

DIE BEDEUTUNG DER MIKROCHEMIE FÜR DIE LIMNOLOGISCHE FORSCHUNG.

Von

F. RUTTNER.

Biologische Station in Lunz.

(Eingelangt am 25. August 1936.)

Mein verehrter Lehrer HANS MOLISCH pflegte im Verlauf seiner glänzenden Vorlesungen über die Anatomie und Physiologie der Pflanze immer wieder darauf hinzuweisen, wie oft gerade die unwälzenden Fortschritte der naturwissenschaftlichen Forschung durch die Erfindung neuer Methoden ausgelöst wurden. Noch klarer vielleicht, als in anderen Wissensgebieten, tritt diese Erscheinung im Entwicklungsgang einer so jungen Wissenschaft, wie die Limnologie, die Lehre von den Binnengewässern es ist, zutage. Ihre ersten Anfänge reichen in die Zeit zurück, in der die Entdeckung des Mikroskopes durch LEEUWENHOECK dem staunenden Auge die Vielgestalt der Kleinlebewelt des Wassers enthüllte. Doch erst viel später, in der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts, tritt sie uns als kausale Forschungsrichtung entgegen und auch hier gab ein an sich einfacher technischer Fortschritt den ersten Anstoß.

Die Verwendung der feinen Seidengaze-Netze durch JOHANNES MÜLLER und HENSEN hatte der biologischen Forschung die eigenartige und bisher unbekannte Organismenwelt des Pelagials erschlossen. Man erkannte, daß dieses Plankton der Meere und der Binnengewässer mit seinen vielfältigen Pflanzen- und Tierformen eine in sich geschlossene Gemeinschaft bildet, die in ihrer Zusammensetzung, ihrem Gepräge und in ihrer Verteilung weitgehend von den im Raum und in der Zeit wechselnden Eigenschaften der Umwelt bestimmt wird. Die Lehre von den milieubedingten

Lebensgemeinschaften oder Biocoenosen und das Bestreben, die Gesetze, welche dieselben beherrschen, kennen zu lernen, drängten sich immer mehr in den Vordergrund der limnologischen Forschung. Die Voraussetzung einer solchen Betrachtungsweise ist jedoch eine möglichst genaue Kenntnis der Umweltbedingungen an den von den einzelnen Biocoenosen bewohnten Lebensstätten oder Biotopen.

Die Erforschung der physikalischen und chemischen Verhältnisse der Binnengewässer wurde dadurch zu einer der Hauptaufgaben der Limnologie. Lange Zeit blieben jedoch unsere Kenntnisse auf diesem Gebiet weit hinter den Forderungen, welche eine kausale, ökologische Forschung stellen muß, zurück. Man wußte bis etwa zur Jahrhundertwende wohl, daß das Wasser eines Sees in charakteristischer Weise thermisch geschichtet ist, man kannte auch auf Grund zahlreicher Totalanalysen von Oberflächenproben seinen Gehalt an Mineralsubstanzen, doch lagen bis dahin kaum Befunde vor, welche die Annahme gerechtfertigt hätten, daß eine solche Wassermasse auch in chemischer Hinsicht etwa nicht einheitlich sei, sondern insbesondere in vertikaler Richtung sehr erhebliche Unterschiede aufweisen könne.

Die Ursache dieses Mangels an Kenntnissen war vor allem in methodischen Schwierigkeiten begründet. Wenn man die chemischen Schichtungsverhältnisse eines Sees untersuchen will, ist man gezwungen, eine größere Anzahl — etwa ein Dutzend — von Wasserproben, die aus verschiedenen Tiefen in einwandfreier Weise entnommen wurden, innerhalb von 1 bis zwei Tagen zu analysieren, um nachträgliche Veränderungen gewisser Eigenschaften auszuschließen, eine Aufgabe, die bei Anwendung der gebräuchlichen Methoden der Wasseranalyse von einem einzelnen Untersucher kaum zu lösen ist. Die größten Schwierigkeiten bereitet jedoch der Umstand, daß gerade die für das Leben wichtigsten Nährstoffe (z. B. die P- und N-Verbindungen) im Wasser unserer Seen in so großer Verdünnung vorhanden sind, daß sie sich der Erfassung durch die klassischen Analysenmethoden vollkommen entziehen. Was also bis vor verhältnismäßig kurzer Zeit fehlte (und z. T. auch heute noch fehlt!), sind rasch und auch unter feldmäßigen Verhältnissen ausführbare Untersuchungsmethoden, die empfindlich genug sind, um die im

Wasser enthaltenen Nährstoffe bei einer Verdünnung von 10^{-8} bis 10^{-9} (0,01—0,001 mg im Liter) noch hinreichend genau quantitativ zu erfassen.

Es kommen somit in der Hauptsache mikrochemische Schnellmethoden (vgl. R. MAUCHA¹, H. MÜLLER²) im weiteren Sinne des Wortes in Betracht und die Entwicklung der Limnochemie ging in den letzten Jahrzehnten Hand in Hand mit den in der Verfeinerung der Nachweisverfahren erzielten Fortschritten.

Den ersten großen Impuls brachte die Einführung der allbekanntesten WINKLER'schen Methode³ zur Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. Die Bedeutung, welche dieses Verfahren für die Limnologie erlangte, kann nicht hoch genug eingeschätzt werden. Ist doch der Sauerstoff jenes Element, das, als Träger der Atmung im Energieumsatz der Pflanzen und Tiere, in seiner Wichtigkeit für das gesamte Leben im Wasser kaum von einem anderen übertroffen wird und dessen Mengenverteilung geradezu als Maß oder doch als Indikator des Gesamtumsatzes im See gelten kann. Die Umwälzung, welche die später durch das Bromierungsverfahren von G. ALSTERBERG⁴ in ihrer allgemeinen Verwendbarkeit noch verbesserte WINKLER'sche Methode in der limnologischen Betrachtungsweise hervorrief, war deshalb auch ganz außerordentlich. Die Kenntnis der Sauerstoffschichtung ermöglichte auf Grund der in vielen Gewässern Nordamerikas und Europas durchgeführten Untersuchungen den ersten Einblick in die kausalen Zusammenhänge des Stoffgetriebes in einem See und führte zur Aufstellung der Produktionstypen durch THIENEMANN: des oligotrophen Sees mit geringer organischer Produktion und daher auch geringer O_2 -Zehrung in den durch die thermische Schichtung vom Kontakt mit der Oberfläche und vom Licht aus-

¹ Hydrochemische Methoden in der Limnologie mit besonderer Berücksichtigung der Verfahren von L. W. WINKLER. Stuttgart 1932.

² Limnologische Feldmethoden. Internat. Rev. d. ges. Hydrobiol. u. Hydr., 28 (1933).

³ L. W. WINKLER, Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes. B. d. D. Chem. Ges. 21 (1888).

⁴ Die WINKLER'sche Bestimmungsmethode für in Wasser gelösten, elementaren Sauerstoff, sowie ihre Anwendung bei Anwesenheit oxydierbarer Substanzen. Biochem. Ztschr. 170 (1926).

geschlossenen Wassermassen der Tiefe und des eutrophen Sees, in dem der Abbau der reichlich erzeugten organischen Substanz eine Verarmung, ja einen vollkommenen Schwund des Sauerstoffs unterhalb der Temperatursprungschicht zur Folge hat.

Im Zusammenhang mit der Sauerstoffschichtung wurde frühzeitig, wenn auch weniger häufig, die vertikale Verteilung der gebundenen und freien CO_2 , des Gegenspielers des Sauerstoffs im Kohlenstoffkreislauf, erforscht. Dazu kam später, besonders nach Einführung des von L. MICHAELIS⁵ verfeinerten kolorimetrischen Verfahrens die Bestimmung der durch das Verhältnis der beiden Komponenten im Puffersystem Carbonat — CO_2 bedingten H-Konzentration.

Jahrzehnte hindurch blieb die Erforschung der chemischen Schichtung in den Binnenseen auf diese im Umsatz der Kohlehydrate — bzw. für deren photosynthetischen Aufbau und bakteriellen Abbau — maßgebenden Lösungsbestandteile beschränkt. Die im Umsatz der Eiweißstoffe, welche ja bekanntlich das Gerüst der lebenden Substanz bilden, so wesentlichen Elemente Stickstoff und Phosphor mußten notgedrungen von den Untersuchungen ausgeschaltet bleiben. Man ahnte wohl die ausschlaggebende Bedeutung, welche gerade diesen Nährstoffen in den Gewässern zukommt und konnte aus der Tatsache ihres meist nur spureweisen Auftretens indirekt schließen, daß sie als sogenannte „Minimumstoffe“ die Vermehrung der Pflanzen und damit auch die Gesamtproduktion begrenzen, aber es fehlte bis vor verhältnismäßig kurzer Zeit eine limnologisch anwendbare Methode, welche es gestattet hätte, diese „Spuren“ mit hinreichender Genauigkeit zu erfassen. Ganz besonders gilt dies für den Nachweis der Phosphate, für deren Bestimmung sowohl das gravimetrische als auch das nephelometrische Verfahren bei normalen Seen vollständig versagt hatte. Erst die Entdeckung der Molybdänblau-Reaktion durch G. DENIGÈS⁶ und die Einführung dieses überaus empfindlichen kolorimetrischen Verfahrens in die Meeresforschung

⁵ Praktikum der physikalischen Chemie, insbes. der Kolloidchemie. 3. Aufl. Berlin 1926.

⁶ Détermination quantitative des plus faibles quantités de phosphate dans les produits biologiques par la méthode céruleomolybdique. *Compt. Rend. Soc. Biol. Paris.* 84 (1921).

durch W. R. G. ATKINS⁷, ermöglichte es, die geringen P-Mengen in den Seen quantitativ zu erfassen. Es ergab sich, daß die oberen „trophogenen“ Wasserschichten meist nur 1—3 γ im Liter an Phosphaten enthalten, ja, daß in vielen Fällen sogar die Erfassungsgrenze der Molybdänblau-Methode (ca. 1 γ im Liter) noch unterschritten wird. Diese Tatsache muß überraschen, wenn man bedenkt, daß diese geringen Mengen die einzige P-Quelle für die Pflanzenproduktion der Lebensgemeinschaft des freien Wassers, des Planktons, bilden. Sie deutet aber auch darauf hin, daß den Phosphaten dort, wo sie durch die Pflanzen dem Wasser bis auf die letzten Spuren entzogen wurden, die Rolle des begrenzenden Faktors zufällt. In der tropholytischen Tiefenschicht, insbesondere der eutrophen Seen, tritt erwartungsgemäß — durch den Abbau der im Licht erzeugten und später abgesunkenen organischen Substanzen — ein Anstieg der anorganischen P-Verbindungen auf, der in besonders extremen Fällen die Größenordnung von mehreren 100 γ im Liter erreichen kann.

Die Erforschung des Stickstoff-Kreislaufes in den Seen wurde durch die Verbesserung der Untersuchungsmethodik: für Nitrat durch die Diphenylamin-Reaktion nach J. TILLMANS⁸ und die Strychninmethode nach H. W. HARVEY⁹, für Nitrit durch die Methode nach GRIESS (LUNGE¹⁰) und für Ammonium durch die Verbesserung des NESSLER-Verfahrens nach L. W. WINKLER¹¹ angebahnt. Im oligotrophen See kommt der anorganische N in allen Tiefen als Nitrat, meist in der Größenordnung von wenigen Zehntelmilligrammen im Liter, vor. Die sauerstofffreie Tiefe des eutrophen Sees enthält jedoch — infolge von bakterieller Denitrifizierung — kein Nitrat und an dessen Stelle tritt als Abbauprodukt der Eiweißstoffe Ammonium oft in beträchtlichen Mengen (bis zu

⁷ The phosphate content of fresh and salt waters in its relationship to the growth of the algal plankton (I). *J. Marine Biol. Assoc.* 13 (1923).

⁸ Über die Anwendbarkeit von Diphenylamin-Schwefelsäure zu kolorimetrischen Bestimmungen. *Ztschr. analyt. Chem.* 56 (1917).

⁹ Nitrate in the sea. *J. Marine Biol. Ass.* 14 (1926).

¹⁰ Zur Nachweisung von kleinen Mengen von salpetriger Säure. *Ztschr. angew. Chem.* 3 (1889).

¹¹ NESSLER's Reagens ohne Kaliumjodid. *Ztschr. Unters. Nahrungs- u. Genussm.* 49 (1925).

einigen mg im Liter) auf. In der Übergangszone vom Nitrat zum Ammonium findet man häufig in geringen Mengen Nitrit.

Durch die erfolgreiche Arbeit der amerikanischen Forscher von der Wisconsin Lake Survey (E. A. BIRGE, CH. JUDAY und Mitarbeiter¹²) wurde festgestellt, daß im Wasser der Seen neben anorganischen C-, N- und P-Verbindungen auch organische Substanzen gelöst sind, deren Menge weit größer ist als jene, die geformt als pflanzliches und tierisches Plankton sowie als Detritus im Wasser schwebt. Dementsprechend ergibt auch die Bestimmung des Gesamtstickstoffs nach der MIKROKJELDAL-Methode (F. PREGL¹³) und des Gesamtphosphors nach R. J. ROBINSON und G. KEMMERER¹⁴ in der Regel weit höhere Werte als die der anorganischen Stickstoffverbindungen (ohne Nitrat!) und der Phosphate. Bei den letzteren beträgt die Größenordnung des Unterschiedes rund eine Zehnerpotenz. Es bleibt jedoch die Frage offen, ob diese organischen Stoffe, insbesondere die P-hältigen, von den Pflanzen des Planktons ausgenutzt werden können oder ob sie als Nährstoffreserve aufzufassen sind, die nur in dem Ausmaß Verwertung findet, als der bakterielle Abbau bis zu ihren anorganischen Bausteinen fortschreitet.

Außer den bisher besprochenen Elementen, die im organischen Stoffwechsel die Hauptrolle spielen, wurden noch für eine Reihe anderer Stoffe ausgeprägte, durch die Lebenstätigkeit der Organismen bedingte Schichtungen in Binnenseen nachgewiesen. Zunächst ist da die Kieselsäure zu nennen, welche für die Diatomeen ein unentbehrlicher Nährstoff ist und deren Bestimmung dem Limnologen durch das einfache kolorimetrische Verfahren nach F. DIENERT und F. WANDENBULCKE¹⁵ ermöglicht wurde. Vermutlich nur teilweise biogen, sind die Schichtungsbilder der Eisen- und Mangan-Verbindungen, die in der O₂-freien Zone eutropher Seen oft in beträchtlichen Mengen auftreten. Das Mn zeigt dabei mitunter sehr prägnante, bis jetzt nicht erklärbare

¹² Organic content of lake water. Bull. Bur. of Fisheries. 42 (1926).

¹³ Quantitative organische Mikroanalyse. 3. Aufl. Berlin 1930.

¹⁴ Determination of organic phosphorus in lake waters. Trans. Wisc. Akad. 25 (1930).

¹⁵ Sur le dosage de la silice dans les eaux. Compt. Rend. Acad. Sc. Paris. 176 (1923).

Maxima an der oberen Grenze des Sauerstoffschwundes. Das Auftreten der Ferro-Verbindungen (vgl. H. MÜLLER¹⁶) ist für den Biologen auch deshalb von besonderem Interesse, weil in der oberen Grenzschicht dieser Zone, also dort, wo O₂ und Fe zusammentreffen, vielfach Massenansammlungen der interessanten Eisenbakterien vorkommen. Von ähnlicher biologischer Bedeutung ist auch der Schwefelwasserstoff, der sich in der O₂-freien Tiefe als Abbauprodukt der Eiweißstoffe, hauptsächlich aber als Ergebnis der bakteriellen Sulfatreduktion, anhäufen kann. An der oberen Grenze der Schwefelwasserstoffzone, und zwar schon in Tiefen, in denen dieses Gas chemisch noch nicht nachweisbar ist, treten in oft ungeheuren, das Wasser rosa färbenden Mengen und in sehr scharf begrenzter, mitunter nur Bruchteile eines Meters umfassender Schichtung verschiedene Arten von Schwefelorganismen auf, welche die Oxydation von H₂S und S als Energiequelle benützen und mit diesem Stoffwechsel eine merkwürdige Sonderstellung in der belebten Natur einnehmen.

Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß die Erscheinungen der chemischen Schichtung in den Seen unter normalen Verhältnissen im engsten Zusammenhang mit dem Stoffumsatz der das Wasser bewohnenden Lebensgemeinschaft stehen. Elemente, die als Nährstoffe keine Rolle spielen, wie z. B. Cl, lassen nur ausnahmsweise und unter dem Einfluß außerhalb des Sees gelegener Faktoren (z. B. Einschichtung salzhaltiger Quellen in größerer Tiefe und dgl.) erhebliche Unterschiede der vertikalen Verteilung erkennen.

Der hier mitgeteilte grobe Umriss des derzeitigen Standes der limnochemischen Forschung läßt erkennen, daß nahezu alle in der letzten Zeit erzielten Fortschritte der Verfeinerung der Analysemethoden, welche die chemische Wissenschaft schrittweise uns zur Verfügung gestellt hat, zu verdanken sind. Die Ergebnisse, die für die kausale Limnologie dadurch gewonnen wurden, sind zweifellos sehr erheblich und ermutigend. Trotzdem darf man sich keiner Täuschung darüber hingeben, daß das Dunkel, welches die Stoffumsätze in einem Binnensee bis vor kurzem völlig verhüllte, sich eben erst zu lichten beginnt. Was wir vom Kreislauf der ein-

¹⁶ Die Verwendung von *a-a'*-Dipyridil zur Bestimmung von Ferro- und Gesamteisen in natürlichen Wässern. Mikrochemie 12, 307 (1933).

zelen Stoffe bisher wissen, bezieht sich lediglich auf das Verhalten einiger Anfangs- und Endglieder in der langen Kette von Umsatzprodukten, welche die lebenswichtigen Nährstoffe in einem See durchlaufen. Für eine große Anzahl sehr wichtiger Elemente und Verbindungen sind wir noch nicht einmal so weit, da bisher für den Limnologen brauchbare Nachweismethoden noch nicht gefunden wurden. So wissen wir derzeit so gut wie nichts darüber, ob das Kalium in den Seen biogene Schichtungen aufweist oder nicht. Ähnlich liegen die Verhältnisse bezüglich des Magnesiums, Aluminiums und der Sulfate. Die vielgestaltigen organischen Zwischenglieder des Stoffumsatzes, die gelöst oder als Kolloide im Wasser enthalten sind, kennen wir nicht einmal der Art nach, geschweige denn hinsichtlich ihrer Menge und Verteilung.

So hat der Limnologe alle Ursache, sein Auge erwartungsvoll auf die Arbeit des Mikrochemikers, der ihm die Schlüssel zu einem tieferen Eindringen in das Stoffgetriebe der Binnengewässer liefern soll, zu richten. Wenn ich als Nichtchemiker mir erlaubte, in dieser, zu Ehren eines der Begründer der Mikrochemie herausgegebenen Festschrift das Wort zu ergreifen, so geschah es nicht nur, um zu zeigen, wieviel die Limnologie dieser Wissenschaft verdankt, sondern auch, um die Mikrochemiker auf die Probleme der Gewässerkunde hinzuweisen und sie zur Ausarbeitung von Methoden, die den Bedürfnissen unserer Arbeitsrichtung besonders angepaßt sind, anzuregen.