

***In situ*-Sanierung eines hochgradig mit Kohlenwasserstoffen kontaminierten Areals in Cerro Dragón, Patagonien, Argentinien**

O. H. PUCCI¹, M. A. BAK¹, S. R. PERESSUTTI¹, I. KLEIN², C. HÄRTIG², L. WÜNSCHE²

¹CEIMA – Centro de Estudios e Investigaciones en Micorbiología Aplicada, Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Geronimo Maliqueo 120, 9000 Comodoro Rivadavia, Argentinien

²UFZ – Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Sektion Umweltmikrobiologie, Permoserstraße 15, 04318 Leipzig, Deutschland

1. Einleitung

In den Erdölfördergebieten Zentralpatagoniens können durch örtliche Havarien in den Förder- und Transportsystemen erhebliche Bodenkontaminationen mit Erdöl auftreten. Zur Sanierung der belasteten Flächen kommen in erster Linie mikrobiologische *in situ*-Verfahren in Betracht.

Als wesentliche Voraussetzung für deren effektive Anwendung ist zu untersuchen, ob dazu das Selbstreinigungspotential der autochthonen Mikroorganismen ausreicht, ob es möglich ist, durch kostengünstige und technologisch mit minimalem Aufwand realisierbare Maßnahmen die den Kohlenwasserstoffabbau katalysierenden Bakterien selektiv zu fördern, oder ob der Einsatz einer extern vermehrten Starterkultur mit hohem Abbaupotential Vorteile bietet.

2. Material und Methoden

Untersuchungsgebiet: Als Modellstandort für die *in situ*-Sanierung eines hochgradig mit Kohlenwasserstoffen kontaminierten Ökosystems unter Verwendung einer Starterkultur wurde ein Areal in einem Erdölfeld in Cerro Dragon, 120 km von der Stadt Comodoro Rivadavia (Patagonien, Argentinien) entfernt, ausgewählt. Dieses Areal war nach dem Bruch einer Erdölpipeline extrem mit Rohöl belastet.

Sanierungsmethodik: Die Untersuchungen wurden in zwei Etappen durchgeführt:

In der *ersten Etappe* (August 1995 – Dezember 1996) wurden zunächst Erdöl und Bodenmatrix intensiv mechanisch durchmischt, anschließend wurde der Boden mit Wasser und anorganischen Nährstoffen versorgt und mittels mechanischer Methoden aufgelockert/belüftet.

In der *zweiten Etappe* (Beginn Dezember 1996, noch nicht abgeschlossen) wurde ein Teil des kontaminierten und in der ersten Etappe bearbeiteten Areals in 4 Sektoren mit jeweils 16 m² unterteilt, die unterschiedlich behandelt wurden:

- | | |
|-------------|---|
| Sektor I: | Zugabe anorganischer Nährstoffe (Düngung) |
| Sektor II: | Beimpfung mit der Starterkultur |
| Sektor III: | Zugabe anorganischer Nährstoffe + Beimpfung |
| Sektor IV: | Kontrolle (ohne Düngung und Beimpfung) |

Als anorganische Nährstoffe wurden Na₂HPO₄, NH₄Cl und KNO₃ eingesetzt. Bei der Düngung wurden C:P- bzw. C:N- Verhältnisse von 800:1 bzw. 60:1 aufrechterhalten (DIBBLE und BARTHA 1979).

Als Starterkultur wurde der Stamm *Dietzia maris* CR-053 verwendet, der in Patagonien isoliert wurde (PERESSUTTI et al. diese Zeitschrift). Zur Herstellung des Inokulums wurde ein mit 0,25 g Hefeextrakt/l angereichertes mineralisches Medium (MBM; Bestandteile in g/l: NaCl 5; KH₂PO₄ 1; (NH₄)₂SO₄ 1; MgSO₄ 0,2; KNO₃ 3; pH-Wert 7) mit 0,5% Dieselöl als C- und Energiequelle verwendet. Das beimpfte Kulturmedium wurde in 4 l- Gefäßen bei Raumtemperatur bis zum Erreichen einer Zelldichte von 10⁷ cfu/ml inkubiert.

Probenahme und -bearbeitung: In der ersten Etappe wurden Proben aus dem kontaminierten Areal und einer nichtkontaminierten Vergleichsfläche entnommen, in der zweiten Etappe wurden Proben aus den vier Sektoren der Untersuchungsfläche analysiert. Alle Bodenproben wurden nach einem aleatorischen und systematischen Verfahren gezogen und anschließend im Labor homogenisiert (WEBSTER und OLIVER 1990).

Kohlenwasserstoffanalytik: Die Bodenproben wurden periodisch auf ihren Kohlenwasserstoffgehalt untersucht. Dazu wurden sie mit Chloroform extrahiert und anschließend die Gesamtkohlenwasserstoffgehalte gravimetrisch bestimmt. Zur Beurteilung der Verschiebungen im Kohlenwasserstoffspektrum während des Sanierungsprozesses wurden die Chloroformextrakte an einer Silicagel-Säule (Kieselgel 60, 35 - 70 mesh, Fa. Merck) fraktioniert. Die Hauptfraktionen Aliphate, Aromaten und Asphaltene wurden sukzessiv mit jeweils ca. 300 ml Hexan, Benzen und Chloroform/Methanol (1:1 v/v) eluiert. Die Fraktionen wurden in Portionen von 25 ml aufgefangen (insgesamt 33 Teilfraktionen), deren Kohlenwasserstoffgehalt nach Verdampfung des Lösungsmittels gravimetrisch bestimmt wurde (nach DIBBLE und BARTHA 1979, modifiziert).

Mikrobiologische Analytik: *Keimzahlen* wurden durch Ausstreichen entsprechend mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnter Bodensuspensionen auf festen Nährböden ermittelt. Die Gesamtkeimzahl aerober Bakterien wurde auf R2A-Agar (Zusammensetzung in g/l: Hefeextrakt 0,5; Pepton 0,5; Casamino acids 0,5; Glucose 0,5; Stärke 0,5; Natriumpyruvat 0,3; K₂HPO₄ 0,3; MgSO₄ 0,5; Agar 12; pH-Wert 7,2), der Gehalt an kohlenwasserstoffabbauenden Bakterien auf agarverfestigtem MBM-Medium bestimmt. Auf der Oberfläche des MBM-Agars wurden jeweils 20 µl eines Erdöl- Dieselkraftstoff-Gemisches (1:1) verteilt.

Zur *Isolierung der Hauptkomponenten der Bakteriozönosen* wurden von allen zur Bestimmung der Gesamtkeimzahlen angelegten Agarplatten, die zwischen 30 und 300 Kolonien enthielten, koloniemorphologisch unterscheidbare Stämme abgeimpft und nach Kolonie- und Zellmorphologie, Gramverhalten und einem Minimum an physiologisch-biochemischen Daten (Anwesenheit von Katalase und Oxidase, Nitratreduktion, Wachstum auf Thioglycolat-, SIM- und OF-Medium; (MACFADIN 1980)) grob klassifiziert. Die *taxonomische Zuordnung der Isolate* wurde durch kombinierte Anwendung automatisierter Identifizierungssysteme (BIOLOG-System: BIOLOG Inc., Hayward, Calif., U.S.A. und Microbial Identification System MIS/SHERLOCK: MIDI Inc., Newark, Del., U.S.A.) unter Einbeziehung diagnostisch relevanter weiterer Kriterien (z.B. Zellmorphologie, chemische Zusammensetzung der Zellwand, physiologisch- biochemische Grundparameter) vorgenommen (WÜNSCHE et al. 1997). Die *Struktur und Dynamik der autochthonen Bakteriozönosen* wurden sowohl nach den auf GN- und GP- Mikrotiterplatten des BIOLOG-Systems aufgenommenen Substratverwertungsspektren der mit 0,2%iger Na₄P₂O₇-Lösung von der Bodenmatrix abgetrennten Bakterien abgeschätzt (WÜNSCHE et al. 1995) als auch über die taxonomische Einordnung der isolierten und kultivierbaren Hauptkomponenten bestimmt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Übersicht über den Verlauf des Sanierungsprozesses

Die Veränderungen im Gesamtkohlenwasserstoffgehalt und in der Besiedlungsdichte mit Bakterien, besonders mit kohlenwasserstoffabbauenden Bakterien, charakterisieren den Verlauf des Sanierungsprozesses über den gesamten Untersuchungszeitraum (Abb. 1).

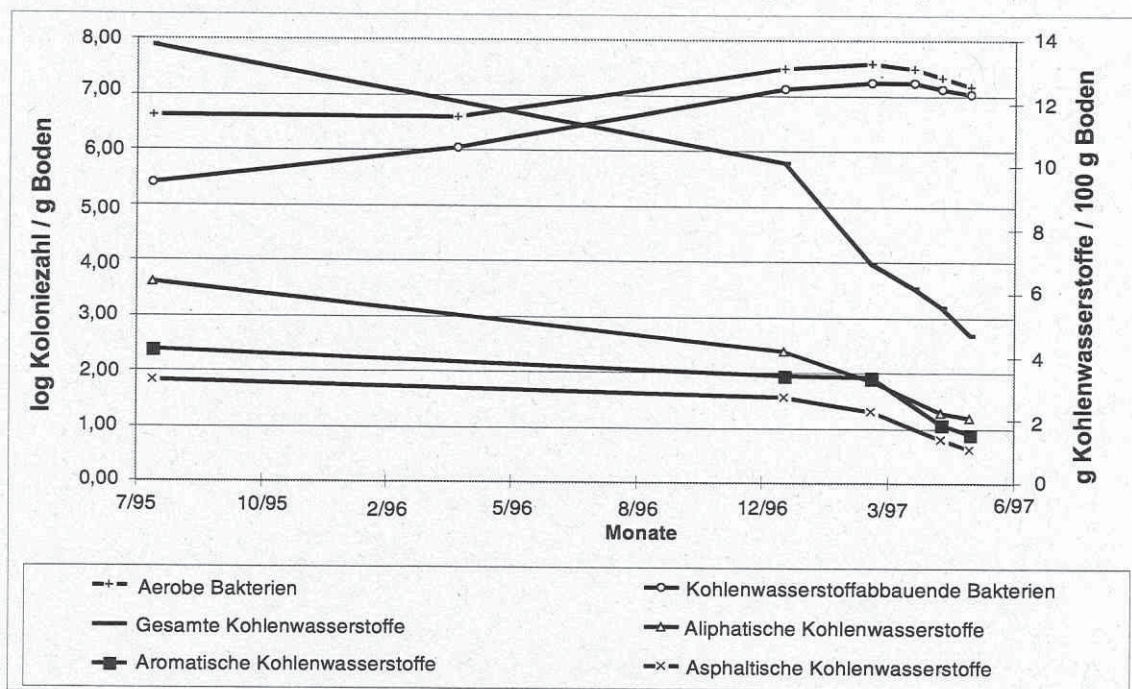


Abb. 1: Veränderungen im Gehalt an Kohlenwasserstoffen und kultivierbaren Bakterien während des Sanierungsprozesses (Erläuterungen im Text)

Die erste Sanierungsetappe (August 1995 - Dezember 1996) begann ca. 3 Monate nach der massiven Rohölkontamination (Mai 1995), Nährsalze und Wasser wurden nur zweimal (Anfang November 1995) zugeführt. Am Ende der Versuchsperiode (nach 16 Monaten Sanierungszeit) wurde eine Abnahme des Kohlenwasserstoffgehaltes des Bodens um ca. 25% festgestellt; in Anbetracht der Länge der Versuchsperiode und der zusätzlichen Kohlenwasserstoffverluste durch Verdunstung der leichtflüchtigen Komponenten des Erdöls eine nur geringfügige Verringerung der Kontamination. Überwiegend wurden in dieser Etappe aliphatische Kohlenwasserstoffe abgebaut, in deutlich geringerem Maße Aromaten und polare Kohlenwasserstoffe oder Asphaltene. Die Besiedlungsdichten mit kultivierbaren aeroben Bakterien (insgesamt) bzw. mit Kohlenwasserstoffabbauern stiegen um ein bis zwei Größenordnungen an.

Die zweite Etappe begann im Dezember 1996 und ist noch nicht abgeschlossen. Die Veränderungen im Kohlenwasserstoffgehalt und in der mikrobiellen Besiedlungsdichte im beimpften und gedüngten Sektor der Versuchsfläche sind in Abbildung 1 dargestellt. In dieser Etappe stiegen die bakteriellen Besiedlungsdichten (in der betrachteten Variante) nur noch geringfügig an. Dennoch erhöhte sich die Abbaurate erheblich, nach 6 Monaten waren 55% der zu Anfang dieser Etappe noch nachweisbaren Gesamtkohlenwasserstoffe abgebaut. In den übrigen

Sektoren wurden deutlich schlechtere Abbauleistungen gefunden (Abb. 2): Im unbeimpften und nicht gedüngten Sektor (Kontrolle) sank der Gesamtkohlenwasserstoffgehalt lediglich um 13%, im gedüngten, aber nicht beimpften Sektor um 16% und im beimpften, aber nicht gedüngten Sektor um 30%.

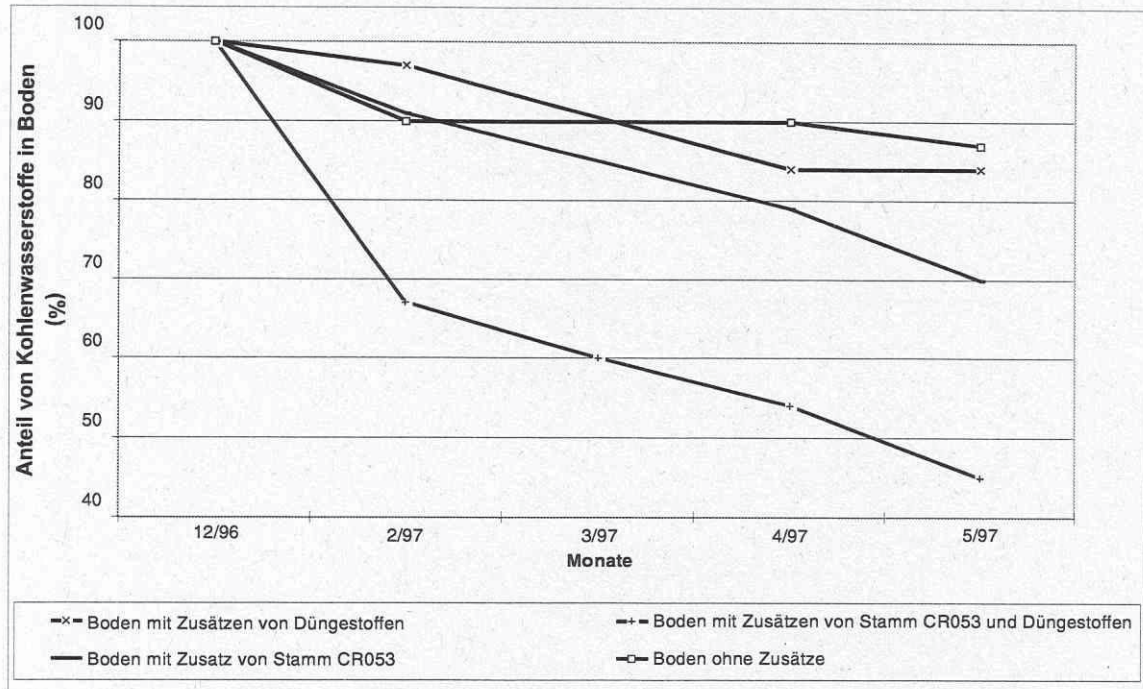


Abb. 2: Abnahme des Gesamtkohlenwasserstoffgehalts (Chloroformextrakt) der Böden in den vier Versuchsvarianten

Im gesamten Zeitraum des bisher kontrollierten Sanierungsexperiments (August 1995 bis Mai 1997) sank (unter optimierten Bedingungen in der zweiten Etappe) der Gesamtkohlenwasserstoffgehalt des Bodens auf ca. 30% des Ausgangswertes. Gegenwärtig wird untersucht, ob diese Restkonzentration unter den gegebenen Bedingungen weiter reduziert werden kann.

3.2 Abbau der Hauptfraktionen der Erdölkontamination unter optimierten Sanierungsbedingungen

Abbildung 3 zeigt die Verschiebungen in der Zusammensetzung des kontaminierenden Erdöls im Verlauf der Bioremediation unter optimierten Bedingungen (Beimpfung und Düngung). Die Ergebnisse der fraktionierten Säulenchromatographie zeigen, daß im Erdöl zum Zeitpunkt des Beginns des Sanierungsexperiments aliphatische Kohlenwasserstoffe dominierten. Es ist deutlich zu erkennen, daß im Verlauf des Sanierungsprozesses im beimpften und gedüngten Sektor der Versuchsfläche die Fraktion der aliphatischen Kohlenwasserstoffe am schnellsten abgebaut wurde, deutlich langsamer nahmen die Aromatenfraktion und, mit noch geringerer Rate, die Fraktion der polaren Kohlenwasserstoffe oder Asphaltene, ab. Die unterschiedlichen Abbauraten führten zu einem nahezu gleichen Anteil der untersuchten drei Hauptfraktionen am Restkohlenwasserstoffgehalt am (vorläufigen) Ende des Sanierungsprozesses.

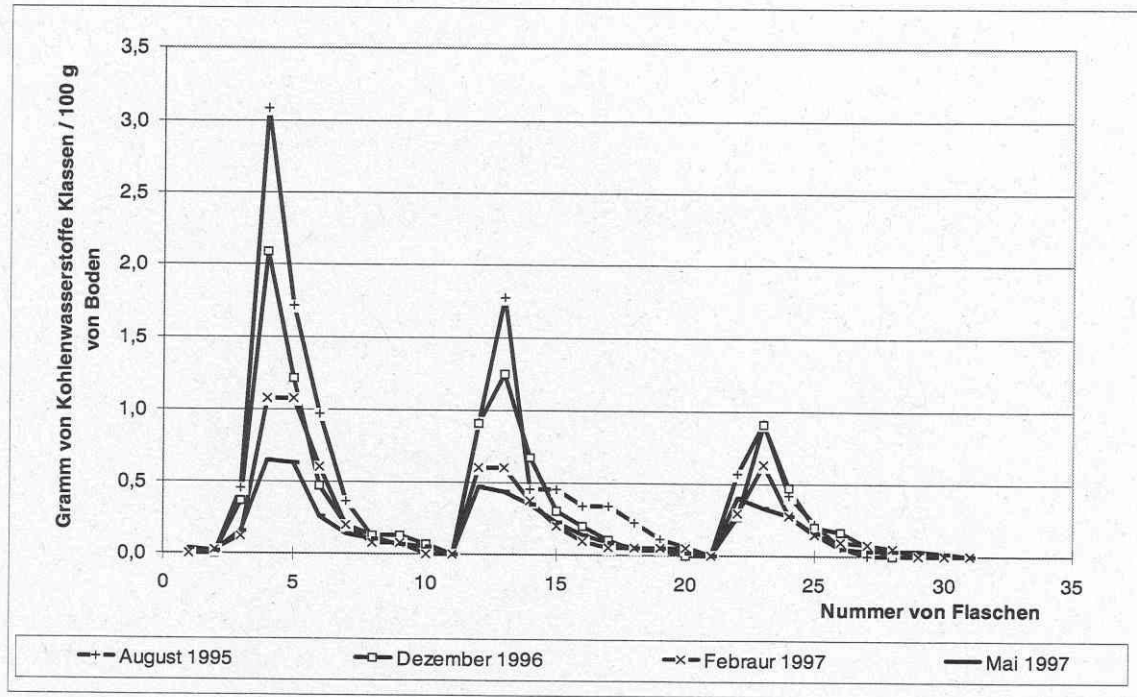


Abb. 3: Abbau unterschiedlicher Kohlenwasserstoff-Fractionen während des Sanierungsprozesses im gedüngten und beimpften Böden (Erläuterung im Text)

3.3 Entwicklung der autochthonen bakteriellen Biozönose im Verlauf des Sanierungsexperiments

3.3.1 Veränderungen im Substratverwertungsspektrum der gesamten Bakteriozönose

Die Anzahl der durch die gesamte Biozönose verwertbaren BIOLOG-Substrate stieg in den ersten vier Monaten der zweiten Sanierungsetappe (Dezember 1996 bis April 1997) in allen vier Sektoren der Versuchsfläche (einschließlich Kontrolle) kontinuierlich an (Abb. 4). Das weist auf signifikante Änderungen in der Zusammensetzung aller Biozönosen hin. Der Anstieg der Zahl der genutzten BIOLOG-Substrate ist durch das Aufkommen von Spezies mit anderem Substratverwertungsspektrum in den Biozönosen bedingt. Diese Erhöhung der taxonomischen Diversität könnte auf die Verfügbarkeit verwertbarer Kohlenwasserstoffe in allen Versuchsvarianten zurückzuführen sein.

Nach 4 - 5 Monaten stieg die Anzahl der genutzten BIOLOG-Substrate nicht mehr an. Zu diesem Zeitpunkt konnten die Biozönosen jedoch bereits 80 - 90% der angebotenen 128 BIOLOG-Substrate verwerten. Damit können weitere Veränderungen in der Zusammensetzung der Biozönosen nur noch bedingt abgeschätzt werden. Andererseits ist es durchaus möglich, daß die Entwicklung der Biozönosen stagniert, da der mikrobiologisch zugängliche Anteil der Erdölkontamination, der als C-Quelle im Ökosystem dient, zu diesem Zeitpunkt größtenteils schon abgebaut ist.

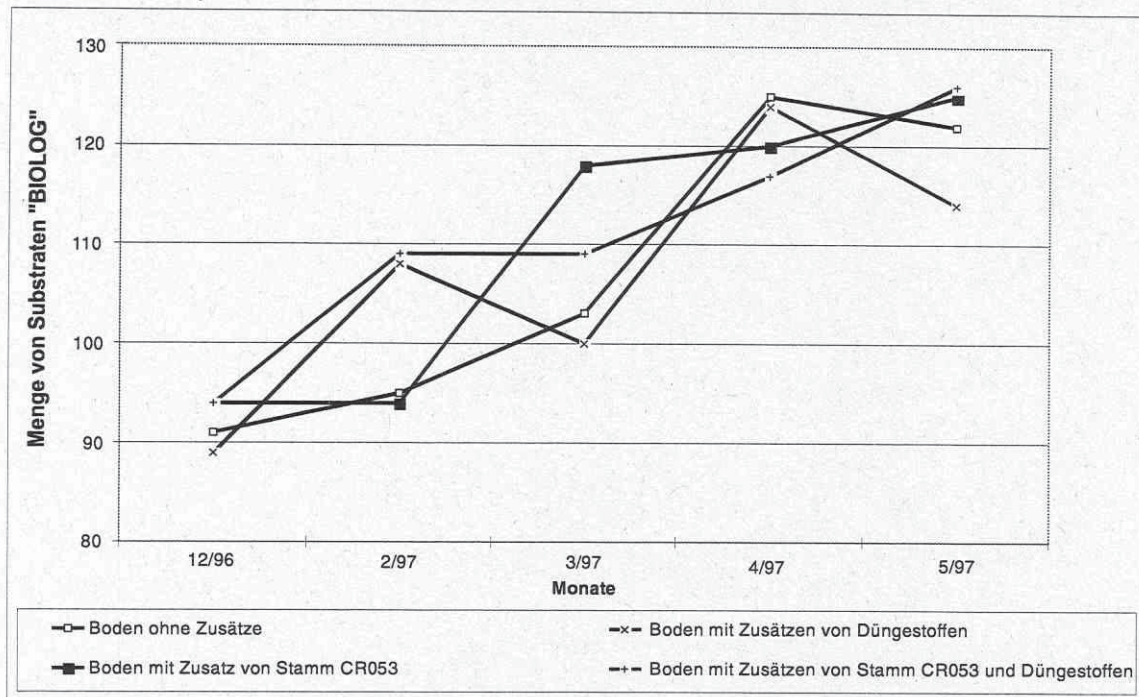


Abb. 4: BIOLOG-Substratverwertungsspektren der gesamten Biozönosen aller Versuchsvarianten in Abhängigkeit von der Sanierungszeit

Obwohl sich der Anzahl der genutzten BIOLOG-Substrate in allen Versuchsvarianten deutlich erhöhte, waren die Substratverwertungsspektren der Biozönosen aller Sektoren zum jeweils gleichen Zeitpunkt untereinander sehr ähnlich. Das zeigt sich in den hohen Ähnlichkeitskoeffizienten (S_j zwischen 0,813 und 0,860) beim direkten Vergleich der BIOLOG-Substratverwertungsspektren der Biozönosen, die sich in den drei behandelten Sektoren entwickelten, mit dem Substratverwertungsspektrum der Biozönose des Kontrollsektors (Tab. 1). Diese Befunde weisen darauf hin, daß sich die taxonomische Zusammensetzung der Biozönosen deutlich, aber in allen Versuchsvarianten in sehr ähnlicher Art und Weise ändert. Ursache dafür könnte wiederum das in allen Varianten gleiche C-Substrat (utilisierbare Kohlenwasserstoffe) im jeweiligen Ökosystem sein. Die Beimpfung mit der Starterkultur beeinflusst das BIOLOG-Substratverwertungsspektrum nicht nachweisbar. Dafür können zwei Gründe diskutiert werden: Entweder sind in der autochthonen Biozönose bereits Stämme dieses Taxons vorhanden oder der Anteil des Inoculums an der Biozönose ist zu gering, um einen nachweisbaren Beitrag zum Substratverwertungsspektrum der gesamten Biozönose liefern zu können. Am Ende der Versuchsperiode (Probenahme im April 1997) glichen sich auch diese Differenzen weitgehend aus ($S_j > 0,900$). In Bezug auf die mengenmäßig dominierenden Komponenten sollten deshalb alle untersuchten Biozönosen weitgehend ähnlich sein.

3.3.2 Charakterisierung der Bakteriozönosen durch Isolierung und taxonomische Einordnung ihrer Hauptkomponenten

Die Hinweise zur Struktur und Dynamik der autochthonen Biozönosen, die sich aus der Auswertung der Substratverwertungsspektren ergaben, wurden durch die Ergebnisse der taxonomischen Analysen bestätigt. Auf Grund der relativ hohen Besiedlungsdichte und Artenvielfalt waren erhebliche Verdünnungen der aus den Bodenproben gewonnenen Mikroorganismensuspensionen erforderlich, um Einzelkolonien isolieren zu können. Es konnten daher nur die

quantitativ dominierenden Hauptkomponenten isoliert werden, die in Konzentrationen von mindestens 10^5 - 10^6 cfu/g Boden vorkommen.

Tab. 1: Ähnlichkeit (Jaccard-Index S_J) der Substratverwertungsspektren der Biozönosen der behandelten Sektoren der Versuchsfläche mit dem Substratverwertungsspektrum des Kontrollsektors

S_J , bezogen auf das BIOLOG-Substratverwertungsspektrum der Biozönose der Kontrolle (Sektor IV)				
Datum der Untersuchung	Dauer der Sanierung (Monate)	Sektor I (gedüngt)	Sektor II (beimpft)	Sektor III (gedüngt+beimpft)
Februar 1997	2	0,813	0,817	0,829
März 1997	3	0,845	0,842	0,860
April 1997	4	0,968	0,937	0,936

Die Biozönosen des beimpften/gedüngten Bodens und des unbehandelten Kontrollsektors zeigten zu Beginn des Versuchsabschnitts (Dezember 1997) keine signifikanten Unterschiede: Gram-positive Arten dominierten eindeutig, die Biozönosen bestanden praktisch ausschließlich aus Vertretern der *Actinomycetales* (Gattungen *Gordonia*, *Dietzia*, *Rhodococcus*). Ungefähr 10% der Gram-positiven Isolate konnten nicht mit ausreichender Sicherheit identifiziert werden. Als einziger Vertreter der Gram-negativen Bakterien wurde auf beiden Versuchssektoren *Alcaligenes xylosooxidans* nachgewiesen.

Nach zwei Monaten (Probenahme Februar 1997) wurden deutliche Veränderungen festgestellt. Kennzeichnend war das verstärkte Vorkommen Gram-negativer Bakterien in beiden Biozönosen. *Acinetobacter calcoaceticus* und *Pseudomonas mendocina* wurden im unbehandelten Kontrollboden, *Pseudomonas stutzeri* (in hohen Anteilen an der gesamten Biozönose) und *Pseudomonas fluorescens* im gedüngten und beimpften Boden gefunden. Zusätzlich zu den bereits im Dezember 1997 nachgewiesenen Aktinomycetengattungen *Gordonia*, *Dietzia* und *Rhodococcus* (besonders *R. fascians* und *R. erythropolis*) traten weitere Gattungen wie *Arthrobacter* (in beiden Flächen), *Bacillus* im beimpften und gedüngten Boden und *Microbacterium* in der unbehandelten Kontrolle auf.

3.3.3 Schicksal der Starterkultur *Dietzia maris* CR-053 im Ökosystem

In den Böden Patagoniens ist *Dietzia maris* als autochthone Art verbreitet und wird sowohl in erdölkontaminierten als auch in unbelasteten Böden gefunden. Der Stamm CR-053 wurde aus einer erdölkontaminierten Bodenprobe von einem anderen Ölfeld isoliert, der Art *Dietzia maris* zugeordnet (PERESSUTTI et al. diese Zeitschrift) und als Starterkultur für die dargestellten Sanierungsexperimente eingesetzt.

Während des Sanierungsprozesses wurden Stämme von *Dietzia maris* sowohl im beimpften/gedüngten Sektor als auch im unbehandelten Kontrollsektor der Versuchsfläche gefunden. Von diesen Isolaten wurden die Fettsäureprofile aufgenommen und geprüft, ob mit dieser Methode eine Differenzierung zwischen der eingebrachten Starterkultur und den autochthonen *Dietzia maris*- Stämmen möglich ist. Eine völlige Übereinstimmung mit dem Fettsäureprofil der Reinkultur des Stammes CR-053 wurde nur bei Isolaten aus dem beimpften/gedüngten

Sektor bei Probenahme im Februar 1997 gefunden. Alle anderen Isolate, die im Dezember 1996 und im Februar 1997 aus Bodenproben vom beimpften/gedüngten Sektor und vom Kontrollsektor gewonnen wurden und zur Art *Dietzia maris* (oder zu den nahe verwandten Gattungen *Gordonia* oder *Rhodococcus*) gehören, zeigten mehr oder weniger deutlich abweichende Fettsäureprofile. Der Befund, daß *Dietzia maris* CR-053 mit dieser Methode direkt nach der Beimpfung (Probenahme Dezember 1996) im Ökosystem nicht nachweisbar war, könnte auf den zu geringen Anteil ($< 1\%$) des Inokulums (Animpfdichte ca. 10^5 cfu/g Boden) an der Gesamtbiozönose zurückgeführt werden. In den folgenden zwei Monaten fand höchstwahrscheinlich eine Vermehrung des Inokulums statt, die Konzentration betrug bei der Probenahme im Februar 1997 10^6 cfu/g Boden (ca. 10% der Gesamtbiozönose) und lag damit im Nachweisbereich der Methode der Kolonievereinzellung über Verdünnungsreihen auf Agarplatten. Ob die unter Standardbedingungen aufgenommenen Fettsäureprofile tatsächlich zur Stammdifferenzierung verwendet werden können, muß in weiterführenden Untersuchungen geklärt und abgesichert werden.

Erste Analysen der Bakteriozönosen mittels Temperaturgradienten-Gelelektrophorese (TGGE) lieferten ebenfalls Hinweise darauf, daß die Art *Dietzia maris* im beimpften/gedüngten Boden und im Kontrollsektor vorhanden ist (Anwesenheit der entsprechenden Bande im Gel). Eine Differenzierung auf Stammniveau ist mit dieser Methode nicht möglich.

4. Zusammenfassung

Die *in situ*-Sanierung eines hochgradig mit Erdöl kontaminierten semiariden Bodens in Zentralpatagonien wurde unter optimierten Bedingungen erfolgreich durchgeführt. Das Beimpfen mit einer Starterkultur mit hohem Abbaupotential für ein breites Kohlenwasserstoff-Spektrum in Kombination mit der Zugabe anorganischer Nährstoffe beschleunigte signifikant den Sanierungsprozeß.

Unter optimierten Bedingungen wurden 66% der im Boden nachweisbaren Kohlenwasserstoffe abgebaut. Alle untersuchten Fraktionen der Erdölkontamination (Aliphate, Aromaten und Asphaltene) wurden abgebaut, allerdings mit unterschiedlichen Geschwindigkeiten. Daraus resultierten erhebliche Unterschiede in der Zusammensetzung der im Boden verbliebenen Restkohlenwasserstoffe, verglichen mit dem kontaminierendem Erdöl. Aliphate, Aromaten und Asphaltene bildeten mit etwa gleichen Anteilen diesen Restkohlenwasserstoffgehalt.

Die Zusammensetzung der autochthonen Biozönosen veränderten sich im Verlauf des Sanierungsprozesses in allen Versuchsvarianten (einschließlich Kontrolle) signifikant und kontinuierlich, jedoch in ähnlicher Richtung. Deshalb waren zwischen den Biozönosen aller Versuchsvarianten zum jeweils gleichen Zeitpunkt nur geringfügige Unterschiede festzustellen.

Sowohl nach dem festgestellten Sanierungseffekt als auch nach dem direkten Nachweis über eine Re-Isolation hatte sich die Starterkultur *Dietzia maris* CR-053 im Ökosystem etabliert. Eine Differenzierung zwischen Starterkultur und autochthonen Stämmen von *Dietzia maris* könnte über die Aufnahme von Fettsäureprofilen der Isolate unter standardisierten Bedingungen möglich sein.

Literaturverzeichnis

- ALLISON, L. E., BROWN, J. W., HAYWARD, H. E., RICHARDS, L. A., BERNSTEIN, L., FIREMAN, M., PEARSON, G. A., WILCOX, L. V., BOWER, C. A., HATCHER, J. T., REEVE, R. C. 1993: Diagnostico y rehabilitacion de suelos salinos y sodicos. Ed. L. A. Richards, Editorial Limusa, Mexico.
- DIBBLE, J. T., BARTHA, R. (1979): Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 729-739.
- GARCIA TREJO, A. 1981: Experimentos en microbiología del suelo. Ed. Compania Editorial Continental, S. A. Mexico.
- MACFADDIN, J. F. 1980: Biochemical test for identification of medical bacteria. 2th edition., Willams and Wilfins, Baltimore-London.
- WEBSTER, R., OLIVER, M. A. 1990: Sampling and estimation. In: *Spatial Information Systems*. Oxford University Press, pp. 27-56.
- WÜNSCHE, L., BRÜGGEMANN, L., BABEL, W. (1995): Determination of substrate utilization patterns of soil microbial communities: An approach to assess population changes after hydrocarbon pollution. *FEMS Microbiol. Ecol.* 17, 295-306.
- WÜNSCHE, L., HÄRTIG, C., PUCCI, H. O., BABEL, W. 1997: Combined application of BIOLOG and MIS/SHERLOCK for identifying bacterial isolates from hydrocarbon-polluted Argentinian soils. In: Insam, H., Rangger, A. (Eds.) 1997: *Microbial communities*. Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York-Barcelona-Budapest-Hong Kong-London-Milan-Paris-Santa Clara-Singapore-Tokyo.

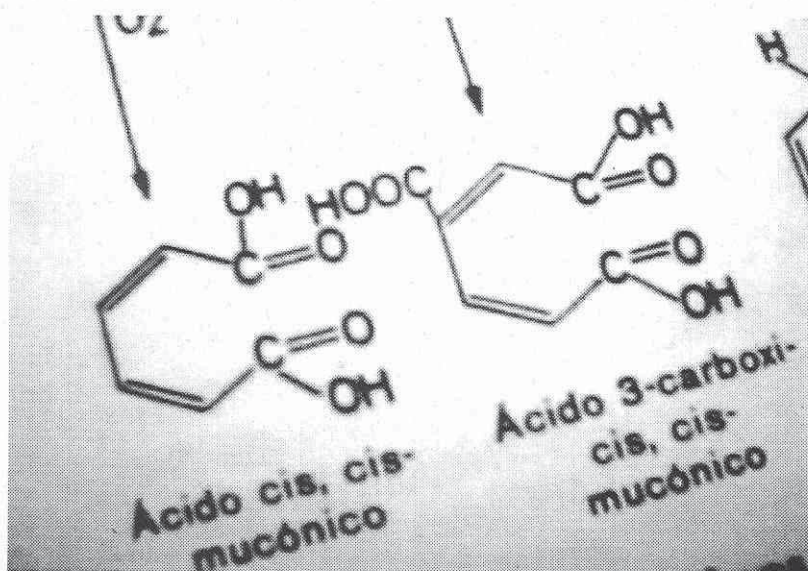
Workshop-Bericht

Bioremediation of polluted areas

La Plata, am 6. und 7. November 1997

Workshop im Rahmen der wissenschaftlich-technischen Zusammenarbeit (WTZ)
zwischen Deutschland und Argentinien

Workshop en el margen de la cooperación científica y tecnológica (WTZ)
entre Argentina y Alemania



Luise Berthe-Corti (Hrsg.)