewöhnlich an der Oberfläche der Körper von Silikatalgen (Abb. 4). In der Quelle Nummer 2 war zu gleicher Zeit das identische Bild der Mikrobenansiedlung zu sehen.

Die dargestellten Photographien, an denen nur einzelne Sehfelder aufgenommen sind, können das ganze Bild nicht representieren, das man von den bewachsenen Glasplättchen bekommt. Die Photographien stellen das Mikroflorenreichtum nicht nur nach der Dichte, sondern auch nach seiner morphologischen Zusammensetzung dar.

Im Laufe des Monats Mai beginnt die Dichtenabnahme der Eisenbakterien in beiden Quellen. Im Bau der Biocönosen dominieren auch weiter die stäbchenförmigen Bakterien (Abb. 5), die jetzt, wie früher morphologisch verschiedenartig sind. Vorherrschend sind einzelne Zellen vertreten, die seltener Kolonien bilden, während sie meistens in Ketten eingeordnet sind. Bedeutend weniger als die echten stäbchenförmigen Bakterien kommen die *schraubenförmigen* Stäbchen vor. Kugelförmige Formen sind sehr selten vertreten.

Die Mikroflora der beiden Quellen gibt in den Sommermonaten identisches Bild mit einer unbedeutend grösseren Anteilnahme kugelförmigen Bakterien, als in den Frühlingsmonaten. Die stäbchenförmigen Bakterien sind auch weiter dominante Vertreter der Mikrobenansiedlung (Abb. 6). Im Laufe des Sommers ist in den beiden Quellen die Eisenbakterienbewachung intensiver (Abb. 2 und 3). Mehrzahl der gemeinsamen Charaktere von Mikrobenbiocönosen in den untersuchten Quellen weist auf die identische Mikroflora in denselben hin.

In den Bachmikrobenbiocönoson ist eine Abwesenheit der Eisenbakterien zu beobachten. In den Frühlingsmonaten erscheinen im Bau der Bachmikrobenansiedlung grosse Veränderung. Im April wie auch im Mai dominieren die stäbchenförmigen Bakterien mittlerer Dimensionen, die vorwiegend Koloniengruppen von einer grösseren Zellenzahl bilden (20 — 230). Die Zellen in den Kolonien sind oft in Ketten angeordnet (Abb. 7). Sporen sind auch vertreten; sie kommen auch öfters in Gruppen als einzeln vor (Abb. 8). Obwohl seltener und grösser kommen auch die stäbchenartige Formen mit der Tendenz von scheinbarer Aufzweigung vor. Im Gegensatz zu den Quellen hier sind die kugelförmigen Bakterien weit häufiger vertreten und formieren verschiedene Mikrokolonien.

In den Sommermonaten zeigt die Mikrobenansiedlung des Baches verschiedene Veränderungen. Im Anfang des Sommers sind da neben der verschiedenen stäbchenartigen Mikroflora, die fast durch ausschliesslich vegetative Formen vertreten ist, erscheinen auch fadenförmige Stäbchenbakterien, die ihre Teilungsfähigkeit verloren haben, während sich das Wachsen auch weiter fortsetzt (Abb. 9). Auch die schraubenförmigen Bakterien kommen vor, meistens sind das lange und zarte *Spirocheten* (Abb. 10). Vorhanden sind auch die *Schwefelbakterien*, die in den Quellen fehlten. Häufiger sind sie von der Art der Gattung *Beggiatoa* (Abb. 11 und 12) als von der Gattung *Thiothrix* (Abb. 13). Im Laufe des Sommers ist die Bewachsung der Mikroflora dichter und mannigfaltiger, was in der ersten Reihe von der zahlenmässiger Anteilnahme der stäbchenförmiger Bakterien mit scheinbarer Verzweigung entsteht (Abb. 14).

In den Biocönoson ist überhaupt kein mycelischer Bau der *Actinomyceten* oder *Schimmelpilze* festgestellt worden, obwohl die Mikroorganismen dieser Gruppen auch durch die Kultivierungsmethode gewonnen sind. Nach den erhaltenen Resultaten ist die Bachmikroflora nicht nur andersartig nach ihrem Gefüge sondern auch verschiedenartiger als die Mikroflora der Quellen.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Biocönoson der Quellen Nummer 1 und Nummer 2 sind identisch und die Veränderungen darin im Laufe des Frühlings und Sommers sind unbedeutend. Im Bau dieser Cönoson sind regelmässig die unidentifizierten stäbchenförmige Bakterien aus der Ordnung Ferrobacteriales vertreten. In den Bachgewässern konnten diese Bakterien nicht festgestellt werden.

Die Quellen sind bedeutend ärmer an Arten der heterotrophen Mikroorganismen als der Bach.

In der Bachbiocönose entstehen im Laufe des Sommers viele Veränderungen. In der Sommerperiode erscheinen die Schwefelbakterien und zugleich charakterisieren sich auch die stäbchenförmigen Bakterien mit grösserer morphologischen Mannigfaltigkeit.

Die Bachbiocönose wird durch dichtere Mikrobenpopulationen und Mikrobenzellen von viel mannigfaltigerer Form als die Quellenbiocönose charakterisiert.

Die Mikroflora des Baches ist nach ihrem floristischen Bau andersartiger und mannigfaltiger als die Mikroflora der Quellen.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- Beck, J. V. (1960): A ferrous-ion-oxidizing bacterium. Jour. of Bact., 79.  
 Winogradsky, S. N. (1949): Microbiologie du sol. Paris.  
 Кузнецов, С. И. (1952): Роль микроорганизмов в круговороте веществ в озерах. Москва.  
 Перфильев, Б. В. (1953): Изучение заиления водоемов и абсолютная геохронология. „Изв. Всес. геогр. общ.“ Т. 84, В. 3.  
 Родина, А. Г. (1934): О примении метода Холодного-Кона к микробиологическому изучению грунтов водоемов. Зап. Гос. Гидр. Ин-та, Т. 13.  
 Родина, А. Г. (1953): Развитие железобактерии при зеленом удобрении рыбоводных прудов. Микробиология, Т. 22, В. 2.  
 Соколова, Г. Д., (1959): Железобактерии озера Глубокого. Микробиология, Т. 28, В. 2.  
 Холодный, Н. Г. (1937): К экологии железобактерии. Микробиология, Т. 6, В. 7.  
 Холодный, Н. Г. (1953): Железобактерии. Москва.

#### Rezime

OLIVERA B. RISTIĆ i  
 RADIVOJE Ž. MARINOVIC

#### PRILOG PROUČAVANJU MIKROFLORE NEKIH IZVORSKIH VODA KOSOVA I METOHIJE

Ispitivane su mikrobiocenoze dva izvora u okolini naselja Pokleka (predeo na Kosovu) i mikrobiocenoza potoka postalog od izvorskih voda. Jedan od izvora označen je kao izvor br. 1 a drugi kao izvor br. 2. Ispitivanja su vršena u proletnjem i letnjem periodu (april — juli) tokom 1967 godine. Probe su uzimane dva puta mesečno.

Obrada proba nije bila moguća na samom mestu prikupljanja, obrađivane su po donošenju u laboratoriju a to je 24 časa posle uzimanja. Zbog toga nije bilo moguće da se prati kvantitativna zastupljenost ove mikroflore već je izučavan njen kvalitativni sastav. U tome cilju zasejavano je po 2 mililitra vode na podlozi meso — peptonskog agar a na podlogama po Razumov-u- Liske-u, Mayer-u i van Niel-u za gajenje gvoždevitih bakterija.

Pored odgajivačkih metoda praćen je sastav mikrobnih cenoza pomoću obraštaja na predmetnim stakalcima, po metodi Holodnog i Kona sa modifikacijom Rodine. Ovom metodom dobijala se potpunija slika mikrobnog naselja a obrastanje predmetnih stakalca je proticalo na sobnoj temperaturi u trajanju od 3 dana. Obrastla stakla su fiksirana u formalinskoj pari a posle su bojena 5% eritrozinom. Osim toga, iz svih proba, bojani su preparati 5% žutom krvnom soli i 0,5% HCL da bi se utvrdilo prisustvo gvoždevitih bakterija u mikrobiocenzama.

Mikrobiocenoze izvora br. 1 i br. 2 su identične i promene u njima tokom proleća i leta neznatne su. U sastavu ovih cenoza redovno su zastupljene neidentifikovane štapolikze bakterije iz reda Ferrobacterales. U vodama potoka te bakterije nisu konstatovane.

Izvori su znatno siromašniji vrstama heterotrofnih mikroorganizama nego potok.

Mikrobiocenoza potoka karakterieš se gušćim mikrobnim populacijama i mikrobnim ćelijama raznovrsnijeg oblika nego mikrobiocenoze izvora.

U mikrobiocenozi potoka tokom leta nastaju promene. U letnjem periodu javljaju se sumporne bakterije i u to doba štapolike bakterije karakterišu se većom morfološkom raznovrsnošću.

Mikroflora potoka po svome florističkom sastavu drugojača je i raznovrsnija od mikroflore izvora.