

**„Lebenszyklus von Nostocales –
eine spezifische dynamische Komponente zur Vorhersage von
Cyanobakterienblüten in Seen und Staugewässern“**

Fachlicher Schlussbericht



FKZ: 02WT0985 und 02WT0986

Laufzeit: 01.04.2008 - 31.08.2012

Verbundprojekt



GEFÖRDERT VOM



**Bundesministerium
für Bildung
und Forschung**

Bad Saarow / Neuglobsow im Oktober 2012

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN entfällt	2. Berichtsart Schlussbericht
3. Titel Lebenszyklus von Nostocales – eine spezifische dynamische Komponente zur Vorhersage von Cyanobakterienblüten in Seen und Staugewässern	
4. Autor(en) [Name(n), Vorname(n)] Rücker, Jacqueline; Wiedner, Claudia; Nixdorf, Brigitte; Ramm, Jessica, Gonsiorczyk, Thomas	5. Abschlussdatum des Vorhabens 31.08.2012
	6. Veröffentlichungsdatum 19.10.12
	7. Form der Publikation Schlussbericht
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Brandenburgische Technische Universität Cottbus, Fakultät Umweltwissenschaften, Lehrstuhl Gewässerschutz, Seestraße 45, 15526 Bad Saarow Leibniz Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei, Abteilung Limnologie von Geschichteten Seen, Alte Fischerhütte 2, 16775 Stechlin-Neuglobsow	9. Ber. Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 02WT0985 und 02WT0986
	11. Seitenzahl 53
12. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. Literaturangaben 38
	14. Tabellen 7
	15. Abbildungen 39
16. Zusätzliche Angaben keine	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Cyanobakterien der Ordnung Nostocales nehmen in vielen Gewässern zu, sowohl invasive tropische als auch heimische Arten. Ziel des Vorhabens war die weitere Aufklärung ihrer Verbreitung und Regulation in tiefen geschichteten Seen unterschiedlicher Trophie und Klimazonen. Der Fokus lag dabei auf der Regulation ihres Lebenszyklus und der Entwicklung einer molekularbiologische Methode zur Quantifizierung ihrer Akineten (Dauerzellen) in Seesedimenten. Die räumliche und zeitliche Verbreitung aller Lebenszyklusstadien wurde in zwei Seen erfasst. Es wurden drei Lebenszyklus-Strategien aufgedeckt, die sich nach Art der Überwinterung unterscheiden: a) nur als Akineten, b) als Akineten oder vegetative Zellen, c) nur als vegetative Zellen. Die Lebenszyklus-Strategie ist stammspezifisch und innerhalb einer Art können unterschiedliche Strategien verfolgt werden. Die ermittelten Keimungstemperaturen der Akineten lagen zwischen 6-8°C. Es wurde erfolgreich eine CARD-FISH Methode zur Akineten Quantifizierung entwickelt. Akineten wurden mit spezifischen Gensonden (16S rRNA Sonden) farblich markiert, wodurch sie deutlich besser sichtbar werden und ihre Quantifizierung doppelt so schnell im Vergleich zur lichtmikroskopischen Methode durchgeführt werden kann. Zudem wurden erstmals metalimnische Biomassemaxima der Art <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> entdeckt. Ein klares Epilimnion ist daher kein Garant für eine gute Gewässerqualität. Die Studie bestätigt den Trend weiter steigender Artenzahlen und Populationsgrößen von Nostocales, auch in Gewässern geringer Trophie. Diesem Trend, der überwiegend auf die Erwärmung der Gewässer zurückzuführen ist, lässt sich nur durch eine verstärkte Reduktion der Nährstoffeinträge in die Gewässer entgegenwirken.	
19. Schlagwörter Cyanobakterien, Nostocales, Lebenszyklus-Strategien	
20. Verlag	21. Preis

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Final report
3. title Life cycles of Nostocales – An intrinsic dynamic component essential to predict cyanobacterial blooms in lakes and reservoirs	
4. author(s) (family name, first name(s)) Rücker, Jacqueline; Wiedner, Claudia; Nixdorf, Brigitte; Ramm, Jessica, Gonsiorczyk, Thomas	5. end of project 31.08.2012
	6. publication date 19.10.12
	7. form of publication Final report
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Brandenburgische Technische Universität Cottbus, Fakultät Umweltwissenschaften, Lehrstuhl Gewässerschutz, Seestraße 45, 15526 Bad Saarow Leibniz Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei, Abteilung Limnologie von Geschichteten Seen, Alte Fischerhütte 2, 16775 Stechlin-Neuglobsow	9. originator's report no. 02WT0985 und 02WT0986
	10. reference no.
	11. no. of pages 53
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references 38
	14. no. of tables 7
	15. no. of figures 39
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date)	
18. abstract Cyanobacteria of the order Nostocales increase in many freshwaters; as well invasive tropical species as native species. The aim of this study was to contribute to the clarification of the distribution and regulation of Nostocales populations in deep stratified lakes with different nutrient status in different climatic regions. The research focused mainly on the regulation of Nostocales life cycle and the development of a molecular method to quantify akinetes (dormant cells) in lake sediments. Temporal and seasonal occurrence of all life cycle stages was determined in two lakes. Three life cycle strategies were found, differing in the overwintering: a) only as akinetes, b) as akinetes and vegetative cells, c) only as vegetative cells. Life cycle strategy was found to be strain specific. Different populations of the same species can perform different life cycles. Germination temperatures between 6-8°C were detected for akinetes. A CARD-FISH method was successfully developed for the enumeration of akinetes in sediment samples. Akinetes were labeled with specific fluorescent genetic probes so that they became much better visible and their enumeration was twice as fast compared to older methods. Additionally, we found for the first time populations of the species <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> that forms metalimnic peaks. Therefore, it cannot be guaranteed that water quality of a lake is good if the epilimnion is clear. Overall, our study confirms that Nostocales increase in species richness as well as in their population size. This can be mainly explained by rising water temperatures. To counteract this trend stronger efforts are required to reduce nutrient inputs to freshwaters.	
19. keywords Cyanobacteria, Nostocales, Life cycle Regulation	
20. publisher	21. price

Das Verbundprojekt „Lebenszyklus von Nostocales – eine spezifische dynamische Komponente zur Vorhersage von Cyanobakterienblüten in Seen und Staugewässern“ ist Bestandteil des deutsch-israelischen Forschungsprojektes: „Life cycle of Nostocales – An intrinsic dynamic component essential to predict cyanobacterial blooms in lakes and reservoirs“, das im Rahmen der BMBF-MOST-Kooperation im Bereich Wassertechnologie durch das BMBF gefördert wurde.

Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter den Förderkennzeichen 02WT0985 und 02WT0986 gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autoren.

Durchführende Institutionen und Autoren:



Brandenburgische Technische Universität Cottbus
Fakultät Umweltwissenschaften und Verfahrenstechnik
Lehrstuhl Gewässerschutz
Forschungsstelle Bad Saarow
Seestraße 45
D-15526 Bad Saarow

Prof. Dr. Brigitte Nixdorf
Dr. Jacqueline Rücker
Dipl. Biol. Jessica Ramm



Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei
Abteilung Limnologie geschichteter Seen
Alte Fischerhütte 2
D-16775 Stechlin-Neuglobsow

Dr. Claudia Wiedner
Dr. Thomas Gonsiorczyk

Kooperationspartner:



Yigal Allon Kinneret Limnological Laboratory
Israel Oceanographic & Limnological Research
PO Box 447
Migdal 14950
Israel

Dr. Assaf Sukenik
Dr. Ora Hadas
Dr. Gideon Gal

Kurzfassung

Hintergrund

In Folge der Eutrophierung dominieren Cyanobakterien die Phytoplanktongemeinschaft in vielen Gewässern. Es kommt zu Massenentwicklungen von Cyanobakterien, so genannten „Algenblüten“, wodurch die Nutzung der Gewässer für Erholungszwecke oder Trinkwassergewinnung nur eingeschränkt möglich ist. Cyanobakterien werden zusätzlich durch die Erwärmung unserer Seen begünstigt, was insbesondere auf die Gruppe der Nostocales zutrifft, die vergleichsweise hohe Temperaturoptima für ihre Wachstumsrate haben. Daher breiten sich tropische Nostocales-Arten bis in Seen der gemäßigten Breiten aus, aber auch heimische Arten profitieren von der Erwärmung. Nostocales sind zudem auch in nährstoffarmen, meist tiefen geschichteten Seen weit verbreitet, u.a. weil sie in der Lage sind, molekularen gasförmigen Stickstoff zu fixieren.

Im letzten Jahrzehnt hat sich das Artenspektrum von Nostocales, ihr relativer Anteil an der Phytoplanktonbiomasse und auch ihre absolute Populationsgröße drastisch erhöht. Die Aufklärung ihrer Verbreitung sowie der Regulation ihrer Populationen sind daher essentiell für ein besseres Verständnis unserer Gewässerökosysteme, was letztlich die Grundlage für ein nachhaltiges Gewässermanagement bildet. Im Vergleich zu anderen Gruppen von Cyanobakterien, wie *Microcystis* (Ordnung Croococales) oder *Planktothrix* (Ordnung Oscillatoriales), ist die Ökologie der Nostocales weniger gut erforscht. Die bisherigen Erkenntnisse beschränken sich überwiegend auf Populationen in Flachseen, wobei der Forschungsfokus auf der Regulation ihrer Wachstumsphase im Pelagial (dem Wasserkörper der Seen) lag. Nostocales können jedoch Akineten (Dauerstadien) bilden, mit denen sie ungünstige Lebensbedingungen überdauern. In Seen der gemäßigten Breiten vollziehen Nostocales in der Regel einen jahreszeitlichen Lebenszyklus. Am Ende der Wachstumsphase im Herbst bilden sie Akineten, die auf den Grund der Gewässer sedimentieren, im Sediment überwintern und im Frühjahr wieder auskeimen. Es war jedoch unklar, ob alle Nostocales die gleichen Lebenszyklus-Strategien verfolgen und wie die einzelnen Lebenszyklusprozesse reguliert werden.

Ziele

Mit dem Vorhaben soll die Verbreitung und Regulation von Cyanobakterien der Ordnung Nostocales in tiefen, geschichteten Seen unterschiedlicher Trophie und Klimazonen weiter aufgeklärt werden. Hierzu sollen Wissenslücken bezüglich der Regulation ihres Lebenszyklus sowie zur Abundanz und räumlichen Heterogenität der vegetativen Populationen im Wasserkörper und ihrer Dauerstadien (Akineten) im Sediment, aus denen sich die pelagischen Populationen rekrutieren, ermittelt werden. Zudem sollte eine molekularbiologische Methode zur Detektion und Quantifizierung von Akineten im Sediment entwickelt werden. Die Modellgewässer waren der Scharmützelsee und der Stechlinsee sowie der Lake Kinneret, der vom israelischen Projektpartner untersucht wurde.

Ergebnisse und Schlussfolgerungen

Diese Studie bestätigt, dass sich das Artenspektrum von Nostocales, ihr relativer Anteil an der Phytoplanktonbiomasse und ihre absolute Populationsgröße in den Untersuchungs-gewässern vergrößern. Im Scharmützelsee wurde eine relative Zunahme von Nostocales ermittelt, im Stechlinsee wurde eine relative und absolute Zunahme von Nostocales gefunden, und im Lake Kinneret wurde eine neue invasive Art, *Anabaena bergii*, nachgewiesen.

Ein weiteres bedeutendes Ergebnis dieser Studie besteht im erstmaligen Nachweis von drei unterschiedlichen Lebenszyklus-Strategien von Nostocales in limnischen Gewässer-ökosystemen (Abb. 1), wobei diese Strategien sowohl art- als auch gewässerspezifisch sein können.

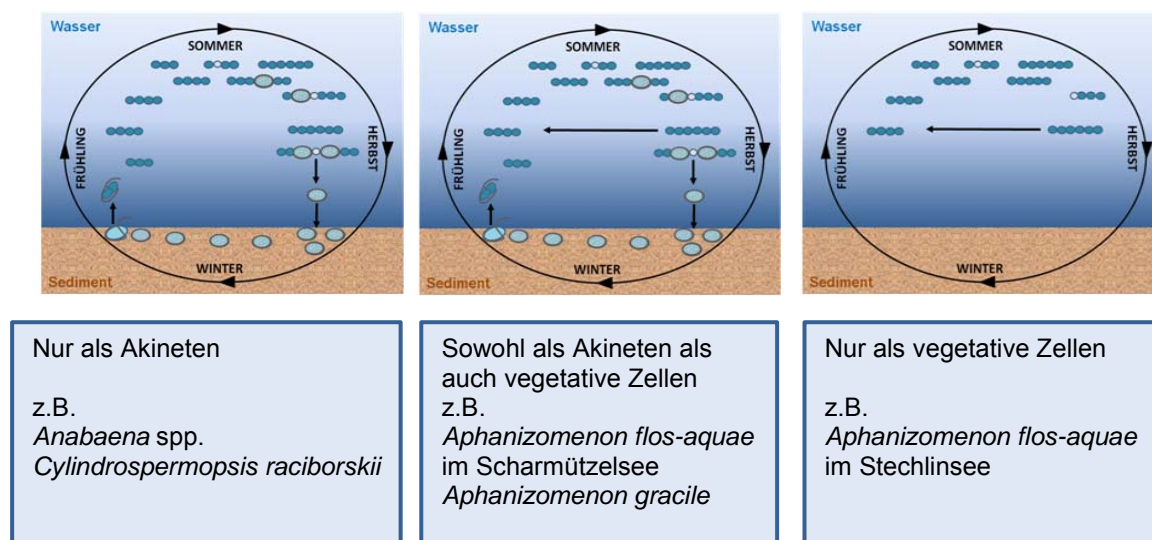


Abb. 1. Schematische Darstellung der Lebenszyklus-Strategien von Nostocales in Seen.

Es konnte gezeigt werden, dass die Überwinterungsstrategie sogar innerhalb einer Art zwischen Populationen in verschiedenen Gewässern variieren kann. Beispielsweise bilden Populationen von *Aphanizomenon flos-aquae* im Stechlinsee keine Akineten und überwintern ausschließlich in Form von vegetativen Zellen, während dieselbe Art im Scharmützelsee teils als Akineten und teils als vegetative Zellen überwintert.

Die Population von *Aphanizomenon flos-aquae* im Stechlinsee zeichnet sich zudem durch ihr metalimnisches Maximum während der vegetativen Wachstumsphase im Sommer aus. Solche metalimnischen Maxima waren bisher nur von Cyanobakterien der Ordnung Oscillatoriales, vor allem *Planktothrix rubescens* (Burgunderalge), Picocyanobakterien oder eukaryotischen Algen, beispielsweise Kryptomonaden, bekannt. In welche Tiefe sich die *Aphanizomenon-flos-aquae*-Population einschichtet, wird durch das Lichtangebot gesteuert. Das Populationswachstum von *A. flos-aquae* ist sehr gering, genauso wie ihr Beitrag zur gesamten Primärproduktion. Metalimnische Maxima können sich nur ausbilden, wenn genügend Licht bis in das Metalimnion vordringt. Im Stechlinsee konnte sich beispielsweise in 2011 eine *Anabaena*-Population im Epilimnion entwickeln, die einen Großteil des Lichtes absorbierte, so dass nicht mehr genügend Licht bis ins Metalimnion

vordrang und sich kein metalimnisches Maximum von *Aphanizomenon flos-aquae* ausbilden konnte.

Das Beispiel metalimnischer Populationsmaxima zeigt, dass ein klares Epilimnion kein Garant für eine gute Gewässerqualität darstellt. Durch Sturmereignisse, die eine Durchmischung des Wasserkörpers bis in den Bereich des Metalimnions verursachen können oder Aufräumungen, kann es innerhalb von Stunden zu einem rapiden Anstieg der Biomasse von Cyanobakterien im Epilimnion kommen. Auch bei der Trinkwassergewinnung können metalimnische Einschichtungen Probleme verursachen, wenn die Wasserentnahme aus den Horizonten der Biomassemaxima erfolgt.

Die Studie zeigt außerdem, dass zur Abschätzung der möglichen Populationsgröße von Nostocales anhand ihrer Startpopulation im Frühjahr sowohl der Pool keimfähiger Akineten als auch der Pool von vegetativen Zellen ermittelt werden muss. Hinsichtlich des keimfähigen Pools von Akineten gilt es dabei, die räumliche Verteilung von Akineten in Sedimenten unterschiedlicher Tiefe sowie die Seebeckenmorphometrie zu beachten. Für beide Seen konnte gezeigt werden, dass die höchsten Akinetenzahlen in Sedimenten der tiefen Regionen der einzelnen Seebecken auftreten. In den Flachbereichen hingegen war die Akinetenzahl tendenziell geringer, variierte in der Größenordnung jedoch sehr stark.

In Experimenten wurden überraschend niedrige Keimungstemperaturen von 6 bis 8 °C für die im Fokus stehenden Gattungen *Anabaena* und *Aphanizomenon* nachgewiesen. Für die Weiterentwicklung der Keimlinge nach der Akinetenkeimung sind jedoch die herrschenden Temperatur- und Lichtbedingungen entscheidend. In tiefen, geschichteten Seen kann folglich davon ausgegangen werden, dass Akineten, die in Zonen abgelagert werden, in denen Licht und Temperatur für Keimung und Wachstum ungeeignet sind, keinen Beitrag zur Populationsbildung leisten können.

Allerdings können diese, in den Tiefenbereichen abgelagerten Akineten, einen wichtigen Beitrag zur Rekonstruktion von Nostocales-Populationen sowie zur Früherkennung von neuen bzw. invasiven Arten leisten. In einem Sedimentkern aus dem Stechlinsee wurde die größte Anzahl von *Anabaena*-Akineten in Sedimentschichten, die vor etwa 100 Jahren abgelagert wurden, nachgewiesen. Dies deutet darauf hin, dass der gegenwärtig noch oligotrophe Stechlinsee bereits in der Vergangenheit eine Phase mit höherem trophischen Status hatte. Auch zur Früherkennung potentiell zukünftiger Populationen können Akineten im Sediment herangezogen werden. Beispielsweise wurden im Scharmützelsee Akineten der invasiven Art *Cylindrospermopsis raciborskii* in den Sedimentfallen und im Sediment nachgewiesen, während Filamente dieser Art in den Wasserproben so selten waren, dass sie bei der regulären Phytoplanktonbestimmung nicht gefunden wurden.

Wissenslücken bezüglich des Akinetenpools von Nostocales waren überwiegend darin begründet, dass die Quantifizierung der Akineten in Sedimentproben nach herkömmlichen lichtmikroskopischen Methoden schwierig und zeitaufwendig ist. In dieser Studie wurde daher eine CARD-FISH (catalysed reporter deposition fluorescence *in situ* hybridization)-Methode zur Detektion und Quantifizierung von Akineten entwickelt. Dabei werden Akineten mit spezifischen Gensonden (16S rRNA Sonden) farblich markiert, wodurch sie

bei der fluoreszenzmikroskopischen Analyse von Sedimentproben deutlich besser sichtbar sind. Der zeitliche Aufwand zur Zählung der Akineten hat sich dadurch im Vergleich zur lichtmikroskopischen Methode halbiert.

Fazit

Insgesamt konnten in dieser Studie weitere wichtige Regulationsmechanismen im Lebenszyklus sowie Lebenszyklus-Strategien von Nostocales aufgeklärt werden. Es wurde gezeigt, dass Kenntnisse zum Akinetenpool im Sediment sehr wertvoll sind zur Abschätzung zukünftiger Populationen. Da einige Nostocales jedoch auch als vegetative Zellen überwintern können, ist es nicht möglich, ihre Entwicklung mit einem pauschalen Modell zu simulieren. Die Studie bestätigt den Trend weiter steigender Artenzahlen und Populationsgrößen von Nostocales, auch in Gewässern geringer Trophie. Diesem Trend, der überwiegend auf die Erwärmung der Gewässer zurückzuführen ist, lässt sich nur durch eine verstärkte Reduktion des Eintrages von Nährstoffen, insbesondere Phosphor, in die Gewässer entgegenwirken.

Danksagung

Die in diesem Projekt vorliegenden Daten wurden unter der Mitarbeit von Gerlinde Wauer, Charles Anu Mbunya, Matthias Knie, Grit Mehnert, Franziska Leunert, Friedericke Wohlgemuth, Anna Wendl und Gina Gruchot erstellt, bei denen wir uns herzlich bedanken. Des Weiteren bedanken wir uns bei Ingo Henschke, Roman Degebrodt und Michael Sachtleben für die Unterstützung bei den Freilandarbeiten und bei Gudrun Lippert, Ute Abel, Marén Lentz und Monika Degebrodt für Ihre sorgfältige Arbeit im Labor. Ein besonderer Dank geht an Annette Tworeck (LBH Hoehn, Freiburg). Sie analysierte sorgsam die Phytoplanktonproben. Die meteorologischen Daten wurden freundlicherweise vom Meteorologischen Observatorium des Deutschen Wetterdienstes in Lindenberg zur Verfügung gestellt.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
2. Arbeitsprogramm und Methoden.....	5
2.1 Untersuchungsgewässer	5
2.2 Untersuchung des Pelagials	6
2.3 Bestimmung der Sedimentation von Akineten.....	8
2.4 Sedimentuntersuchungen.....	11
2.5 Keimungsexperimente	14
3. Ergebnisse und Diskussion	16
3.1 Lebenszyklus-Strategien	16
3.1.1 Pelagische Phase von vegetativen Zellen und Akineten	16
Saisonale Dynamik.....	16
Horizontale räumliche Patchiness	20
Metalimnische Populationsmaxima – eine Besonderheit des Stechlinsees	21
Invasive Arten.....	24
3.1.2 Bestimmung der Sedimentation von Akineten.....	25
3.1.3 Überwinterung von Akineten im Sediment und vegetativen Zellen im Pelagial	29
Horizontale Verteilung von Akineten im Sediment	29
Vertikale Verteilung von Akineten im Sediment.....	33
Saisonale Variabilität der Akinetenabundanz im Sediment	34
Überwinterung im Pelagial.....	36
3.1.5 Bestimmung des Keimungspotenzials und der Keimungstemperatur von Akineten.....	38
3.2 Entwicklung eines CARD-FISH Protokolls zur Detektion und Quantifizierung von Akineten nostocaler Cyanobakterien in Sedimentproben	42
3.2.1 Modifikation des CARD-FISH Protokolls von Schönhuber et al. (1999) zur Detektion von Akineten in Sedimentproben.....	43
3.2.2 Entwicklung und Test von Sonden zur Detektion von Cyanobakterien	43
3.2.3 Validierung der CARD-FISH Methode zur Quantifizierung von Akineten in Sedimentproben	47
3.2.4 Vergleich der Kosten und des Nutzen der CARD-FISH- und Utermöhl-Methode.....	48
Literatur	50

Anhang I:

Gesamtliste der aus dem Projekt hervorgegangenen Veröffentlichungen53

Anhang II:

Ballot, A., **Ramm, J.**, Rundberget, T., Kaplan-Levy, R. N., Hadas, O., Sukenik, A. & **Wiedner, C.** (2011): Occurrence of non-cylindrospermopsin-producing *Aphanizomenon ovalisporum* and *Anabaena bergii* strains in Lake Kinneret (Israel). J. Plankton Res. 33: 1736-1746.

Anhang III:

Grüneberg, B., **Rücker, J.**, **Nixdorf, B.**, Behrendt, H. 2011: Dilemma of Non-Steady State in Lakes – Development and Predictability of In-Lake P Concentration in Dimictic Lake Scharmützelsee (Germany) after Abrupt Load Reduction. Internat. Rev. Hydrobiol. 96 (5): 599–621.

Anhang IV:

Kaplan-Levy R.N., Hadas O., Summers M.L., **Rücker, J.** & Sukenik A. (2010): Akinetes: Dormant cells of cyanobacteria. In: Lubzens, E., Cerdà, J & Clark, M. (eds.): Dormancy and Resistance in Harsh Environments. Topics in Current Genetics, Vol. 21. Springer-Verlag. p. 5-28. ISBN 978-3-642-12421-1.

Anhang V:

Ramm, J., Lupo, A., Hadas, O., Ballot, A., **Rücker, J.**, **Wiedner, C.** & Sukenik A. (2012): A CARD-FISH protocol for the identification and enumeration of cyanobacterial akinetes in lake sediments. FEMS Microbiol Ecol 82: 23-36.

1. Einleitung

Für ein nachhaltiges Gewässermanagement sind fundierte Kenntnisse zur Funktionsweise der Gewässerökosysteme eine essentielle Voraussetzung. Dafür sind sowohl die weitere Aufklärung der Struktur und Funktion von Lebensgemeinschaften als auch der Steuerung von Populationen der Key Player in diesen Gemeinschaften bedeutend. Zu diesen Key Players in Seen gehört die Gruppe der Cyanobakterien. In Folge der Eutrophierung dominieren Cyanobakterien in vielen Gewässern die Phytoplanktongemeinschaft (Vollenweider und Kerekes 1980, Downing et al. 2001, Ptacnik et al. 2008). In Gewässern mit hohen Nährstoffkonzentrationen kann es zu Massenentwicklungen von Cyanobakterien, so genannten „Blüten“ (engl. „Blooms“), kommen (Abb. 1-1). Da einige Cyanobakterien Toxine produzieren können (z.B. Chorus und Bartram 1999, Codd 2000), ist die Nutzung solcher Gewässer für Erholungszwecke oder Trinkwassergewinnung nur eingeschränkt möglich.



Abb. 1-1. Eine Aufrahmung von *Anabaena* im Scharmützelsee wird mit einem Planktonnetz beprobt (links) und mikroskopisch analysiert (rechts).

Neben hohen Nährstoffkonzentrationen wird die Entwicklung von Cyanobakterien zusätzlich durch die Erwärmung unserer Seen in Folge der Klimaänderung begünstigt (Paerl und Huisman 2009, Wagner und Adrian 2009, Nixdorf et al. 2009). Von den fünf Ordnungen, in die Cyanobakterien systematisch untergliedert werden, profitieren insbesondere Arten der Ordnung Nostocales von steigenden Wassertemperaturen, weil viele von ihnen vergleichsweise hohe Temperaturoptima für ihre Wachstumsrate haben (Mehnert et al. 2010). Daher breiten sich beispielsweise tropische und subtropische Nostocales zunehmend bis in Seen der gemäßigten Breiten aus (z.B. Stüken et al. 2006). Aber auch für heimische nostocale Arten verlängert sich die saisonale Wachstumsperiode, sie erreichen höhere Wachstumsraten und können größere Populationen aufbauen (Wiedner et al. 2007, Mehnert et al. 2010, Jöhnk et al. 2011). Nostocales sind zudem auch in oligo- und mesotrophen tiefen geschichteten Seen weit verbreitet, weil sie in der Lage sind, spezielle Zellen (Heterocyten) zu bilden, in denen sie molekularen gasförmigen Stickstoff fixieren können. Diese Fähigkeit zur „Selbstversorgung“ ermöglicht ihnen, auch bei niedrigen Stickstoffkonzentrationen zur Dominanz zu gelangen.

Die Forschung konzentrierte sich bisher überwiegend auf die Regulation der Wachstumsphase der Nostocales im Pelagial (dem Wasserkörper der Seen). Nostocales können jedoch auch Akineten (Dauerstadien) bilden, mit denen sie ungünstige Lebensbedingun-

gen überdauern. In Seen der gemäßigten Breiten vollziehen Nostocales in der Regel einen jahreszeitlichen Lebenszyklus (Abb. 1-2). Am Ende der Wachstumsphase im Herbst bilden sie Akineten, die auf den Grund der Gewässer sedimentieren, im Sediment überwintern und im Frühjahr wieder auskeimen (Kaplan-Levy et al. 2010, Hense & Beckmann 2006, Jöhnk et al. 2011).

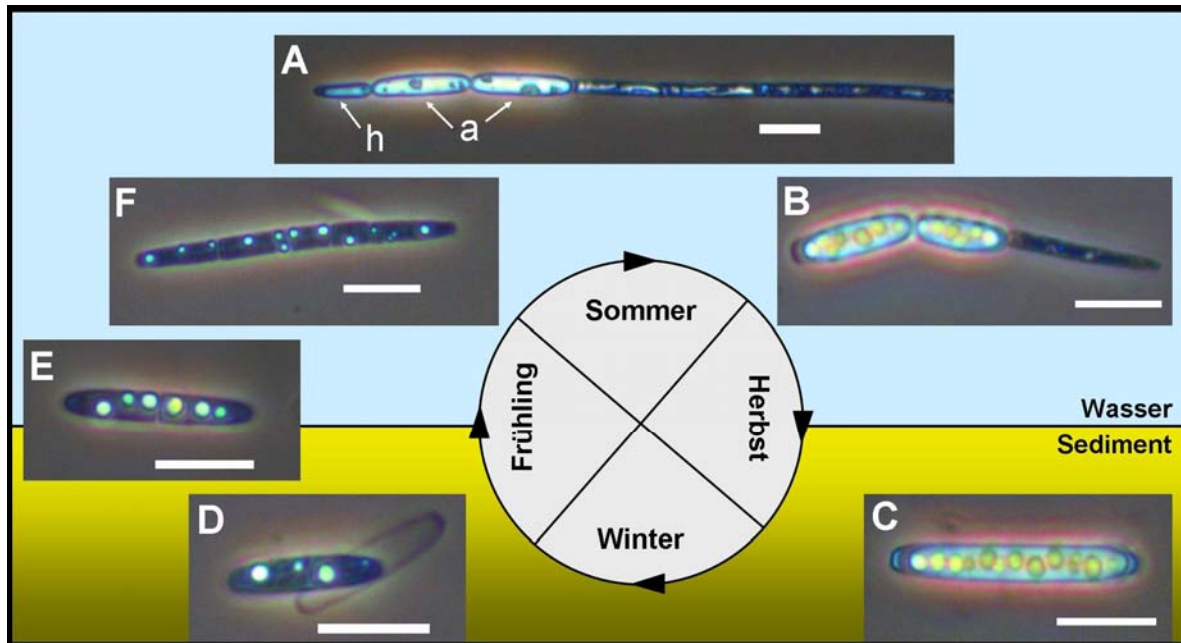


Abb. 1-2. Lebenszyklus von Nostocales am Beispiel der Art *Cylindrospermopsis raciborskii* (modifiziert aus Rücker et al. 2009): A – Filament im Pelagial mit Akineten (a) und Heterocyten (h). B – Akineten mit Resten von vegetativen Zellen sinken im Herbst auf den Gewässergrund. C – Reife Akinete überwintern im Sediment. D – Keimende Akinete im Frühling. E – Keimling nach 1. Zellteilung. F – Junges Filament noch ohne spezialisierte Zellen steigt ins Pelagial. Der Messbalken entspricht 10 µm.

Zum besseren Verständnis der Verbreitung und weiteren Ausbreitung von Nostocales und möglichen „Nostocales-Blüten“ müssen daher alle Stadien des Lebens wie vegetative Zellen im Pelagial, die Menge der gebildeten Akineten, deren Überwinterungsrate und Keimungsrate berücksichtigt werden sowie die Regulationsprozesse des Lebenszyklus weiter aufgeklärt werden.

Der bisherige Stand der Forschung ist im Folgenden kurz zusammengefasst:

Die Akinetenproduktion erfolgt in der Regel am Ende der exponentiellen Wachstumsphase, was z.B. Sutherland et al. 1985 in Laborstudien mit Kulturstämmen von *Nostoc* nachgewiesen haben. Kenntnislücken bestehen jedoch hinsichtlich der Anzahl von Akineten die in natürlichen Populationen verschiedener nostocaler Arten gebildet werden. Auch die Frage wie groß der Verlust der gebildeten Akineten beispielsweise durch Zooplanktonfraß ist bzw. wie viele Akineten bis zum Gewässergrund gelangen ist ungeklärt, da Informationen zur Akinetensedimentation gänzlich fehlen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die wenigen bisherigen Untersuchungen in Flachseen durchgeführt

wurden, in denen aufgrund der Polymixis (dauerhafte Durchmischung des Wasserkörpers) und Resuspension von Sediment die Bestimmung von Sedimentationsraten sehr problematisch ist.

Der Überwinterungserfolg von Akineten wurde in Sedimenten von Flachseen vereinzelt untersucht (Karlsson-Elfgren und Brunberg 2004, Kim et al. 2005, Kravchuk et al. 2006, Rücker et al. 2009), jedoch liegen bislang keine Untersuchungen an großen, thermisch stabil geschichteten Seen vor. Auch die Bedeutung der Größe des Akinetenpools im Sediment für den Erfolg der Population in der folgenden Vegetationsperiode ist nicht eindeutig geklärt. Rücker et al. (2009) fanden heraus, dass anhand des Akinetenpools von *Cylindrospermopsis raciborskii* im Frühjahr die folgende Populationsgröße nicht abgeschätzt werden kann. Vielmehr wurde herausgearbeitet, dass die Bedingungen nach der Keimung bestimmend für die Populationsgröße waren und nicht die Anzahl der Akineten im Sediment. Padisák (2003) dagegen wies einen Zusammenhang zwischen der Größe des Akinetenpools von *C. raciborskii* und der folgenden Populationsgröße im Balaton nach. Für eine endgültige Klärung fehlt es an Daten zum Akinetenpool in Seesedimenten, insbesondere für tiefe thermisch geschichtete Seen.

Ein Grund für die Kenntnislücken bezüglich der überwinternden Akineten in den Seesedimenten ergibt sich aus der schwierigen und zeitaufwendigen Detektion und Quantifizierung von Akineten in Sedimentproben. Bisher wurde die Anzahl von Akineten in Sedimentproben lichtmikroskopisch, meist nach der Methode von Utermöhl (1958), ermittelt. Verdünnte Sedimentproben werden dazu in Sedimentationskammern gefüllt und die Zahl der auf den Boden der Kammer sedimentierten Akineten am Umkehrmikroskop bestimmt. In Sedimenten von wenig eutrophen Gewässern ist die Abundanz von Akineten jedoch sehr gering und sie sind zwischen den deutlich zahlreicheren anderen Sedimentpartikeln, von denen viele in Form und Größe den Akineten ähneln, nur schwer zu finden. Molekularbiologische Detektions- und Quantifizierungsmethoden könnten hierbei neue Wege ermöglichen.

Die Keimung von Akineten wurde verschiedentlich untersucht, jedoch liegen bisher überwiegend Daten zu Arten aus der subtropischen Region vor. Einzige Ausnahme ist eine Studie am Balaton (Gorzó 1987, zitiert in Padisák 2003), bei der Keimungstemperaturen zwischen 18 und 25 °C festgestellt wurden. Für Seen in Brandenburg erscheinen diese Werte relativ hoch, denn die heimischen Nostocales, insbesondere die *Anabaena*-Arten treten schon im Frühsommer auf, wenn die Wassertemperaturen noch niedriger sind. Sogar für die invasive Art *Cylindrospermopsis raciborskii* stellten Wiedner et al. (2007) fest, dass sie bereits ab 15 bis 17 °C in den untersuchten Flachseen Nordostbrandenburgs vorkam. Folglich sind niedrigere Keimungstemperaturen zu erwarten. Der Nachweis sollte im Rahmen dieses Projektes durch Experimente erbracht werden.

Unklar ist zudem, in wie weit sich verschiedene Arten von Nostocales in ihrem Lebenszyklus gleichen bzw. unterscheiden. Erste Studien aus der Ostsee zeigen, dass Vertreter der Gattungen *Nodularia*, *Aphanizomenon* und *Anabaena* unterschiedlich viele

Akineten bilden und zum Teil auch als vegetative Zellen im Pelagial überwintern (Suikkanen et al. 2010).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die bisherigen Ergebnisse aus Labor- und Freilandstudien in Flachseen nicht zur Klärung der Regulation des Lebenszyklus von Nostocales und zur Abschätzung ihrer weiteren Entwicklung ausreichen. Dies trifft insbesondere auf Nostocales in tiefen thermisch geschichteten Seen zu.

Ziele

Mit dem Vorhaben soll die Verbreitung und Regulation von Cyanobakterien der Ordnung Nostocales in tiefen geschichteten Seen unterschiedlicher Trophie und Klimazonen weiter aufgeklärt werden. Hierzu sollen Wissenslücken bezüglich der Regulation ihres Lebenszyklus sowie zur Abundanz und räumlichen Heterogenität der vegetativen Populationen im Wasserkörper und ihrer Dauerstadien (Akineten) im Sediment, aus denen sich die pelagischen Populationen rekrutieren, ermittelt werden. Die Ergebnisse sollen dazu beitragen, „Nostocales-Blüten“ besser prognostizieren zu können und die weitere Entwicklung von Nostocales sowie das Vorkommen ihrer Toxine unter veränderten trophischen und klimatischen Bedingungen abschätzen zu können. Allgemein soll damit ein Beitrag zum besseren Verständnis der Funktionsweise von Gewässerökosystemen geleistet werden. Zudem sollen die Resultate dazu beitragen, eine wissenschaftlich fundierte Basis für das Gewässermanagement aufzubauen und die Risiken für die menschliche Gesundheit durch das Auftreten von Cyanotoxinen besser abschätzen zu können.

Die wissenschaftlichen Ziele gliedern sich in folgende Unterpunkte:

- Aufklärung der Lebenszyklus-Strategien nostocaler Populationen in zwei tiefen thermisch geschichteten Seen, dem mesotrophen Scharmützelsee und dem oligotrophen Stechlinsee.
- Pelagische Phase:
Ermittlung der zeitlichen und räumlichen Muster in der Abundanz von vegetativen Zellen und der gebildeten Akineten.
- Sedimentation:
Der Austrag von Akineten aus dem Pelagial soll quantifiziert werden.
- Überwinterung:
Die Überwinterungsrate von Akineten im Sediment und von vegetativen Zellen im Pelagial soll ermittelt werden.
- Keimung:
Die Keimungsrate von Akineten aus Oberflächensediment unterschiedlicher Gewässertiefen soll in Abhängigkeit von der Temperatur bestimmt werden.
- Entwicklung molekularbiologischer Detektions- und Quantifizierungsmethoden für vegetative Zellen und Akineten ausgewählter Nostocales.

2 Arbeitsprogramm und Methoden



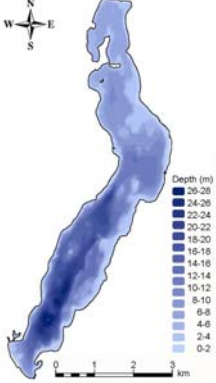
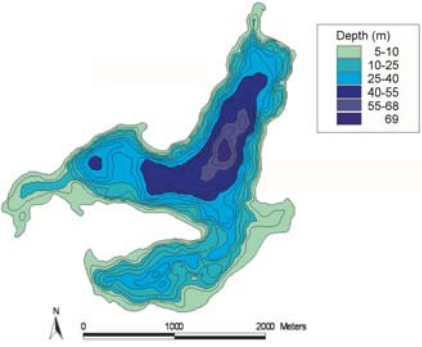
2.1 Untersuchungsgewässer

Für das Projekt wurden zwei Seen ausgewählt, die limnologisch intensiv untersucht werden und zu denen langjährige Messreihen existieren. Beide sind Hartwasserseen, die im Sommer thermisch stabil geschichtet sind. Im Winter kommt es unter Eis zu einer zweiten Stagnationsphase. Da der Wasserkörper im Frühjahr und Herbst vollständig durchmischt ist, werden beide Seen dem dimiktischen Seentypus (Typ 13 nach EU-Wasserrahmenrichtlinie) zugeordnet. Sie unterscheiden sich jedoch in ihrem trophischen Zustand. Der oligotrophe Stechlinsee liegt im Nordosten, der mesotrophe Scharmützelsee im Südosten Brandenburgs. Beide Seen sind durch die letzte Eiszeit, vor etwa 12 000 Jahren, entstanden. Während die Hohlform des Stechlinsees aus einem abgeschmolzenen Toteisblock hervorging, ist der Scharmützelsee ein Rinnensee, der durch abfließendes Schmelzwasser geformt wurde. Daher unterscheiden sich beide Gewässer in ihrer Beckengestalt. Der Scharmützelsee ist langgestreckt. Er gliedert sich in die relativ flache, polymiktische Nordbucht (max. Tiefe 7 m) und das im Sommer thermisch stabil geschichtete Südbecken (max. Tiefe 29,5 m). Dazwischen befindet sich ein Mittelbecken, das im Sommer phasenweise geschichtet ist (Christen et al. 2007). Der Stechlinsee ist mit 69 m deutlich tiefer, jedoch von seiner Fläche her nur etwa ein Drittel so groß. Eine Übersicht der wichtigsten morphometrischen und geographischen Parameter wird in Tabelle 2-1 gegeben.

Der Stechlinsee ist einer von wenigen noch oligotrophen Seen in Norddeutschland. Sein einzigartiger Charakter macht ihn besonders für den Tourismus attraktiv, was zu einer steigenden Zahl von Touristen, insbesondere von 1959 bis 1997, führte. Der See war von 1965 bis 1990 Teil des Kühlwasserkreislaufs eines Kernkraftwerks. Mit Stilllegung des Werkes wurde auch die Zirkulation des Kühlwassers gestoppt. Eine weitere Belastungsquelle war der Zufluss von Wasser aus einem hocheutrophen benachbarten See, der von 1969 bis 1985 in Betrieb war. Zwar ist der Stechlinsee noch oligotroph, jedoch mehren sich die Anzeichen einer zunehmenden Eutrophierung wie z.B. der Rückgang der submersen Wasserpflanzen (Van de Weyer et al. 2009) oder die Zunahme von Cyanobakterien, die im Fokus dieses Projektes stehen.

Auch der Scharmützelsee hat eine Eutrophierungsgeschichte. Vor allem seit den 1960er Jahren wurde er durch direkte Einleitung von unzureichend geklärten Abwässern und diffusen Einträgen beeinträchtigt (Grüneberg et al. 2011), was zu einer Verschlechterung der Wasserqualität führte, die sich vor allem in hohen Phytoplanktonbiomassen widerspiegelte (Nixdorf et al. 2003). Das Einzugsgebiet wurde ab 1990 saniert und die Belastungsquellen beseitigt. Auf die Senkung der externen Last reagierte das Phytoplankton mit einer zeitlichen Verzögerung von 13 Jahren. Seit 2003 wird der See nach LAWA (1999) als mesotroph eingestuft. Die Verringerung der Trophie bewirkte eine Reihe von Veränderungen in der Biozönose des Sees, so z.B. eine Wiederausbreitung der untergetauchten Wasserpflanzen (submersen Makrophyten; Hilt et al. 2010).

Tab. 2-1. Morphometrische, geografische und trophische Angaben zum Scharmützelsee und Stechlinsee.

	Scharmützelsee	Stechlinsee
Luftbild		
Tiefenkarte		
Geogr. Koordinaten	52°14' N; 14°02' E	53°10' N; 13°02' E
Fläche (km ²)	12.1	4.3
Volumen (Mio m ³)	108.2	96.9
Maximale Tiefe (m)	29.5	69.0
Mittlere Tiefe (m)	9.0	22.8
Einzugsgebiet (km ²)	110.0	26.0
Trophischer Zustand	Meso- bis schwach eutroph	Oligotroph

2.2 Untersuchung des Pelagials

Probenahme, Sondenmessung, Analytik, Mikroskopie

Für die Untersuchung der saisonalen Dynamik des Phytoplanktons wurden beide Seen jeweils an der tiefsten Stelle während der Vegetationsperiode in mindestens 14tägigem Abstand, in den Wintermonaten (November bis März) monatlich beprobt. Zusätzlich zur Routineprobenahmestelle, an der stets die gesamten zu messenden Parameter aufgenommen wurde, wurden im Scharmützelsee über den gesamten Projektzeitraum regelmäßig 3 weitere Messstellen mit verringerter Parameterzahl untersucht, um die inhomogene Verteilung des Phytoplanktons im Längsverlauf des Sees näher zu charakterisieren. Im Stechlinsee wurden ebenfalls kampagnenweise horizontale

Unterschiede in der Verteilung des Phytoplanktons an zwei weiteren Messstellen analysiert.

Es wurden Vertikalprofile der Temperatur, Sauerstoffkonzentration und –sättigung, pH und Leitfähigkeit mit einer Multiparametersonde (Hydrolab H20) aufgenommen (Abb. 2-1A). Mit der Fluoroprobe-Sonde (Firma bbe-Moldaenke, Kiel) wurde die Chlorophyll *a*-fluoreszenz im Vertikalprofil gemessen (Abb. 2-1B). Diese Mehrkanalsonde gibt den Anteil von 5 verschiedenen spektralen Algengruppen am Gesamtchlorophyll aus. Im vorliegenden Bericht wurden die Daten des Messkanals „Bluegreen“ ausgewertet, was den phycocyaninhaltigen Cyanobakterien entspricht. Zu dieser Gruppe gehören auch die im Fokus stehenden Nostocales. Das Unterwasserlicht wurde im Tiefenprofil mit zwei Sensoren der Firma LiCOR gemessen, die in einem definierten Abstand an einem Gestell montiert sind.

Wasserproben für die Analysen von Nährstoffen und Chlorophyll *a* sowie Phytoplanktonzählungen wurden mit einem Schöpfer als Mischprobe des Epilimnions, beim Stechlinsee auch darunter in diskreten Tiefenstufen entnommen (Abb. 2-1C). Die chemischen Analysen erfolgten nach Standardmethoden (DEV 1976 – 2009). Die Phytoplanktonproben wurden mit Lugolscher Lösung fixiert und nach der Methode von Utermöhl (1958) durch Annette Tworeck (LBH Hoehn, Freiburg) quantifiziert. Die Akineten in den Pelagialproben, die überwiegend noch an Trichome gebunden sind, wurden als separate Zählkategorie erfasst. Auf die Artbestimmung der freien Akineten, wie sie im Sedimentfallenmaterial und Sediment zu finden sind, wird im Kapitel 2.3 näher eingegangen.

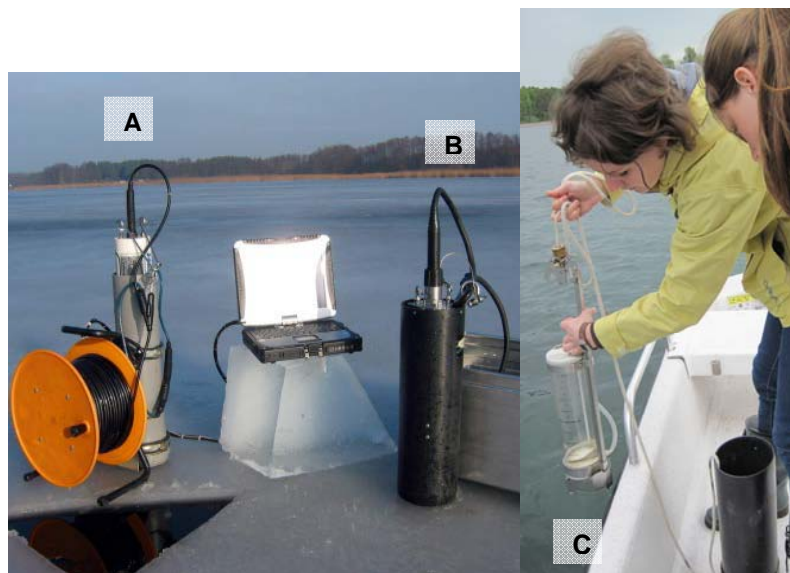


Abb. 2-1. Multiparametersonde zur Messung von Temperatur, Sauerstoffkonzentration und –sättigung, pH und Leitfähigkeit (A); Fluoroprobe-Sonde zur Aufnahme der Chlorophyll *a*-fluoreszenz im Vertikalprofil (B). Entnahme von Wasserproben mit einem Limnos-Wasserschöpfer (C).

Winter-Intensiv-Messprogramm

Um die Anzahl der möglichen überwinterten vegetativen Zellen im Pelagial bestimmen zu können, wurde im Zeitraum November 2009 bis April 2011 ein Winter-Intensiv-Messprogramm am Scharmützelsee und Stechlinsee durchgeführt. Hierzu wurde monatlich an der tiefsten Stelle eine Wassermischprobe, jeweils in 1 Liter in Meter-Schritten entlang der vertikalen Wassersäule entnommen. Die Mischprobe wurde über ein Planktonnetz (25 µm Maschenweite; Abb. 2-2) aufkonzentriert, um eine 100 ml definierte Netzprobe aus ursprünglich 20 - 30 L zu erhalten. Zunächst wurden die Proben mit Formalin (Endkonzentration 4 %) fixiert und anschließend zur Zählung mit Lugol fixiert. Die Anzahl der Filamente und der filamentgebundenen Akineten wurde lichtmikroskopisch nach Utermöhl (1958) in Sedimentationskammern bei 400facher Vergrößerung erfasst. *Aphanizomenon flos-aquae* kommt im Stechlinsee in Bündeln vor, wurde aber als Einzelfilamente gezählt, da die Lugolfixierung die Bündel auflöst.



Abb. 2-2. Aufkonzentrierung einer Wasserprobe mittels Planktonnetz (links) und der Blick in das Planktonnetz (rechts).

2.3 Bestimmung der Sedimentation von Akineten

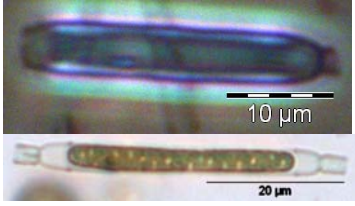

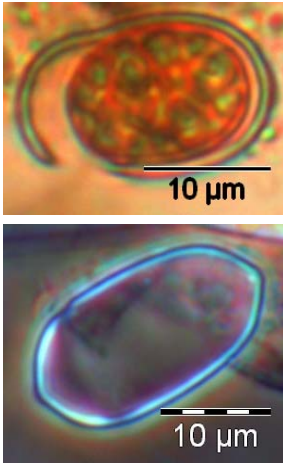
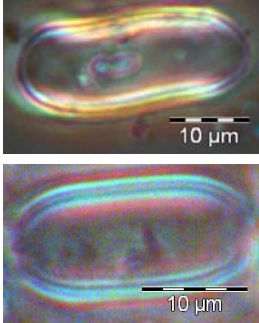
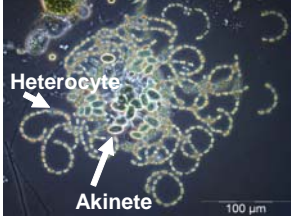
Ende Juli 2008 wurden Sedimentfallen in 9 und 27 m Tiefe an der tiefsten Stelle im Scharmützelsee (Messstelle RIE) ausgebracht (Abb. 2-3), die seit dem regelmäßig beprobt werden. Das Sedimentfallenmaterial wird 14tägig geborgen und anschließend Trockengewicht (8 h, 105 °C) und Glühverlust (3 h, 500 °C) einer Unterprobe bestimmt. Eine weitere Teilprobe des Sedimentfallenmaterials wurde jeweils mit Formalin fixiert (Endkonzentration 4 %) und die Zahl der Akineten in Sedimentationskammern für Phytoplanktonzählung am Umkehrmikroskop bei 400facher Vergrößerung nach der Methode von Utermöhl (1958) bestimmt. Vor der Zählung wurde die Probe mit abgekochtem Leitungswasser, das auf Zimmertemperatur abgekühlt war, 1:100 verdünnt und mit einigen Tropfen Lugolscher Lösung versetzt.



Abb. 2-3. Bergung des Sedimentfallenmaterials, das sich in den abschraubbaren Bechern der Sedimentfallen über 14 Tage gesammelt hat.

Eine Zuordnung der Akineten im Durchlichtmikroskop ist nur für *Cylindrospermopsis* und *Aphanizomenon* auf Gattungsebene möglich. Die Gattung *Anabaena* bildet unterschiedlich geformte Akineten aus. Hier wurden zylindrische und ovale Formen unterschieden. Eine Ausnahme bildet die Art *Anabaena lemmermannii*, die bohnenförmige Akineten bildet, welche meist in Nestern zusammenkleben. Diese Nester bleiben in den Fallen und im Sediment erhalten, erschweren jedoch aufgrund der Klumpenbildung die genaue Quantifizierung dieser Art. In Tabelle 2-2 sind alle im Datenbestand der BTU Cottbus vorhandenen Nostocales-Arten entsprechend ihrer Akinetenform aufgelistet und Beispielaufnahmen gezeigt. Neben *Anabaena* bilden auch einige selten anzutreffende Gattungen wie *Anabaenopsis*, *Nostoc* oder *Nodularia* ovale bzw. zylindrische Akineten, die von freien *Anabaena*-Akineten nicht zu unterscheiden sind.

Tab. 2-2. Zuordnung der Akinetenformen aller Nostocales-Arten aus dem Datenbestand des Lehrstuhls Gewässerschutz der BTU Cottbus mit Beispielfotos von Matthias Knie.

Art	Akinetenform	Beispiel
<p><i>Aphanizomenon elenkinii</i> <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> <i>Aphanizomenon gracile</i> <i>Aphanizomenon issatschenkoi</i> <i>Aphanizomenon spec.</i></p>	<p>Aphanizomenon-Typ</p>	
<p><i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> <i>Raphidiopsis mediterranea</i></p>	<p>Cylindrospermopsis-Typ</p>	
<p><i>Anabaena affinis</i> <i>Anabaena bergii</i> <i>Anabaena circinalis</i> <i>Anabaena compacta</i> <i>Anabaena crassa</i> <i>Anabaena macrospora</i> <i>Anabaena planctonica</i> <i>Anabaena spiroides</i> <i>Anabaena viguieri</i> <i>Aphanizomenon aphanizomenoides</i> <i>Anabaenopsis elenkinii</i> <i>Nostoc</i> <i>Nodularia</i></p>	<p>Anabaena-Typ, oval</p>	
<p><i>Anabaena flos-aquae</i> <i>Anabaena mendotae</i> <i>Anabaena sigmoidea</i> <i>Anabaena solitaria</i> <i>Anabaenopsis cunningtonii</i></p>	<p>Anabaena-Typ, zylindrisch</p>	
<p><i>Anabaena lemmermannii</i></p>	<p>Anabaena-lemmermannii-Typ/ zylindrisch</p>	
<p><i>Anabaena spec.</i> <i>Anabaenopsis spec.</i></p>	<p>Anabaena-Typ, unbekannt</p>	

2.4 Sedimentuntersuchungen

Die Entnahme der Sedimentkerne erfolgte mit einem Uwitec-Sedimentstecher (Durchmesser 50 mm; Abb. 2-4A). Unmittelbar nach den Probenahmen wurden die Sedimentkerne in eine Schneidevorrichtung eingespannt (Abb. 2-4B), der obere Zentimeter von der Sedimentoberfläche entnommen (Abb. 2-4C) und in verschließbare PP-Becher gefüllt. In der Regel wurden an einer Stelle drei Sedimentkerne entnommen und das Material zu einer Mischprobe vereinigt, um die Heterogenität der Probenahmestelle zu minimieren. Unterproben wurden zur Trockengewichtsbestimmung (8 h bei 105 °C) und Glühverlust (3 h bei 500 °C) entnommen und die Original-Proben bis zur weiteren Analyse bei 4 °C im Dunkeln gelagert bzw. mit Formalin fixiert (Endkonzentration 4 %). Bei den Stechlinseesedimenten wurde außerdem noch der Kalziumkarbonatgehalt ermittelt (3 h bei 900 °C). Die Akineten wurden mikroskopisch, wie unter 2.3 beschrieben, bestimmt und quantifiziert. Die Verdünnung der Sedimentproben variierte jedoch zwischen 1:100 und 1:200.

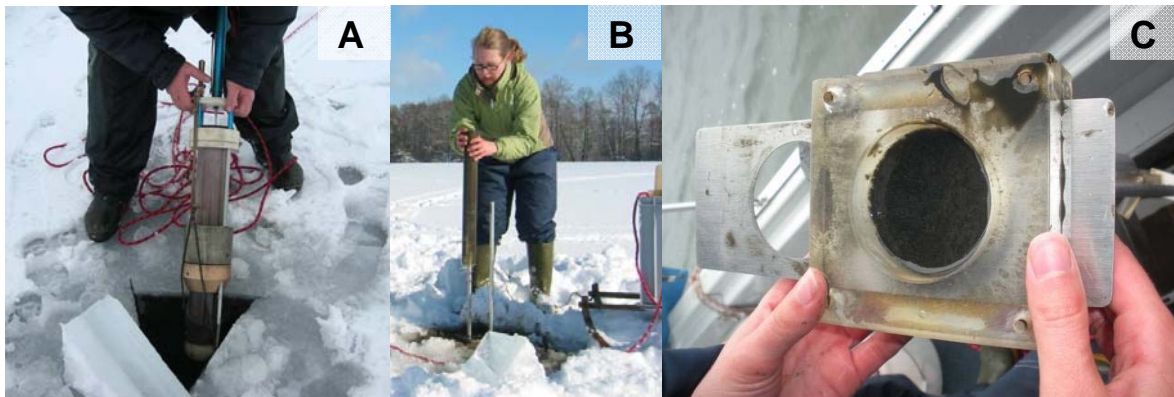


Abb. 2-4. Probenahme mit dem Uwitec-Sedimentstecher (A), Vorbereitung des Kerns zum Schneiden (B) und Entnahme der Sedimentoberfläche (0 – 1 cm) mit der Sedimentschneidevorrichtung (C).

Im Stechlinsee wurden 2009 insgesamt 30 Untersuchungspunkte jeweils im Januar/Februar und im September beprobt. Die Probenahmepunkte wurden so gelegt, dass dabei vier flexible Transekte durch den See entstanden (Abb. 2-5). An drei ausgewählten Probenahmestellen (Station 2, 6 und 23) wurden 2010 noch einmal intensivere Untersuchungen zur saisonalen Variabilität vorgenommen.

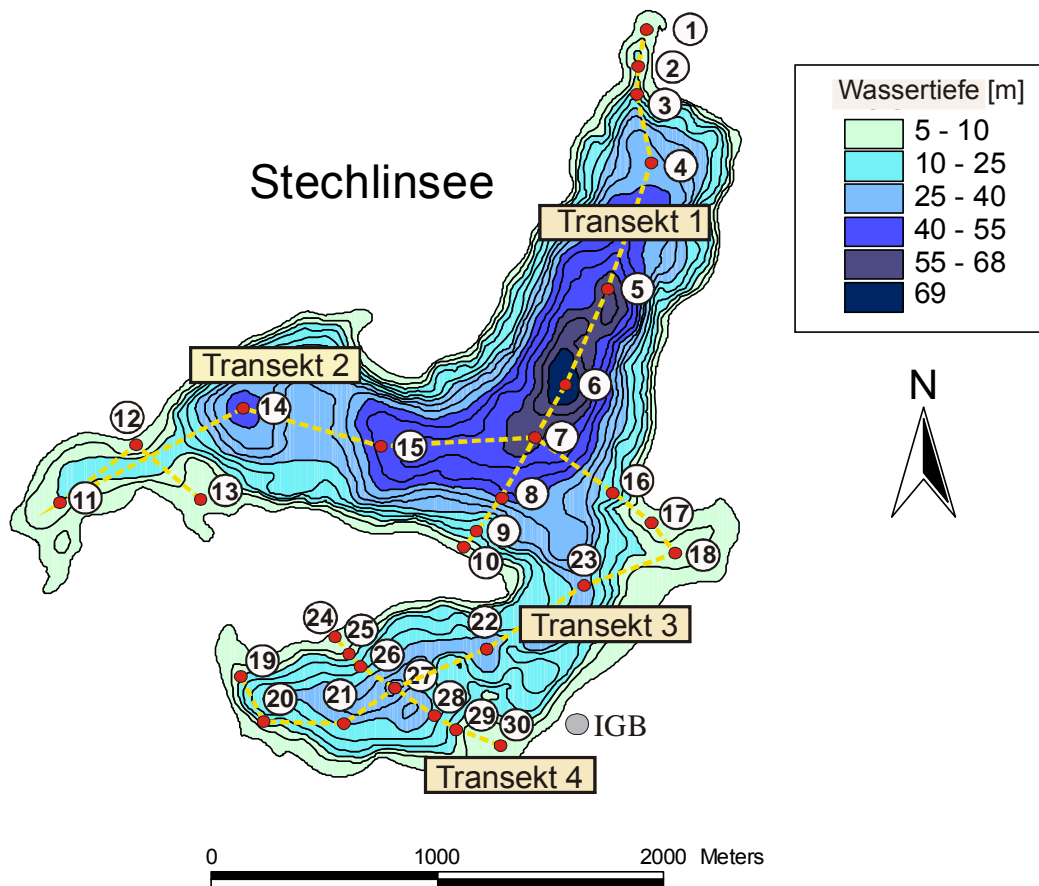


Abb. 2-5. Lage der Untersuchungspunkte im Stechlinsee und daraus konstruierte Transekte.

Die Untersuchungen zur horizontalen Variabilität der Akinetenkonzentration im Oberflächensediment des Scharmützelsees wurden 2009 in der Nordbucht begonnen, wo ein Transekt mit 7 Probenahmepunkten sowie 5 Punkte in Ufernähe untersucht wurden (Abb. 2-6B). Im März 2010 wurde der See dann entlang seiner Längsachse im Abstand von 1 km beprobt (12 Probenahmepunkte), sowie ein Transekt quer zur Längsachse an der tiefsten Stelle im Abstand von 100 m untersucht (8 Probenahmepunkte; Abb. 2-6A). Die saisonale Dynamik der Akineten im Sediment wurde im Scharmützelsee etwa vierteljährlich von 2009 bis 2010 an den Routine-Probenahmestellen INS in der Nordbucht (T3 in Abb. 2-6B) und RIE im Südbecken (Punkt 20 in Abb. 2-6A) untersucht.

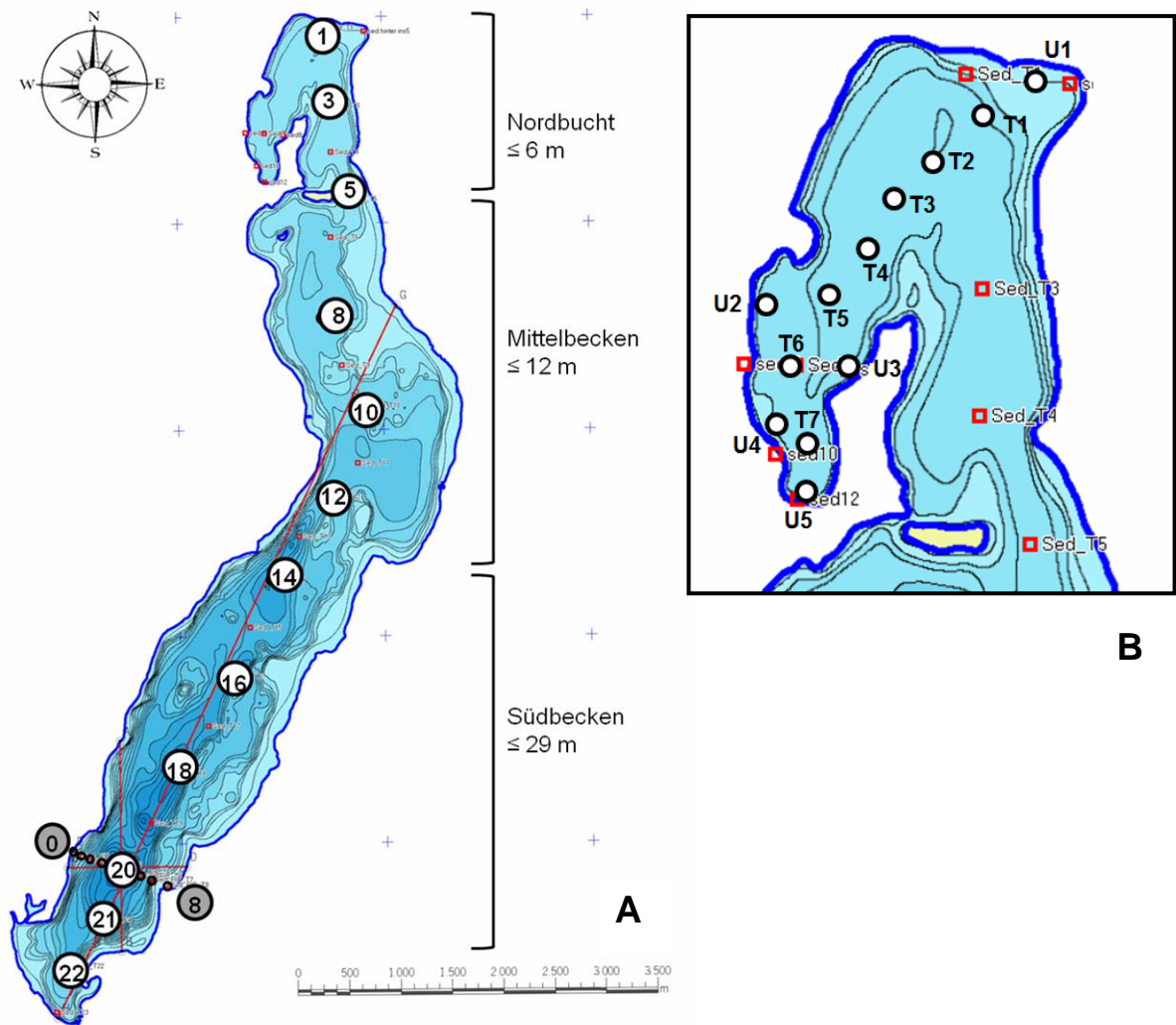


Abb. 2-6. Tiefenkarte des Scharmützelsees mit den Probenahmepunkten des Längsachsen-
Transektes (Punkte 1 – 22; weiß hinterlegt) und des Quer-Transektes im Bereich der tiefsten
Stelle (Punkte 0 – 8; grau hinterlegt), an denen im März 2010 Oberflächensediment (0 -1 cm)
entnommen wurde (A) sowie Probenahmepunkte in der Nordbucht von 2009 (B).

2.5 Keimungsexperimente

Keimungsexperimente wurden an der BTU Cottbus mit Material aus Sedimentfallen sowie mit Oberflächensediment des Scharmützelsees durchgeführt. Die Sedimentproben wurden an der tiefsten Stelle des Sees entnommen. Es wurden 3 bis 4 Sedimentkerne gestochen (siehe 2.4), der oberste Zentimeter abgetrennt und zu einer Mischprobe vereinigt. Die Proben wurden in dunklen Kühlflaschen ins Labor transportiert und entweder sofort für die Versuche verwendet oder bis zum Versuchsbeginn ein knappes Jahr ohne Zugabe von Fixierungsmitteln im Dunkeln bei 4 °C gelagert.

Prinzipiell wurde das zu untersuchende Material 1:100 mit N-freiem Nährmedium (MIII nach Nicklisch, 1992) verdünnt und in Erlenmeyerkolben im Kulturenschrank (Binder Pflanzenwachstumsschrank, KBW 400, Tuttlingen) unter definierten Licht- und Temperaturbedingungen kultiviert (Abb. 2-7). Der Licht-Dunkel-Rhythmus betrug einheitlich 12:12 h (außer bei den Dunkelproben). Es wurden pro Kulturvariante stets 3 Replikate angesetzt. Die Ansätze von Gruchot (2012) wurden mit 100 Umdrehungen min^{-1} geschüttelt.

Unterproben wurden zu Beginn des Versuches sowie in Abständen von 1 bis 3 Tagen aus den Erlenmeyerkolben entnommen und mit Lugolscher Lösung fixiert. Am Umkehrmikroskop wurden später die Abundanzen von intakten Akineten, keimenden Akineten, Keimlingen und Filamenten nach der Methode von Utermöhl (1958) bestimmt. Aus Zeitgründen konnten nicht alle Proben ausgezählt werden. In der Regel wurde nur ein Replikat ausgewertet.



Abb. 2-7. Keimungsversuche im Kulturenschrank (Foto aus Wendl, 2011).

Tab. 2-3. Übersicht über das verwendete Ausgangsmaterial, die Licht- und Temperaturbedingungen und die Versuchsdauer der Keimungsversuche. Bei Wendl (2011) wurde jede Temperatur mit allen 3 Lichtintensitäten kombiniert. Gruchot (2012) untersuchte 6 Kombinationen aus ansteigender Lichtintensität und Temperatur, die in ihrem Verlauf den Bedingungen vom Frühling zum Sommer im Scharmützelsee nachempfunden waren. Das Ausgangsmaterial wurde entweder unmittelbar nach der Probenahme für die Versuche verwendet (frisch) oder bis zum Versuchsbeginn im Dunkeln bei 4 °C gelagert.

	Fallenmaterial			Sediment		
	10.11.2009 (gelagert)	30.08.2010 (frisch)	03.01.2012 (frisch)	24.09.2009 (gelagert)	30.08.2010 (frisch)	03.01.2012 (frisch)
Probe- nahme- datum						
Bearbeiter	Wohlgemuth (2011)		Gruchot (2012)	Wendl (2011)		Gruchot (2012)
Licht (μmol Photonen $\text{m}^{-2} \text{d}^{-1}$)	80	80	10 - 160	80	80	10 - 160
	40	40		40	40	
	0	0		0	0	
Temperatur (°C)	17	17	6 - 20	17	17	6 - 20
				13	13	
				8	8	
Versuchs- dauer (d)	7	7	17	7 14 bei 8°C	7 14 bei 8°C	17

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Lebenszyklus-Strategien

3.1.1 Pelagische Phase von vegetativen Zellen und Akineten

Saisonale Dynamik

Die saisonale Dynamik des Phytoplanktons im durchmischten, oberen Teil der Wassersäule an den jeweiligen Hauptmessstellen ist in Abbildung 3-1 und 3-2 dargestellt, wobei die Höhe des Biovolumens die trophischen Unterschiede zwischen dem mesotrophen Scharmützelsee und dem oligotrophen Stechlinsee (Abb. 3-1A, 3-2A) widerspiegelt. In beiden Seen sind die gleichen Nostocales-Arten bedeutend (*Anabaena flos-aquae*, *A. macrospora*, *A. lemmermannii*, *A. solitaria* sowie *Aphanizomenon flos-aquae*; Abb. 3-1C, 3-2C). Vergleicht man die 5 dargestellten Untersuchungsjahre, so fällt beim Scharmützelsee der zweigipfelige Jahresverlauf auf, der durch die von Kieselalgen geprägte Frühjahrsblüte sowie das sommerliche Cyanobakterienmaximum gebildet wird (Abb. 3-1A). Neben den Nostocales kommen im Scharmützelsee noch Cyanobakterien der Ordnungen Oscillatoriales (v.a. *Pseudanabaena* sp.) sowie Chroococcales vor (Abb. 3-1B).

Der Stechlinsee zeigt nicht so ein regelmäßiges saisonales Muster der Phytoplanktonentwicklung wie der Scharmützelsee. Im März 2009 ist die stark ausgeprägte Diatomeenblüte auffällig (Abb. 3-2A). In den anderen Jahren wurde der Frühjahrspeak wahrscheinlich nicht erfasst. Oft trat ein zweites Maximum im Frühsommer auf, das im Juli 2007 durch Diatomeen, im April 2009 durch Cryptophyceen, Ende Mai 2011 durch Chrysophyceen und im Mai 2010 jedoch durch das nostocale Cyanobakterium *Aphanizomenon flos-aquae* ($0,57 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$) geprägt war (Abb. 3-2C). Im Jahr 2011 wurde erstmals im Spätsommer eine Cyanobakterienblüte beobachtet, die durch *Anabaena flos-aquae* dominiert war und mit $2,5 \text{ mm}^3 \text{ L}^{-1}$ Cyanobakterienbiovolumen die gleiche Größenordnung wie im Scharmützelsee erreichte, was ein Indiz für eine Erhöhung der Trophie im Stechlinsee sein kann. Ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Gewässern ist, dass Nostocales, in diesem Fall *Aphanizomenon flos-aquae* in recht großen Mengen im Winter 2009/2010 gefunden wurde (vgl. Kapitel 3.1.3).

Betrachtet man die Abundanz der Akineten im Pelagial, so lässt sich manchmal, jedoch nicht immer beobachten, dass die höchste Akinetenzahl am Ende oder nach dem Populationsmaximum auftritt (z.B. *Aphanizomenon* spp. im Scharmützelsee 2007, 2008, 2010 (Abb. 3-1D) oder *Anabaena* spp. im Stechlinsee 2009 – 2011 (Abb. 3-2D)), was i.d.R. im Spätsommer der Fall ist, wenn sich die Wassertemperatur verringert und die Lichtintensität abnimmt. Die Akinetenbildung weist jedoch deutliche Unterschiede zwischen den Arten und Seen auf: *Anabaena*-Akineten werden in allen Untersuchungs-jahren in beiden Seen nachgewiesen. *Aphanizomenon flos-aquae* bildet im Stechlinsee keine Akineten aus, während die Art im Scharmützelsee Akineten bildet. Dies weist auf gravierende Unterschiede in der Lebenszyklus-Strategie hin. Die Population von *A. flos-*

aquae muss im Stechlinsee in Form von vegetativen Zellen im Wasserkörper überwintern. Wie viele vegetative Filamente im Wasserkörper überwintern wurde daher in einem Winter-Intensiv-Messprogramm (siehe Kapitel 3.1.3) ermittelt.

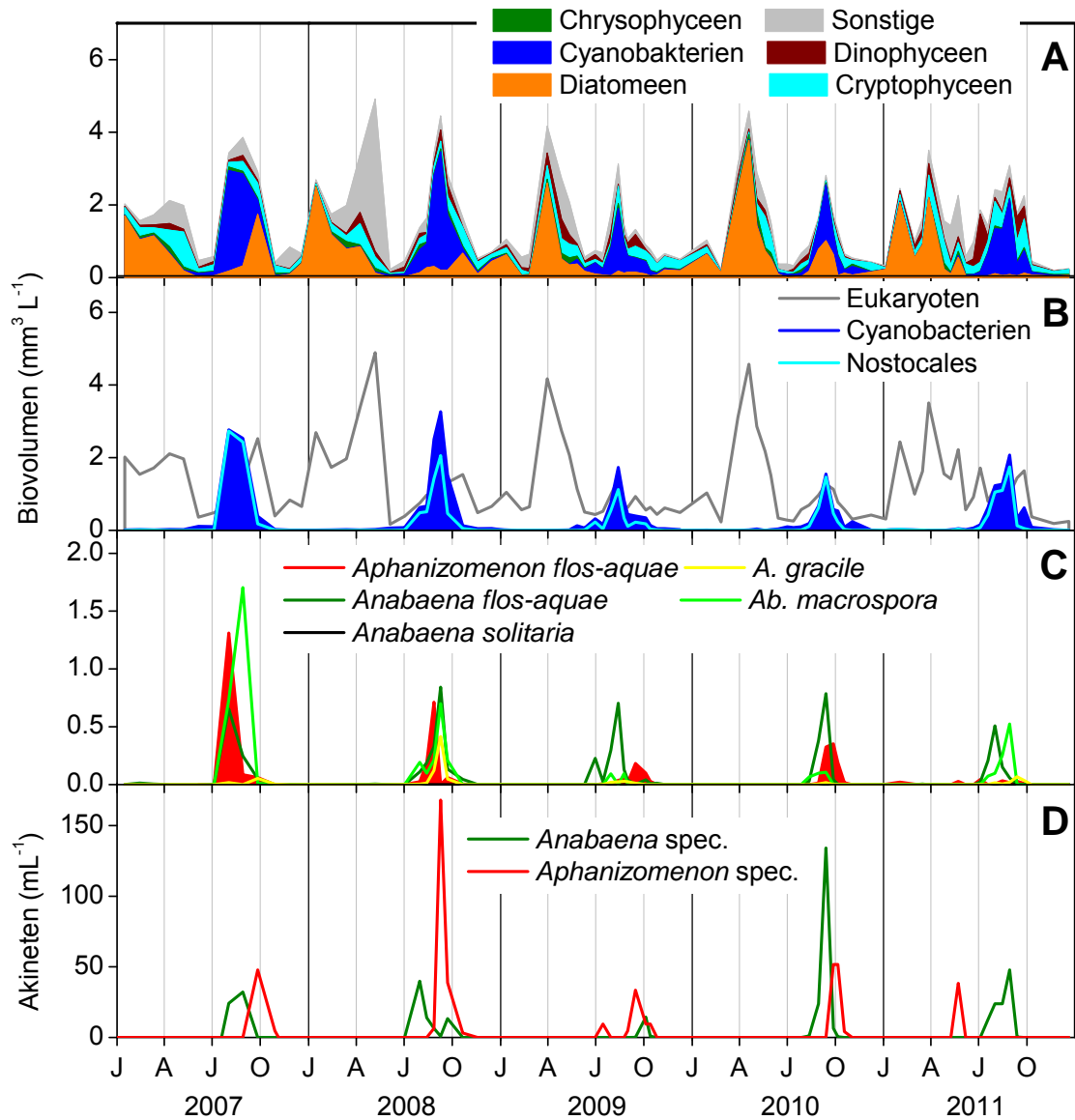


Abb. 3-1. Saisonale Dynamik des Phytoplanktons im durchmischten, oberen Teil der Wassersäule des Scharmützelsees (Messstelle RIE) für die Jahre 2007 (Daten aus dem Nostotox-Projekt) bis 2011. A: Algenklassen (summarisch), B: eukaryotische Algen und Cyanobakterien, C: wichtige Gattungen der Nostocales sowie D: Abundanz von Akineten.

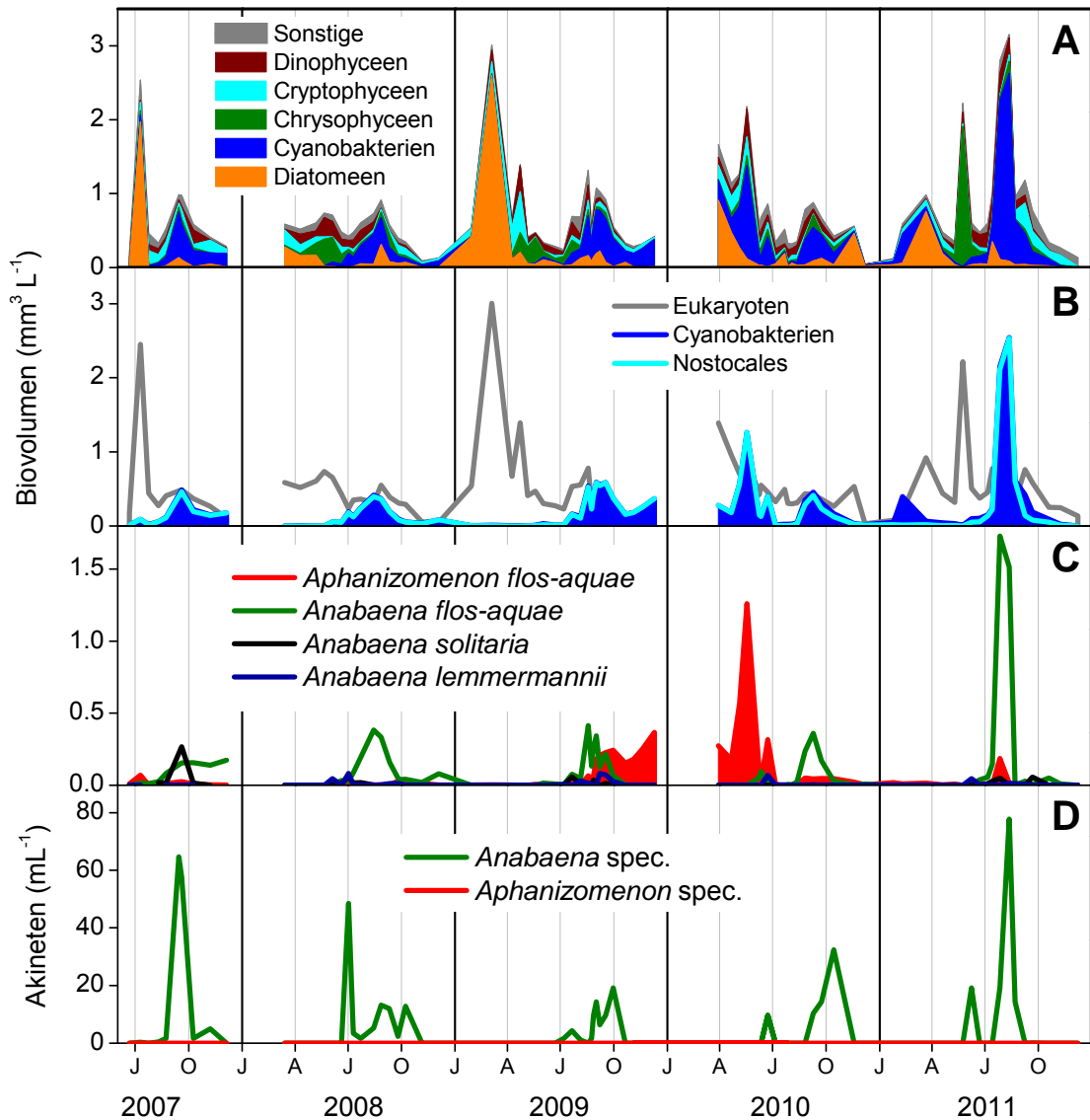


Abb. 3-2. Saisonale Dynamik des Phytoplanktons im durchmischten, oberen Teil der Wassersäule des Stechlinsees (Messstelle Tiefenboje) von Juni 2007 (Daten aus dem Nostotox-Projekt) bis Dezember 2011. A: Algenklassen (summarisch), B: eukaryotische Algen und Cyanobakterien, C: wichtige Gattungen der Nostocales sowie D: Abundanz von Akineten.

Horizontale räumliche Patchiness

Horizontale Unterschiede in der Phytoplanktonbiomasse ließen sich in beiden Untersuchungsgewässern nachweisen. Besonders stark waren sie im Scharmützelsee ausgeprägt. Ursache dafür ist das verschiedene Mixisverhalten der einzelnen Seebecken sowie der unterschiedliche Grad der anthropogenen Belastung in Vergangenheit und Gegenwart (Grüneberg et al. 2011). Sie bedingen einen höheren trophischen Zustand in der Nordbucht des Sees. Demzufolge ist hier die Phytoplanktonbiomasse höher (Abb. 3-3). Die Unterschiede sind besonders stark während der Sommermonate ausgeprägt. Die durch Cyanobakterien dominierte Biomasse ist dann in der Nordbucht 2 bis 3mal größer als im Südbecken, wobei sich die Artenzusammensetzung der Nostocales nicht unterscheidet.

Diese horizontalen Unterschiede haben natürlich eine Bedeutung für die Entwicklung der Nostocales. Über die Wassersäule findet stets ein gewisser Austausch von Phytoplankton, also vegetativen Zellen und Akineten zwischen den Seebecken statt. Allerdings wird ein unterschiedlicher Eintrag von Akineten ins Sediment vermutet, was wiederum eine Auswirkung auf die Rekrutierung hat, da das Verhältnis von Sedimentfläche zum Wasserkörper sich in den Seebecken unterscheidet. Es ist im flacheren Nordteil höher als im tiefen, steilscharigen Südbecken.

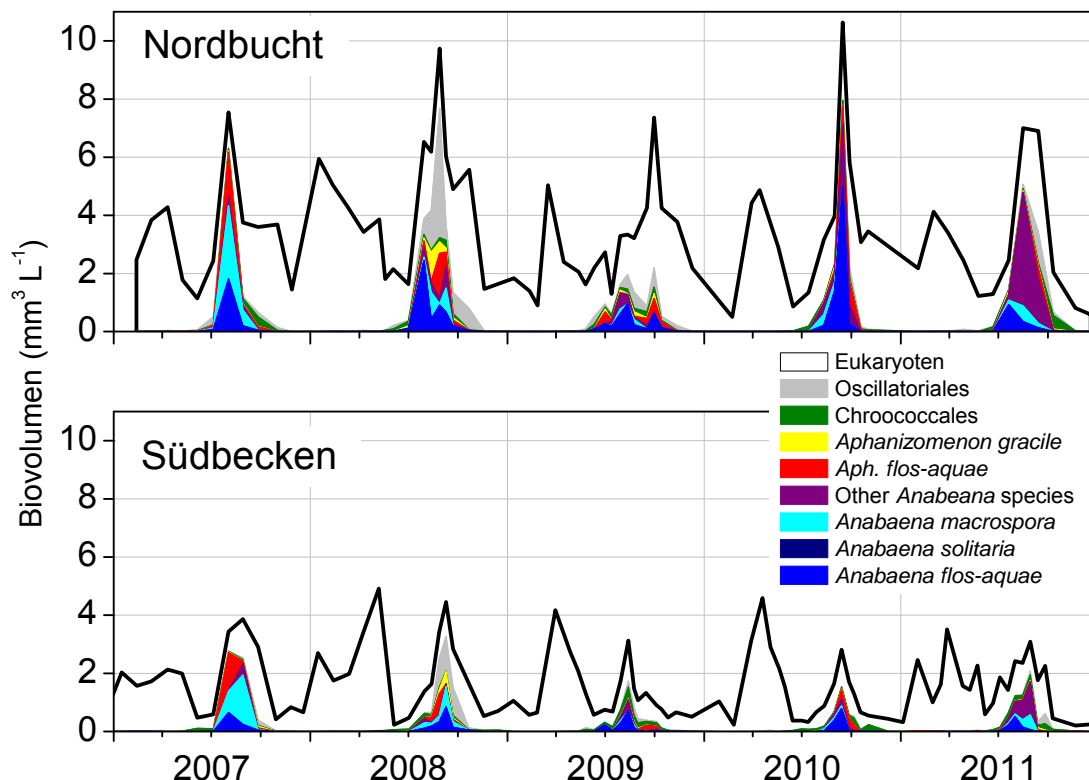


Abb. 3-3. Biovolumen des Phytoplanktons sowie ausgewählte Cyanobakteriengruppen und Nostocales-Arten im Nordbecken und im Südbecken des Scharmützelsees von 2007 bis 2011 (summarische Darstellung).

Metalimnische Populationsmaxima – eine Besonderheit des Stechlinsees

Eine Besonderheit im Stechlinsee stellt das metalimnische Maximum von *Aphanizomenon flos-aquae* dar. Exemplarisch ist das Biovolumen von *Aphanizomenon flos-aquae* vergleichend zur Chlorophyll *a*-Fluoreszenz (Kanal „Bluegreen“ der Fluoroprobe-Sonde) sowie zu den Tiefenprofilen physikalischer Parameter für einen Untersuchungstermin im September 2009 in Abbildung 3-4 dargestellt. Es wird verdeutlicht, dass das Biovolumen von *Aphanizomenon flos-aquae* über die Chlorophyll *a*-Fluoreszenz erfasst werden kann. Die vertikale Verteilung von *Aphanizomenon flos-aquae* wurde daher mittels Sondenmessungen zeitlich und räumlich hoch aufgelöst ermittelt.

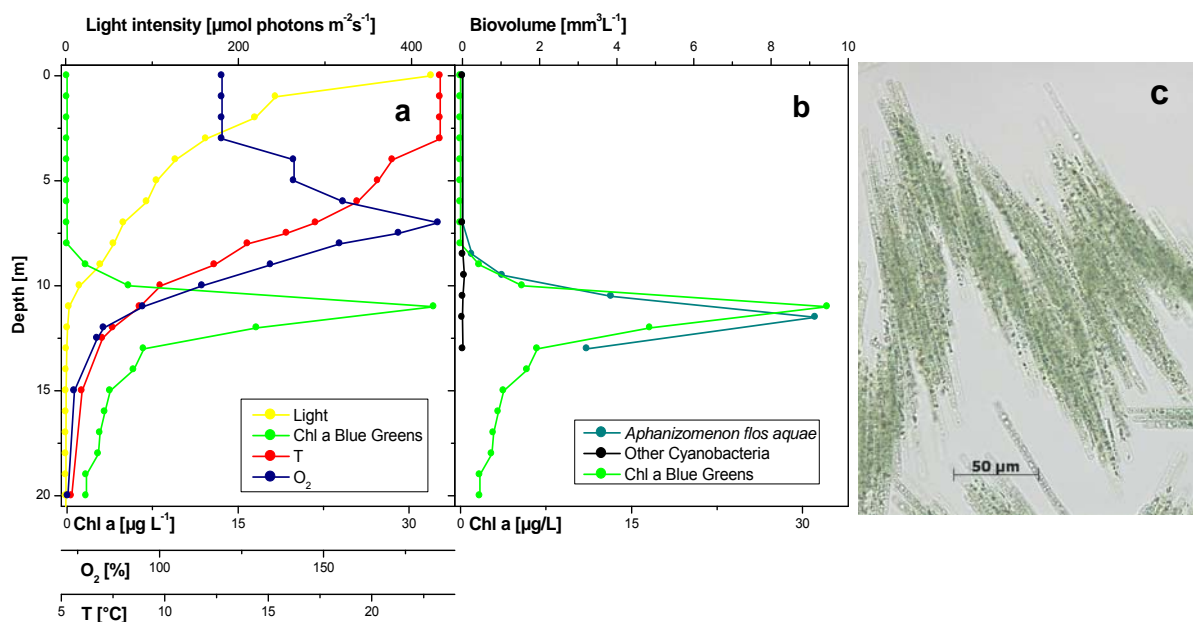


Abb. 3-4. a) Tiefenprofil des Cyanobakterien Chlorophyll *a*, Lichtintensität, Temperatur und Sauerstoffsättigung im Stechlinsee am 1. September 2009. b) Tiefenprofil des Biovolumens von *Aphanizomenon flos-aquae* und anderer Cyanobakterien und Chlorophyll *a*-Fluoreszenz. c) Mikroskopische Aufnahme einer Kolonie von *A. flos-aquae* aus dem Stechlinsee.

Um den Einfluss von Temperatur und Licht auf die saisonale und vertikale Verteilung von *Aphanizomenon flos-aquae* zu analysieren, sind ausgewählte Isolinien der Temperatur vergleichend zu den Isolethen der Chlorophyll *a*-Fluoreszenz in Abbildung 3-5 dargestellt. Aus der Abbildung wird deutlich, dass sich der Peak in den Jahren 2008 bis 2010 aufbaut, sobald sich die thermische Schichtung der Wassersäule ausgebildet hat. Der absolute Wert der Temperatur scheint jedoch keinen Einfluss auf die Lage des Peaks zu haben, da er sich bei unterschiedlichen Temperaturen einschichtet. Die Abbildung verdeutlicht ebenfalls, dass *Aphanizomenon flos-aquae* den Winter 2009/10 in der Wassersäule überdauert, während sie im folgenden Winter 2010/11 in den oberen 20 m nicht zu detektieren war. Da ausgeschlossen werden kann, dass sich die Cyanobakterien in noch größeren Tiefen aufhalten, kann man davon ausgehen, dass die Population zusammengebrochen ist.

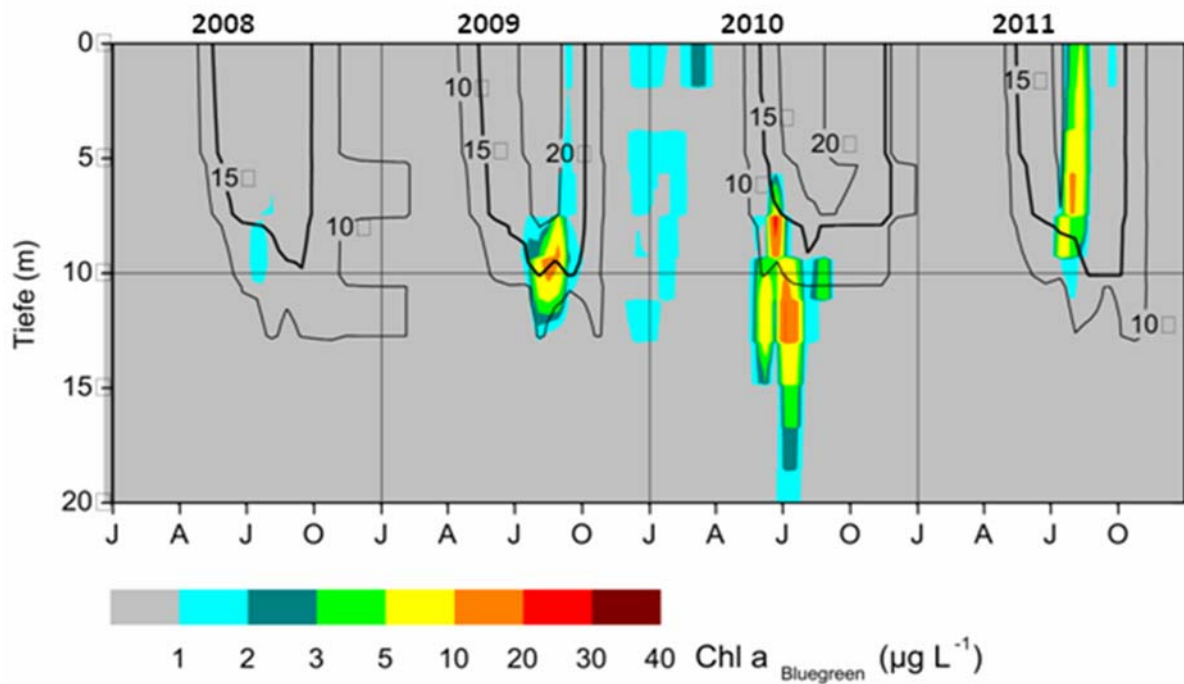


Abb. 3-5. Isolethendarstellung der Chlorophyll *a*-Fluoreszenz (Kanal „Bluegreen“ der Fluoroprobe-Sonde) sowie Isolinien der Wassertemperatur von 10, 15 und 20 °C für den Stechlinsee in den Jahren 2008 bis 2011.

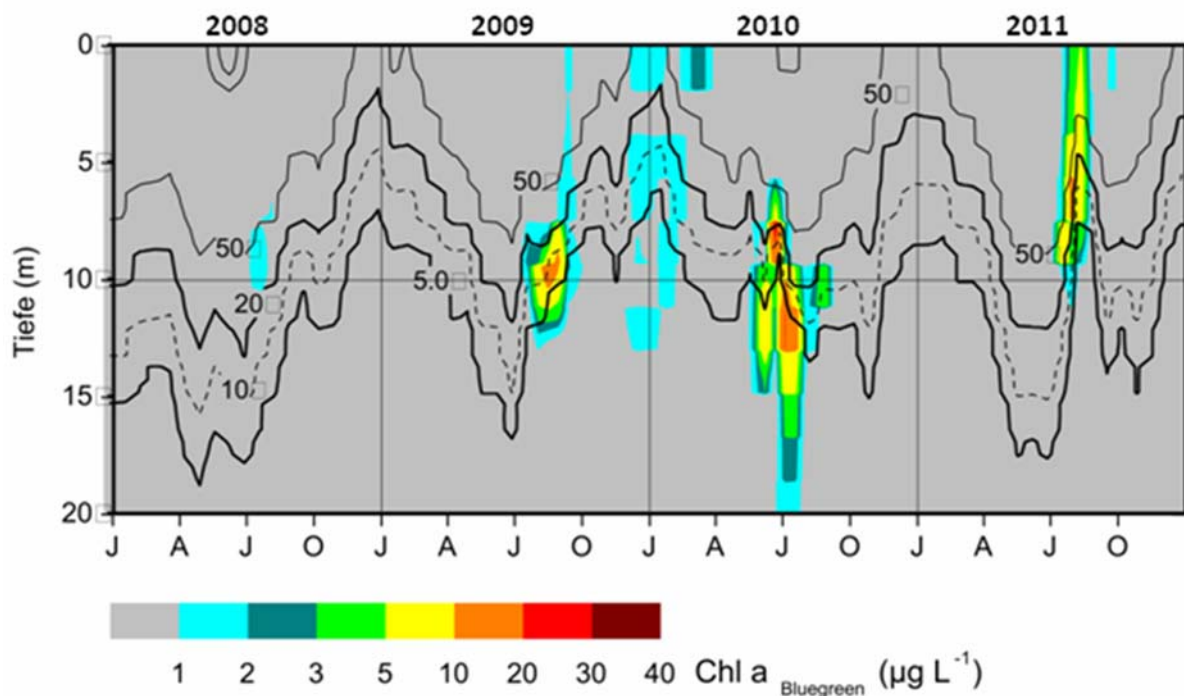


Abb. 3-6. Isolethendarstellung der Chlorophyll *a*-Fluoreszenz (Kanal „Bluegreen“ der Fluoroprobe-Sonde) sowie Isolinien der Lichtintensität von 5, 10, 20 und 50 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ für den Stechlinsee in den Jahren 2008 bis 2011.

Einen stärkeren Einfluss auf die Peaktiefe als die Temperatur hat die Lichtintensität (Abb. 3-6). Der Peak schichtete sich zwischen 5 und 20 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ein.

Aphanizomenon flos-aquae war in nennenswerten Biomassen nur unter Eis im Februar/März 2010 in Bereichen mit Lichtintensitäten über $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ nachzuweisen, sonst in der Regel unter $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Hierbei muss jedoch angemerkt werden, dass die Lichtschwächung durch die Eis- und Schneedecke nicht gemessen worden ist. In Abhängigkeit von der Eisbeschaffenheit gelangen bis zu 80 % des Oberflächenlichtes durch die Eisdecke. Lediglich kompakte Schneeauflagen führen zu einer Reduktion auf 20 % (Rücker & Henschke 2004). Die berechneten Lichtintensitäten in eisbedeckten Perioden sind also eher überschätzt.

Die Auswertung der Freilanddaten zeigt, dass *Aphanizomenon flos-aquae* ein sehr schmales ökologisches bzw. physiologisches Optimum bezüglich der Lichtintensität hat. Sie verträgt weder deutlich höhere noch deutlich niedrigere Lichtintensitäten. Dies stimmt mit Ergebnissen aus Laborstudien zum lichtabhängigen Wachstum dieser Art überein, die Mehnert et al. (2010) mit einem Stamm, den sie aus dem Stechlinsee isoliert hatten, durchführten.

Der Populationszusammenbruch von *Aphanizomenon flos-aquae* im Winter 2010/11 ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass es nur zwei kurze Phasen der Eisbedeckung von je 13 bzw. 14 Tagen Dauer gab. Eine fehlende Eisdecke führt dazu, dass der Wind den Wasserkörper stärker durchmischen kann, wodurch die Phytoplankter in größere Wassertiefen verfrachtet werden. Damit verringert sich ihr Lichtgenuss und sie sind einer stärkeren mechanischen Belastung durch die Turbulenzen ausgesetzt. Im Gegensatz dazu war der Stechlinsee im Winter 2009/2010 durchgängig 63 Tage mit Eis bedeckt. Die turbulenzärmeren Bedingungen unter Eis ermöglichten es *Aphanizomenon flos-aquae*, sich mit Hilfe ihrer Gasvakuolen unter der Eisdecke einzuschichten, was sich in den erhöhten Chlorophyll *a*-Fluoreszenzwerten in den obersten 2 Metern im März 2010 widerspiegelt (Abb. 3-5, Abb. 3-6).

Da *Aphanizomenon flos-aquae* im Stechlinsee keine Akineten bildet, kann der Wiederaufbau der Population in der folgenden Vegetationsperiode nur aus den wenigen verbliebenen Filamenten erfolgen, was 2011 offenbar nicht ausreichend war, um die gleiche Populationsgröße wie in 2010 zu erreichen. Hingegen waren 2011 die Startbedingungen für nostocale Arten, die zu einem großen Teil in Form von Akineten überwinterten, deutlich vorteilhafter, was den Dominanzwechsel von *Aphanizomenon* zu *Anabaena* erklärt. Die Entwicklung von *Anabaena* könnte zudem durch die erhöhten Konzentrationen von gelöstem Phosphor im Winter 2010/11 (nicht dargestellt) begünstigt worden sein. Da *Anabaena* spp. höhere Lichtintensitäten als *Aphanizomenon flos-aquae* toleriert und nutzen kann, ist sie nicht darauf angewiesen, sich in tiefen und kalten metalimnischen Bereichen einzuschichten, sondern kann sich im Epilimnion entwickeln. Dort werden durch höhere Temperaturen sowohl die Primärproduktion als auch das Wachstum begünstigt. Hierdurch könnte sich der schnelle Aufbau einer im Vergleich zu den Vorjahren deutlich größeren Population von *Anabaena* erklären lassen. Gleichzeitig werden durch das Biovolumen von *Anabaena* im Epilimnion die Lichtintensität im Metalimnion vermindert und damit die Wachstumsbedingungen für die metalimnische *Aphanizomenon flos-aquae* Population verschlechtert.

Invasive Arten

Die invasive nostocale Art *Cylindrospermopsis raciborskii* (Abb. 3-7A), die im Scharmützelsee in den Jahren 1995 bis 2002 häufig und in größeren Biovolumina auftrat, wurde von 2006 bis 2010 nicht mehr in den Routinezählproben nachgewiesen. Allerdings wurden Akineten von *C. raciborskii* in den Sedimentfallen gefunden (siehe Kapitel 3.1.2), was zeigt, dass die Art in geringer Abundanz nach wie vor auftritt. Erst im September 2011 gelang wieder ein Nachweis in einer Epilimnionprobe. Als weitere invasive Art wurde *Aphanizomenon aphanizomenoides* im Scharmützelsee 2007 – 2011 jährlich (außer 2008) und im Stechlinsee an einem Termin in 2008 gefunden.

Während eines gemeinsamen Workshops mit den israelischen Kollegen gelang es erstmals, aus dem Lake Kinneret Stämme von *Anabaena bergii* zu isolieren (Ballot et al. 2011). Diese Art ist in norddeutsche Gewässer ebenfalls eingewandert (Stüken 2006), wurde aber im Stechlinsee und Scharmützelsee bis jetzt noch nicht gefunden.

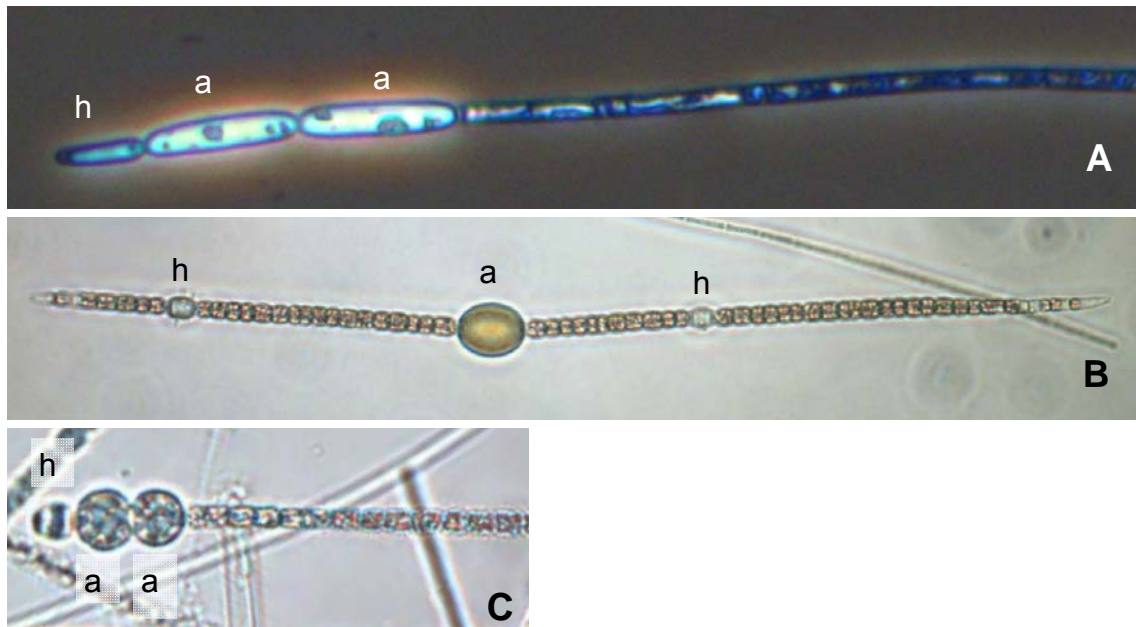


Abb. 3-7. Mikroskopische Aufnahmen von invasiven Nostocales: *Cylindrospermopsis raciborskii* (A), *Anabaena bergii* (B) und *Aphanizomenon aphanizomenoides* (C) mit Heterocyten (h) und Akineten (a).

3.1.2 Bestimmung der Sedimentation von Akineten

Die Abbildungen 3-8 und 3-9 zeigen die Abundanzen der Gesamtzellzahl und der Akineten der Nostocales-Arten im Epilimnion des Scharmützelsees sowie die Sedimentationsraten von Akineten. Die Akineten aus den Sedimentationsfallen wurden wie oben erläutert auf Gattungsebene zusammengefasst (Ausnahme *Anabaena lemmermannii*). Bezüglich der Abundanzen zeigten sich sowohl Artunterschiede (z.B. ist *Anabaena flos-aquae* die häufigste *Anabaena*-Art, in relativ großem Abstand gefolgt von *A. macrospora*, Abb. 3-8) als auch erhebliche Unterschiede zwischen den Untersuchungsjahren (z.B. *Aphanizomenon gracile*, Abb. 3-9).

Bei der Betrachtung des saisonalen Verlaufes der Kurven zeigt sich, dass die Akinetenbildung der pelagischen Population häufig zeitlich etwas verzögert zur Populationsentwicklung einsetzt. In den Sedimentationsfallen wurden jedoch oft Akineten über den gesamten Zeitraum der Populationsentwicklung eines Jahres gefunden. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass die Fallen über 14 Tage integrieren und die wenigen Akineten, die zu Beginn der Populationsentwicklung gebildet werden, in den Fallen aufkonzentriert wurden. Die Phytoplanktonprobe stellt demgegenüber nur eine Momentaufnahme dar. Außerdem werden die Akineten bei der routinemäßigen Bearbeitung der Phytoplanktonproben nur erfasst, wenn sie zufällig im Blickfeld sind. Das heißt, dass der Zählfehler für die Akineten relativ groß sein wird. Für eine genaue quantitative Bestimmung müssten etwa 200 Akineten pro Art erfasst werden. Dieser zusätzliche Zeit- und Kostenaufwand konnte für die Routineproben nicht geleistet werden. Zwischen 9 und 27 m Tiefe traten geringfügige Verluste an Akineten auf. Peaks von pelagischen Akineten wurden oft mit einem Zeitverzug von 14 Tagen (entspricht dem Probenahmeintervall) in den Sedimentfallen gefunden, was sich aus der Zeit erklären lässt, die die Akineten benötigen, um die Wassersäule nach unten zu passieren. Von März bis Juni/Juli wurden keine Akineten in den Fallen gefunden, was bedeutet, dass im Frühjahr keine Akineten im Pelagial gebildet wurden.

Ein Phänomen ist, dass in den Sedimentationsfallen einige wenige *Cylindrospermopsis*-Akineten gefunden wurden (Abb. 3-9), die Art im Pelagial jedoch nicht nachgewiesen wurde. Das ist ein weiterer Beweis dafür, dass selten vorkommende Objekte (Akineten oder seltene Arten wie *Cylindrospermopsis*) in der Routineanalyse nicht genau erfasst werden können. Andererseits bedeutet das, dass diese Art immer noch im See vorkommt und bei Veränderung der abiotischen Bedingungen mit einer stärkeren Populationsentwicklung gerechnet werden muss.

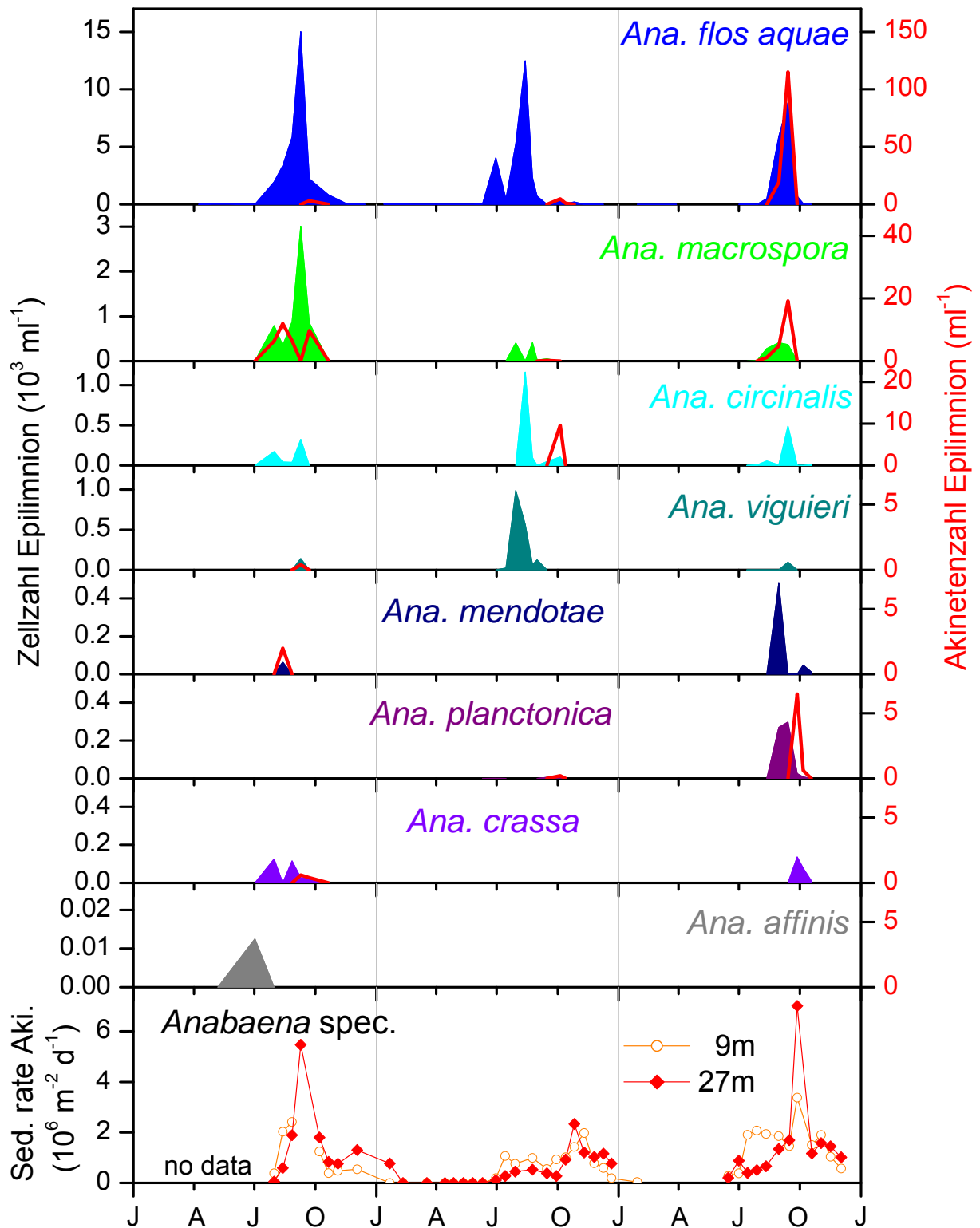


Abb. 3-8. Gesamtzellzahl (vegetative Zellen, Heterocyten und Akineten) sowie Zahl der Akineten von *Anabaena*-Arten im Epilimnion des Scharmützelsees 2008 - 2010. In der untersten Abbildung sind die Sedimentationsraten der Akineten in den Sedimentationsfallen in 9 und 27 m Tiefe dargestellt. Beachte unterschiedliche Skalierung der Achsen.

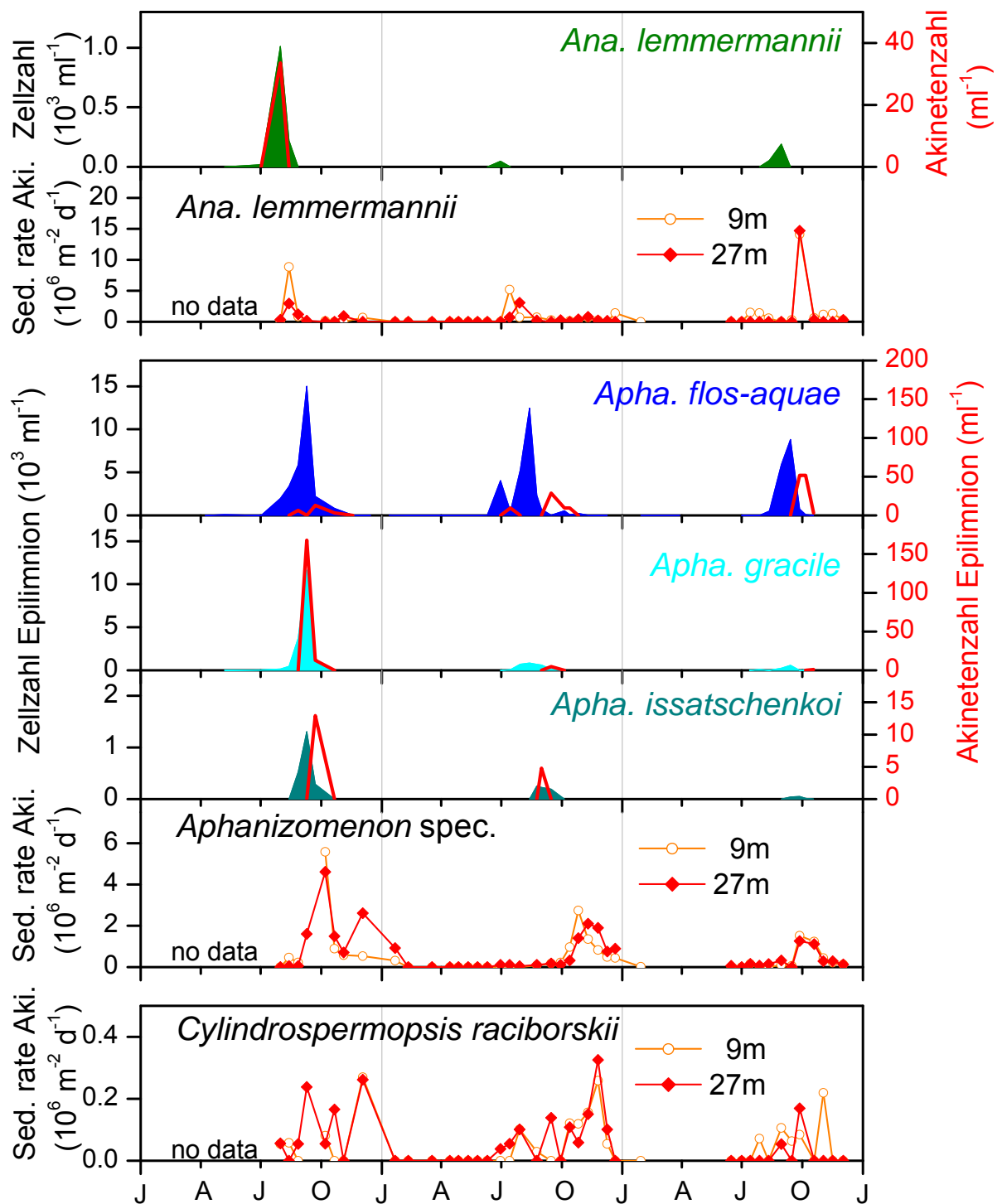


Abb. 3-9. Gesamtzellzahl (vegetative Zellen, Heterocyten und Akineten) sowie Zahl der Akineten von *Anabaena lemmermannii* (Oben) und *Aphanizomenon*-Arten (Mitte) im Epilimnion des Scharmützelsees 2008 - 2010. In den jeweiligen unteren Abbildungen sind die Sedimentationsraten der Akineten in den Sedimentationsfallen in 9 und 27 m Tiefe dargestellt. Zellen von *Cylindrospermopsis raciborskii* wurden im Epilimnion nicht gefunden, nur in den Sedimentfallen. Beachte unterschiedliche Skalierung der Achsen.

In Abbildung 3-10 sind die Gesamtzahlen der pro Jahr sedimentierten Akineten von *Aphanizomenon*- und *Anabaena*-Arten (*Anabaena lemmermannii* ist separat dargestellt) sowie *Cylindrospermopsis raciborskii* vergleichend dargestellt. Es fällt die Abnahme von *Aphanizomenon*-Akineten über den Zeitraum 2008 - 2010 auf, während die Zahl der *Anabaena*-Akineten keinen Trend zeigt. Erstaunlich groß ist die Zahl von *Anabaena lemmermannii*-Akineten, die in der gleichen Größenordnung aller anderen *Anabaena*-Arten liegt, obwohl diese Art im Pelagial nur vergleichsweise selten detektiert wird, da sie die Eigenschaft hat, in großen Kolonien vorzukommen. Die Zahl der insgesamt sedimentierten *Cylindrospermopsis*-Akineten betrug etwa ein Zehntel der anderen Arten. Diese Studie ist bislang einmalig und beweist den regelmäßigen Eintrag von Akineten ins Sediment, d.h. die Auffüllung des Akinetenpools durch frische Dauerzellen.

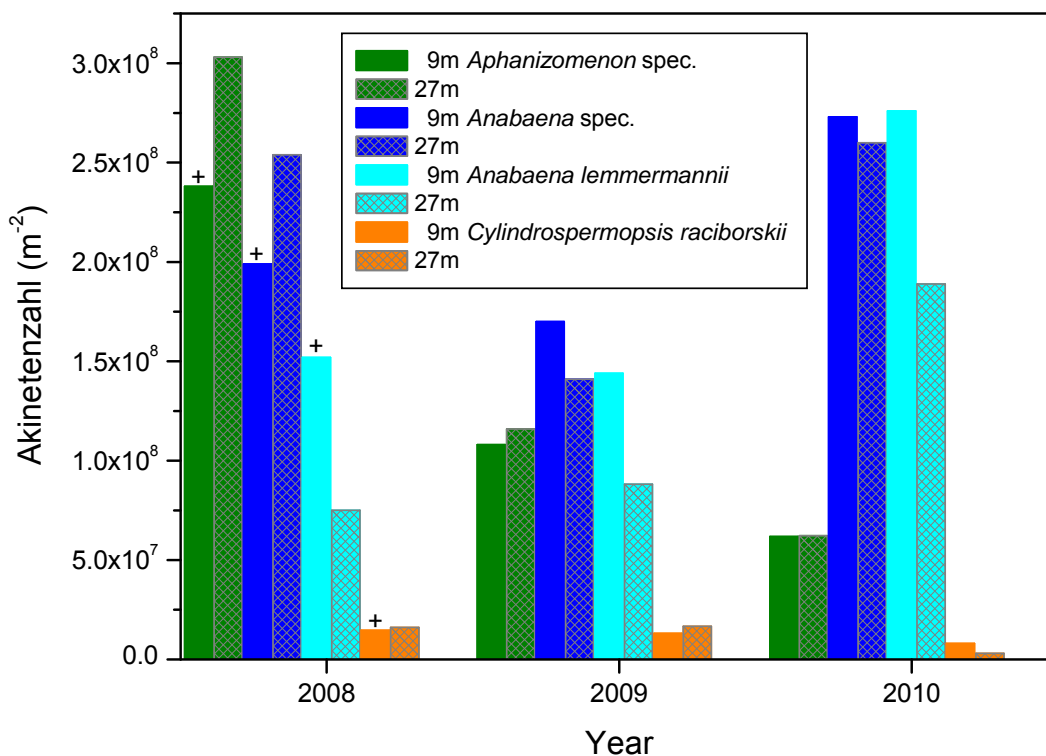


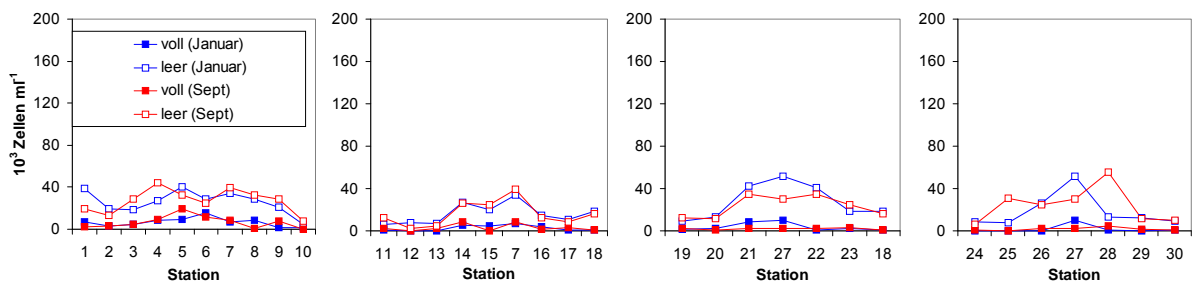
Abb. 3-10. Gesamtzellzahl (Summe) der pro Jahr sedimentierten Akineten von *Aphanizomenon*- und *Anabaena*-Arten sowie *Anabaena lemmermannii* und *Cylindrospermopsis raciborskii* in den Sedimentationsfallen in 9 und 27 m Tiefe des Scharmützelsees 2008 – 2010. Da an einem Termin im Jahr 2008 die 9 m-Falle unbrauchbar war (+), wurde der 27m-Wert für diesen Tag bei der Summenbildung eingesetzt.

3.1.3 Überwinterung von Akineten im Sediment und vegetativen Zellen im Pelagial

Horizontale Verteilung von Akineten im Sediment

Im Stechlinsee zeigte die Konzentration der Akineten im Sediment ein ähnliches Verteilungsmuster wie die Anteile an organischer Substanz. Mit zunehmender Wassertiefe stieg die Abundanz von Akineten im Sediment (Abb. 3-11), wobei die Akineten von *Anabaena flos-aquae* und *Anabaena lemmermannii* etwa 95 % aller Akineten im Sediment bildeten. Im Durchschnitt handelte es sich bei 84 % aller Akineten nur noch um die leeren Hüllen. Lediglich 16 % aller Akineten waren intakte Dauerzellen, die einen Protoplasten enthielten und vermutlich keimfähig waren. Die Verteilungsmuster und Abundanzen der Akineten waren im Januar/Februar und im September 2009 relativ ähnlich.

A) *Anabaena flos-aquae*



B) *Anabaena lemmermannii*

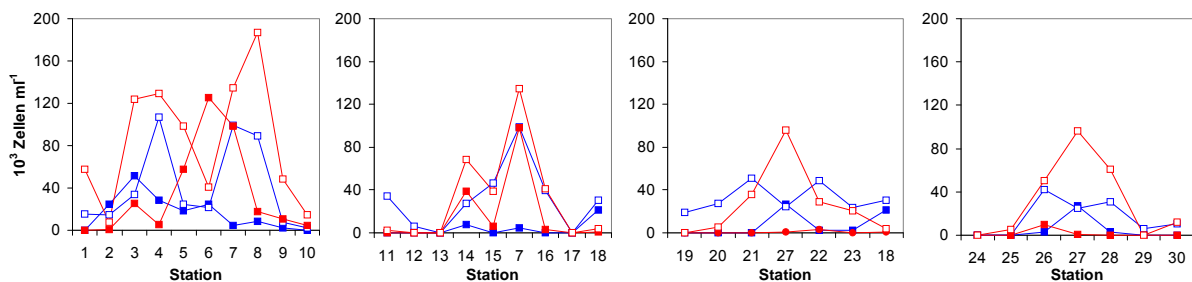


Abb. 3-11. Abundanz der Akineten von *Anabaena flos-aquae* (A) und *Anabaena lemmermannii* (B) im Sediment (0-1 cm) an den verschiedenen Untersuchungspunkten des Stechlinsees im Januar/Februar und September 2009 (Transekt 2: nach Wassertiefe geordnet). Lage der Probenahmestellen siehe Abb. 2-5.

Betrachtet man den Anteil intakter Akineten an der Gesamtzahl der Akineten, die sich aus intakten Akineten und leeren Hüllen zusammensetzt, so ist mit zunehmender Wassertiefe eine steigende Tendenz des Anteils der intakten Akineten zu erkennen (Abb. 3-12). Insbesondere in Bereichen mit weniger als 10 m Wassertiefe ist im Stechlinsee jedoch auch eine sehr hohe Variabilität der Akinetenzahl zu beobachten.

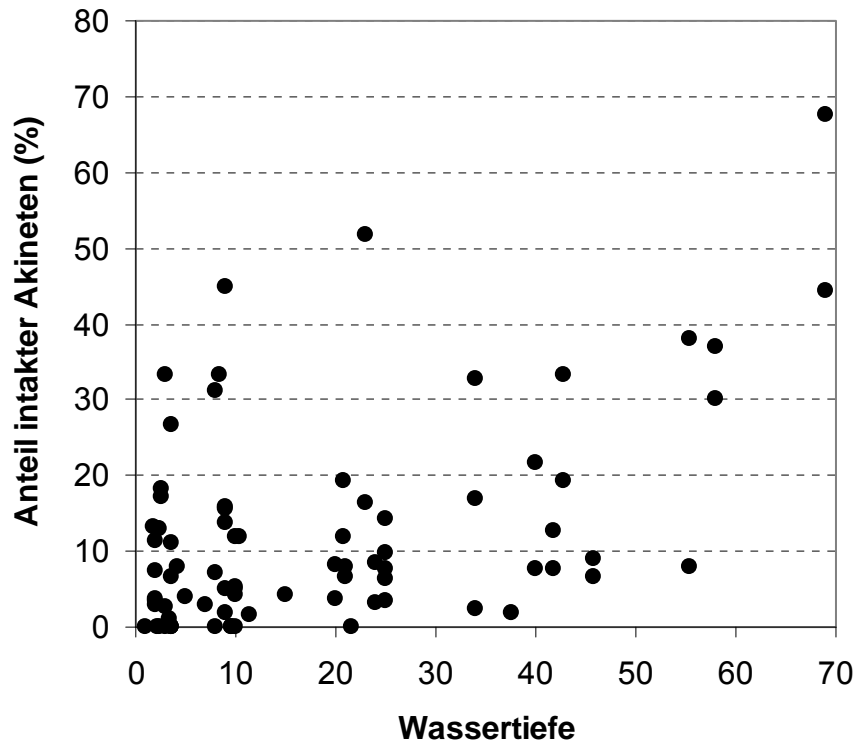


Abb. 3-12. Anteile intakter Akineten von *Anabaena flos-aquae* und *A. lemmermannii* an der Gesamtzahl der Akineten (Summe aus intakten Akineten und leeren Hüllen) in unterschiedlichen Wassertiefen des Stechlinsees. Zusammenstellung aller Daten von Mai 2008, Januar/Februar sowie September 2009).

Im Scharmützelsee war die Anzahl der intakten Akineten in der Nordbucht mit 100 000 intakten Zellen pro g Trockengewicht Sediment am geringsten und im Bereich der tiefsten Stelle am größten (1,25 Mio. Akineten g^{-1} TG Sediment; Abb. 3-13). Dabei wurde aber auch festgestellt, dass die tiefste Stelle (Abb. 3-13A, Punkt Sed_T20) nicht der Ort der höchsten Akinetenablagerung war, wie ursprünglich vermutet wurde. In den Uferbereichen des Südbeckens waren kaum keimfähige Akineten von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. zu finden. Das trat ebenfalls auf die Uferbereiche der Nordbucht zu (Abb. 3-13A, Punkte U1-U5). Die Anzahl potenziell keimfähiger Akineten nahm, ebenso wie im Stechlinsee, mit der Wassertiefe zu (Abb. 3-14).

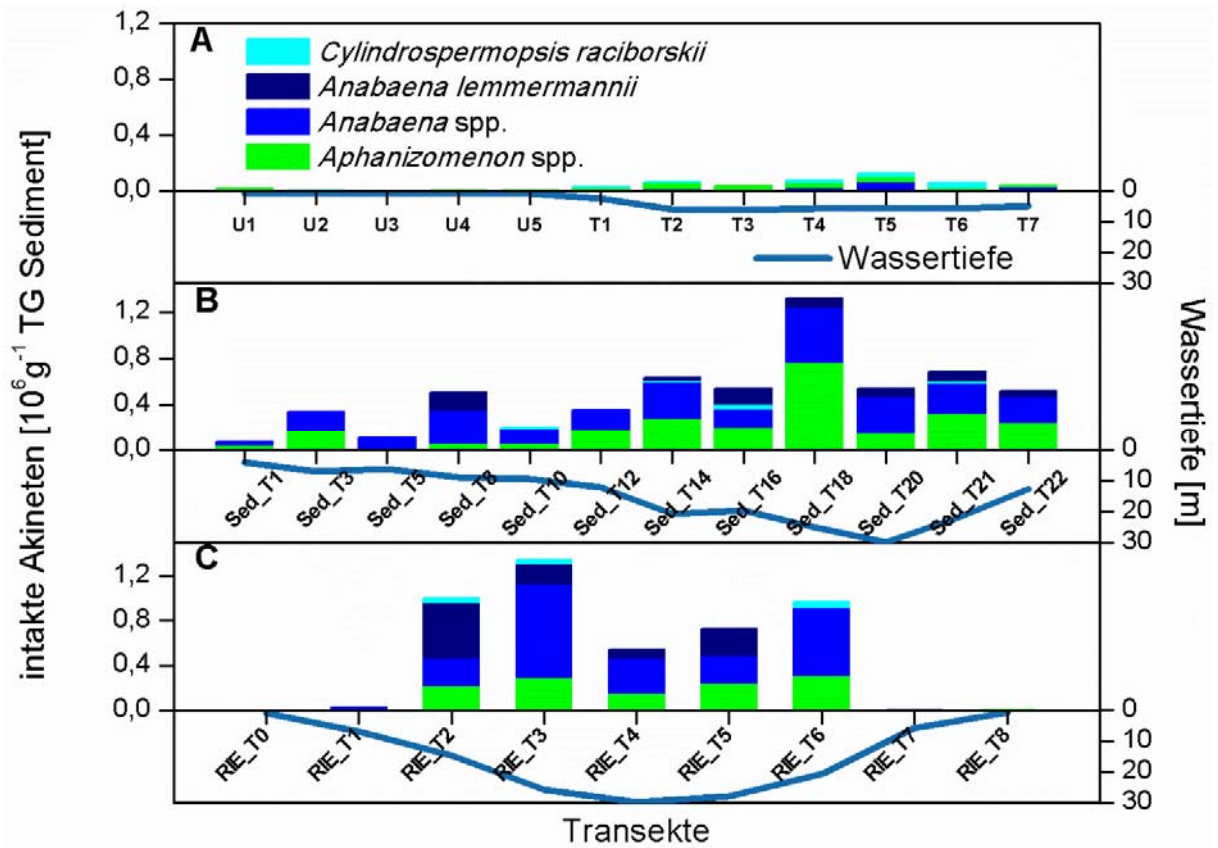


Abb. 3-13. Akinetenkonzentration im Oberflächensediment (0 – 1 cm) des Scharmützelsees entlang des Nordbuchtransektes (A), des Längsachsen-Transektes (Sed_T1 – 22; B) sowie des Quer-Transektes im Bereich der tiefsten Stelle (RIE_T0 – 8; C). Lage der Probenahmestellen siehe Abb. 2-6.

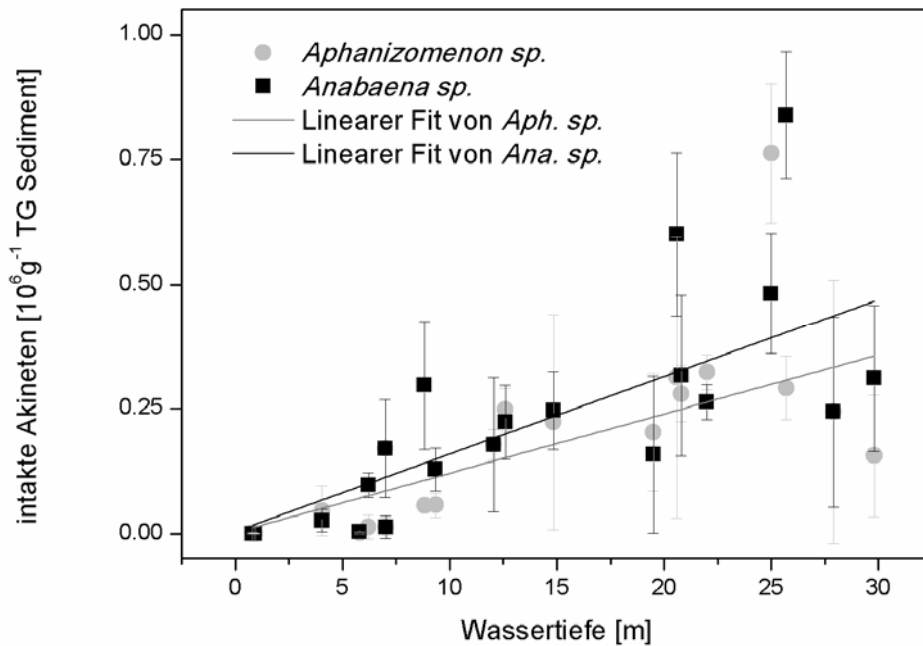


Abb. 3-14. Anzahl intakter Akineten von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. in unterschiedlichen Wassertiefen des Scharmützelsees (Zusammenstellung aller Transektpunkte aus Abb. 3-13). Standardabweichung = Zählfehler der drei ausgezählten Transecte in der Utermöhl-Sedimentationskammer.

Für den Stechlinsee wurde auf Basis der umfangreichen Untersuchungen zur horizontalen Verteilung der Akineten die mögliche Größe des Inokulums für die Entwicklung von Nostocales-Populationen aus der Keimung von Akineten abgeschätzt. Dazu wurde die Abundanz von intakten Akineten in den verschiedenen Tiefenstufen mit der Sedimentfläche der entsprechenden Tiefenstufe multipliziert (Tab. 3-1). Geht man davon aus, dass für die Keimung eine Temperatur von 8 °C notwendig ist, bedeutet das für den Stechlinsee, dass nur etwa 10 % des Gesamtinventars an intakten Akineten in einem Bereich abgelagert wurde, in dem diese Temperatur bis zum Beginn des Sommers (12 m im Juni) erreicht wird und somit Keimung wahrscheinlich ist. Die tiefer liegenden Zonen müssen nach bisherigem Kenntnisstand als eine Senke für Akineten betrachtet werden. Die hier abgelagerten Akineten können aufgrund der niedrigen Temperaturen und des fehlenden Lichtes nicht keimen. So erklärt sich auch die Zunahme von intakten (ungekeimten) Akineten mit zunehmender Tiefe.

Tab. 3-1. Abschätzung der Anzahl intakter Akineten sowie der Gesamtzahl von Akineten (intakte Akineten + leere Hüllen) im Oberflächensediment (0 - 1 cm) in den verschiedenen Tiefenstufen des Stechlinsees für Januar und September 2009.

Tiefenstufe (m)	Sedimentfläche (10 ⁶ m ²)	Intakte (10 ¹² L ⁻¹)		Gesamtzahl von Akineten (10 ¹² L ⁻¹)	
		Januar	September	Januar	September
0-5	0,77	1 ± 3	2 ± 2	11	15
5-10	0,38	10 ± 13	2 ± 1	40	8
10-20	0,84	2 ± 2	1 ± 1	15	10
20-30	0,88	12 ± 20	10 ± 11	105	86
30-50	1,07	22 ± 15	18 ± 17	232	190
> 50 m	0,36	26 ± 14	107 ± 30	95	384
Gesamt	4,30			552	661

Vertikale Verteilung von Akineten im Sediment

An der tiefsten Stelle des Stechlinsees wurden 2010 die Akinetenabundanz (Abb. 3-15) und die Sedimentzusammensetzung im Vertikalprofil untersucht (Abb. 3-16). Dabei zeigte sich erwartungsgemäß in den oberen Sedimentschichten eine Zunahme der Konzentration an intakten Akineten. In den tieferen Sedimentschichten wurden jedoch unerwartet hohe Konzentrationen an leeren Akinetenhüllen gefunden, die darauf hindeuten, dass die Cyanobakterien *Anabaena flos-aquae* und *Anabaena lemmermannii* schon vor 60 bis 100 Jahren möglicherweise weitaus stärker präsent waren als gegenwärtig (Sedimenthorizont 8 - 14 cm).

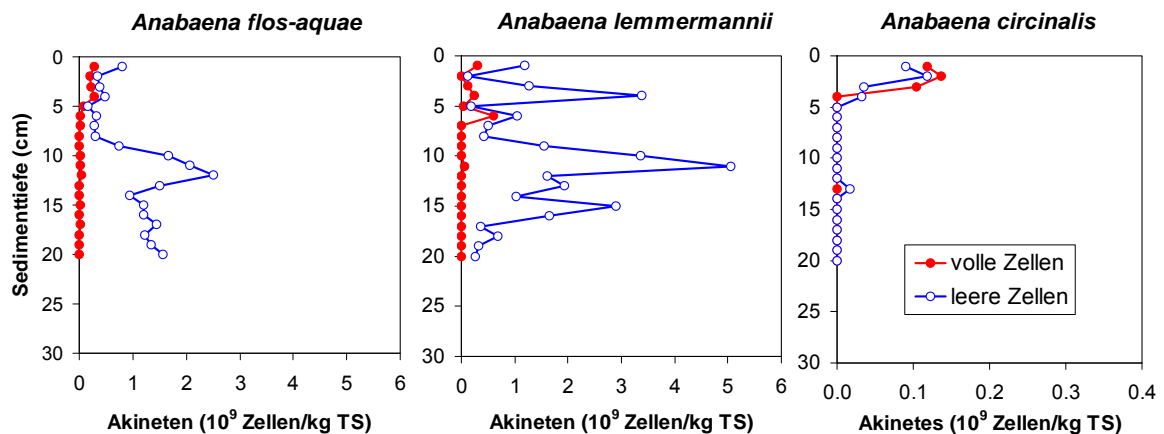


Abb. 3-15. Abundanzen von intakten (vollen) Akineten sowie Akinetenhüllen (leere Zellen) für drei Nostocales-Arten im Vertikalprofil eines Sedimentkernes, der an der tiefsten Stelle des Stechlinsees entnommen wurde.

Auch die Sedimentzusammensetzung wies drastische Veränderungen auf (Abb. 3-16). So kam es in den oberen Sedimentschichten zu einer Erhöhung der CaCO₃-Anteile im Trockengewicht. Dies ist vermutlich auf intensivere pelagische Kalzitfällungen infolge einer Eutrophierung (höhere Primärproduktion → höhere pH-Werte → höhere Übersättigung bezüglich CaCO₃) zurückzuführen.

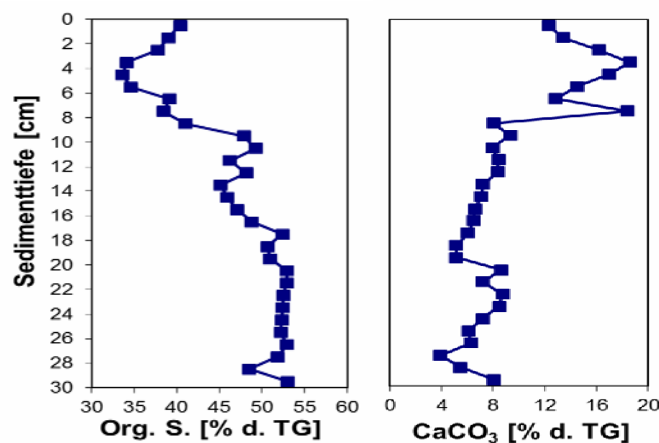


Abb. 3-16. Anteil organischer Substanz (Org. S.) sowie Kalziumkarbonatgehalt (CaCO₃) der Trockensubstanz (TG) eines Sedimentkernes, der an der tiefsten Stelle des Stechlinsees entnommen wurde.

Saisonale Variabilität der Akinetenabundanz im Sediment

Die Untersuchungen zur saisonalen Variabilität der Akinetenabundanz im Stechlinsee zeigten, dass die Konzentration der intakten Akineten an der Sedimentoberfläche an der tiefsten Stelle (Station 6; Wassertiefe = 69 m) im Jahresverlauf zunahm, während die Konzentration der leeren Akinetenhüllen eine abnehmende Tendenz aufwies (Abb. 3-17). Der Anteil der intakten Akineten an der Gesamtakinetenzahl (leere Hüllen + intakte Akineten) nahm im Jahresverlauf zu und zum Beginn des Folgejahres wieder ab. An den Probenahmestationen 2 (Wassertiefe = 9 m) und 23 (Wassertiefe = 25 m) konnte allerdings keine eindeutige Saisonalität festgestellt werden.

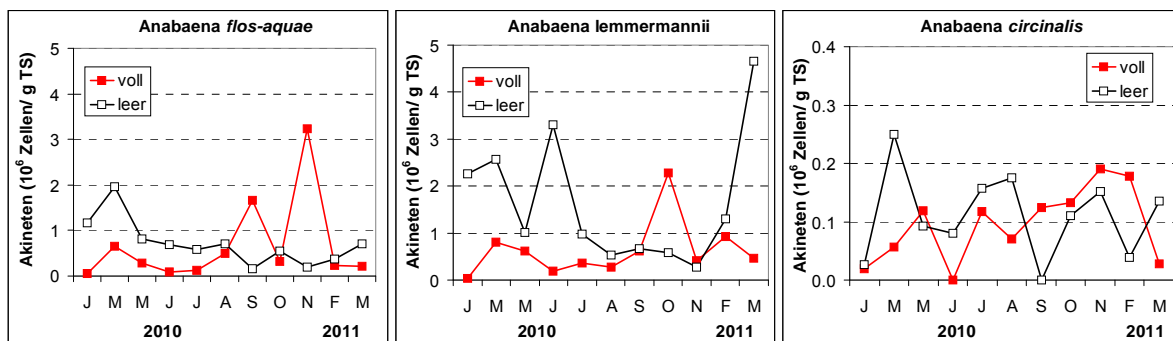


Abb. 3-17. Saisonale Variabilität intakter und leerer Akineten im Oberflächensediment (0 - 1 cm) an der tiefsten Stelle des Stechlinsees (Station 6: Wassertiefe = 69 m) pro Gramm Trockensubstanz (TS).

Die Abbildung 3-18 zeigt den saisonalen Verlauf der Abundanzen von Akineten im Oberflächensediment in der Nordbucht und im Südbecken des Scharmützelsees. Es fällt auf, dass die Abundanz der Akineten in 2009 deutlich geringer war als 2010. Es kann zwar ein methodischer Einfluss nicht gänzlich ausgeschlossen werden, da die Zählungen 2009 nach der CARD-FISH-Methode und 2010 nach der Methode von Utermöhl (1958) durchgeführt wurden, dennoch stimmen die Befunde mit den Ergebnissen der Sedimentfallen überein. Auch dort zeigte sich, dass 2010 mehr Akineten sedimentierten als 2009 (vgl. Abb. 3-9 und Abb.3-10).

Die Sedimentuntersuchungen bestätigten ebenfalls, dass der Eintrag von Akineten im Herbst am größten ist. Über den Winter nahm die Akinetenzahl dann wieder ab. Ursachen für die Verluste können Grazing oder Infektionen sein. Des Weiteren findet durch frisch sedimentierende Partikel eine gewisse Verdünnung der Akineten statt, und sie können durch Bioturbation in tiefere Sedimentschichten umgelagert werden.

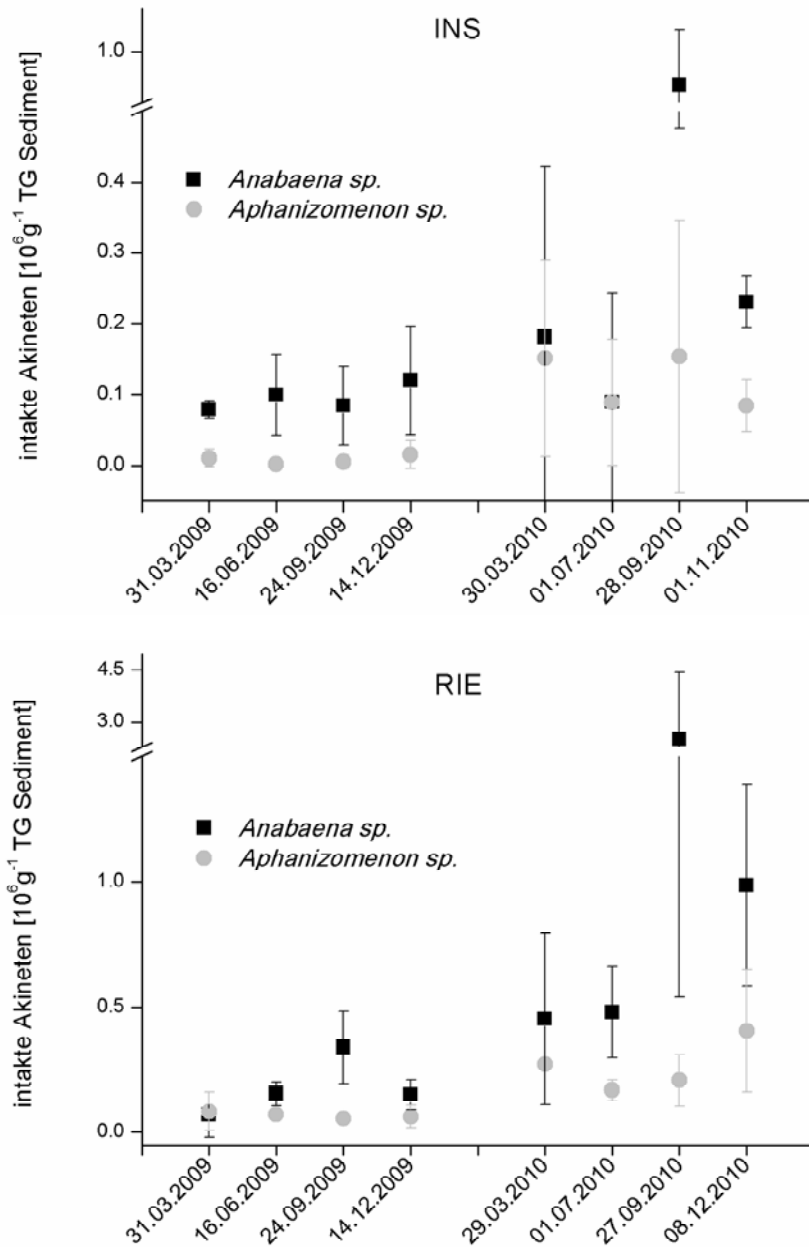


Abb. 3-18. Zeitliche Entwicklung der Akinetenkonzentration von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. als kumulative Darstellung der Anzahl an wachstumsfähigen Akineten im obersten Zentimeter des Sedimentes in der Nordbucht (INS) und an der tiefsten Stelle im Südbecken (RIE) des Scharmützelsees. Akinetenausählung für 2009 nach CARD-FISH-Methode und 2010 nach Utermöhl (1958).

Überwinterung im Pelagial

Um der Frage nachzugehen, ob überwinternde Filamente zur Rekrutierung der Nostocales-Populationen im Frühjahr beitragen, wurde das Vorkommen von vegetativen Zellen im Pelagial von November 2009 bis April 2011 in beiden Seen genauer untersucht.

Im Scharmützelsee konnten im Winter 2009/2010 (Abb. 3-19), bis auf einen Einzelfund im Februar, keine vegetativen Zellen von *Aphanizomenon* spp. registriert werden. Außerdem war ein kontinuierlicher Abfall von *Anabaena*-Filamenten auf Null im Februar 2010 erkennbar. Erst ab April waren wieder wenige Filamente im Wasserkörper detektierbar, die einen ersten kleinen Peak im Mai erreichten, der anschließend wieder zusammenbrach, so dass während des Klarwasserstadiums im Juni *Anabaena* spp. nicht nachgewiesen werden konnte. Erst im September 2010 erreichte die Art ihr Populationsmaximum mit nahezu 10 000 Filamenten pro Liter. Danach sank die Abundanz im Oktober rapide auf wenige Zellen pro Liter und ging wie im Vorjahr auf fast Null im Januar/Februar 2011 zurück. *Aphanizomenon* spp. entwickelte sich erst ab August 2010, war jedoch im Winter 2010/2011 auch unter Eis nachweisbar.

Wie in Abbildung 3-19 außerdem dargestellt ist, war die Zahl der filamentgebundenen Akineten von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. während des Populationsmaximums im September 2010 am höchsten, was die in Kapitel 3.1.2 hohe Sedimentationsrate von Akineten sowie den in Abbildung 3-18 dargestellten starken Anstieg der Akinetenzahl im Sediment bedingt.

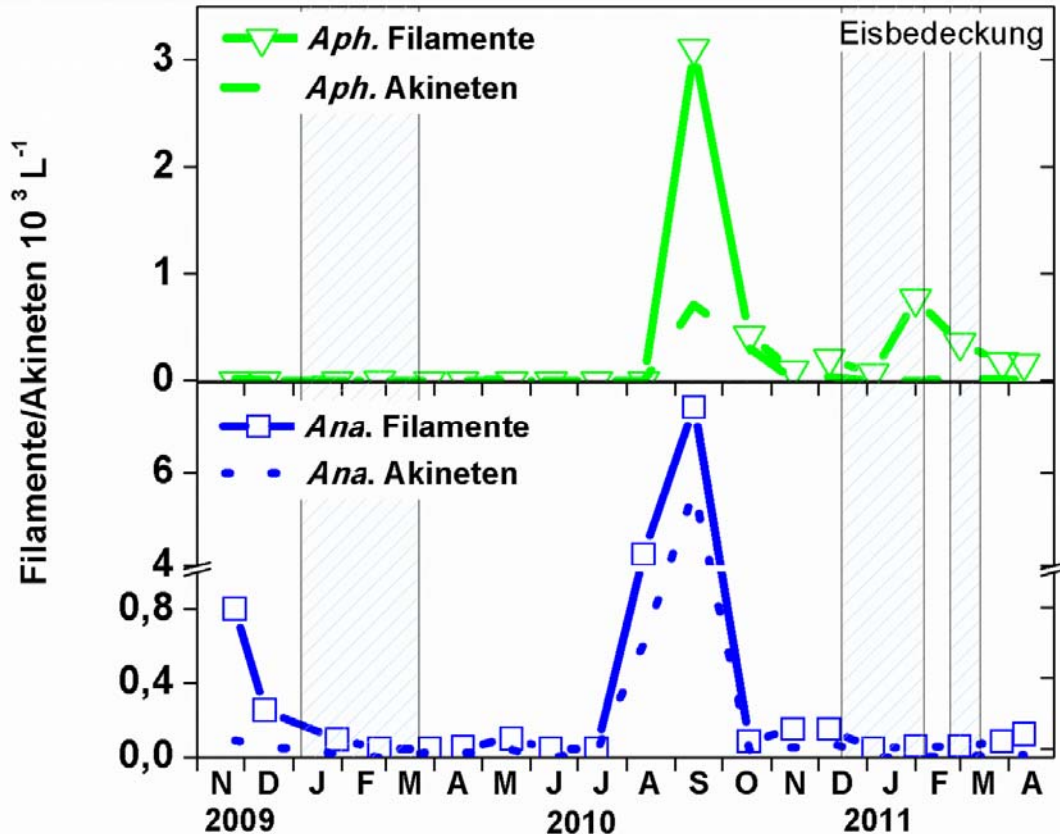


Abb. 3-19. Vorkommen von vegetativen Zellen und filamentgebundenen Akineten von *Aphanizomenon* (oben) und *Anabaena* (unten) im Pelagial des Scharmützelsees im Zeitraum November 2009 bis April 2011. Auszählung nach Utermöhl (1958).

In der Wassersäule des Stechlinsees zeigte sich eine hohe Abundanz von *Aphanizomenon flos-aquae* Filamenten (200 000 Filamente pro Liter) am Anfang des Winters 2009/2010 (Abb. 3-20). Die Anzahl sank von Januar bis März 2010 unter Eisbedeckung auf circa ein Achtel und stieg Ende März nach Eisaufbruch wieder an. Im Gegensatz zum dominanten Vorkommen von *Aphanizomenon flos-aquae* waren während der Wintermonate keine *Anabaena*-Zellen anzutreffen.

Die intensiven Studien zur Überwinterung von vegetativen Zellen von Nostocales bestätigten, dass die meisten heimischen Arten als Akineten überwintern. Dennoch wurden immer wieder einzelne Filamente gefunden (z.B. *Aphanizomenon* spp. im Scharmützelsee im Winter 2010/2011), so dass ein gewisser Beitrag von überwinternden Filamenten zum Aufbau der folgenden Population nicht ausgeschlossen werden kann. *Aphanizomenon flos-aquae* im Stechlinsee ist jedoch ein Beispiel dafür, dass Nostocales-Populationen sich ausschließlich aus überwinternden Filamenten rekrutieren können. Bei dieser Art wurde im Stechlinsee bisher keine Akinetenbildung beobachtet. Auch isolierte Stämme zeigten in Laborkultur bislang keine Akinetenbildung.

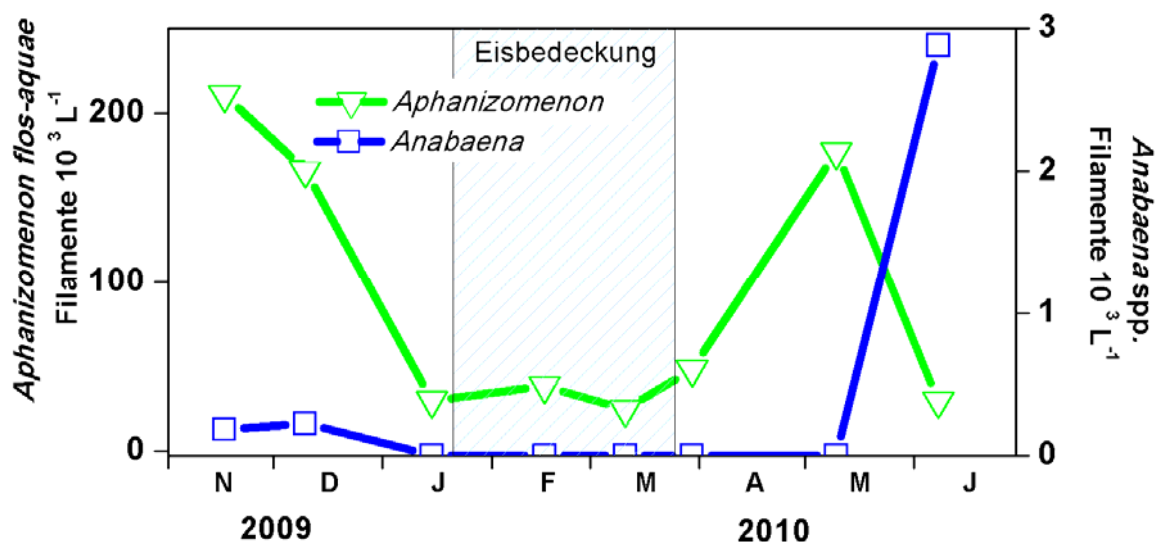


Abb. 3-20. Vorkommen von vegetativen Zellen im Pelagial des Stechlinsees im Zeitraum November 2009 bis Juni 2010. Beachte die unterschiedlichen Skalen für *Aphanizomenon flos-aquae* (links) und *Anabaena* spp. (rechts). Auszählung nach Utermöhl (1958).

3.1.5 Bestimmung des Keimungspotenzials und der Keimungstemperatur von Akineten

Das Keimungspotenzial bzw. die Keimfähigkeit von Akineten wurde an Sedimentfallenmaterial sowie Sedimentproben aus dem Scharmützelsee untersucht. An Hand von Keimungsexperimenten sollte die Frage geklärt werden, ob Akineten – ähnlich den Samen höherer Pflanzen - eine Ruhephase (Dormanz) benötigen, bevor sie wieder auskeimen können. Dazu wurde bei den Experimenten von Wohlgemuth (2011) und Wendl (2011) frisches Material aus dem Sommer mit Material, das etwa 1 Jahr bei 4 °C im Dunkeln gelagert wurde, verglichen. Die Hypothese war, dass die Akineten während der Kältelagerung ihre Reifephase durchgemacht hatten und demzufolge besser keimfähig sind als die Akineten aus den frischen Proben. Die Temperaturen an der Sedimentoberfläche der tiefsten Stelle des Scharmützelsees, woher die verwendeten Proben stammten, variieren im Jahresverlauf zwischen 4 und 7 °C, was den Kühlbedingungen also vergleichbar ist.

Im Versuch von Wohlgemuth (2011) wurden in dem 1 Jahr kühl gelagerten Sedimentfallenmaterial sowohl für die *Anabaena*- als auch für die *Aphanizomenon*-Arten keimende Akineten und Keimlinge bereits am zweiten Tag im Versuchsansatz bei 80 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gefunden (Abb. 3-21). Im frischen Material konnte Akinetenkeimung jedoch erst ab dem 3. Tag nachgewiesen werden. Bei 40 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ waren ebenfalls am 3. Tag Keimlinge sowohl im frischen als auch im gelagerten Material nachweisbar.

Beim Vergleich der Keimfähigkeit von Akineten aus frischem und 1 Jahr kühl gelagertem Oberflächensediment (Wendl 2011) deutete sich ebenfalls eine intensivere Keimung im gelagerten Material an. Keimlinge und Filamente von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. wurden bei 17 °C und 13 °C bereits am 1. Versuchstag bei 80 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ gefunden und bei 8 °C am 3. Tag, wobei frühere Proben aus Zeitgründen nicht analysiert wurden. (Abb. 3-22 bis 3-24). Ab dem dritten Untersuchungstag waren auch bei 40 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ im gelagerten und im frischen Sediment keimende Akineten und junge Filamente für beide Arten bei 17 °C und 13 °C nachweisbar, bei 8 °C und 40 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ im frischen Sediment jedoch erst ab Tag 6. Vereinzelte Keimlinge wurden bei allen drei untersuchten Temperaturen auch im Dunkeln nachgewiesen.

Die schnell einsetzende Keimung von *Anabaena*- und *Aphanizomenon*-Akineten aus Sedimentfallenmaterial und Sedimentprobe konnte Gruchot (2012) ebenfalls bestätigen. Sie wies Keimlinge ab dem 2. Tag nach Kultivierung der Proben bei 6 °C und 10 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nach.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Akinetenkeimung bei beiden untersuchten Nostocales-Gattungen aus dem Scharmützelsee bereits bei relativ niedrigen Temperaturen einsetzt, wobei die Intensität der Keimung mit steigender Lichtintensität zunimmt. Die Hypothese, dass frisch sedimentierte Akineten nicht sofort nach ihrer Bildung keimfähig sind, kann nicht eindeutig bestätigt werden. Es deutete sich jedoch eine intensivere, d.h. schneller einsetzende Keimung im kühl gelagerten Probenmaterial an. Wenn frisch sedimentierte Akineten bereits keimfähig sind, bedeutet das, dass die jeweils

aktuelle Population neben dem vegetativen Wachstum auch durch die Keimung von Akineten stabilisiert werden kann wie es bereits Kravchuk et al. (2006) vermutet haben. Nach der Keimung wird die weitere Entwicklung der jungen Filamente von den jeweiligen abiotischen Bedingungen bestimmt, d.h. bei höherem Lichtdargebot und höheren Temperaturen nehmen auch die Wachstumsraten zu.

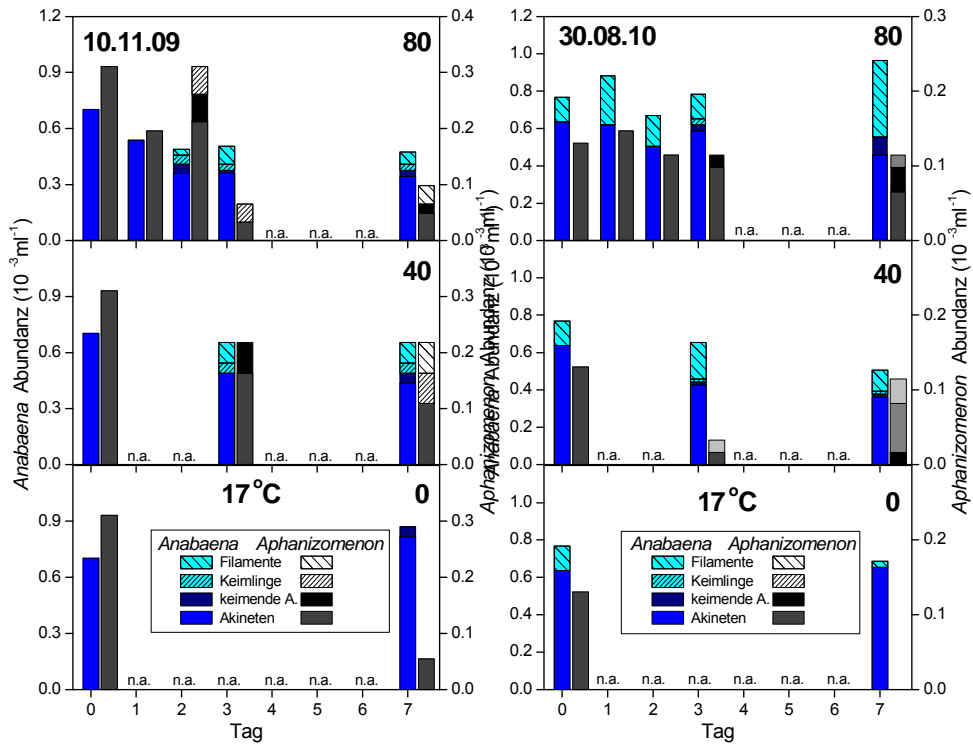


Abb. 3-21. Abundanz von Akineten, Keimlingen und Filamenten von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. aus Sedimentfallenmaterial vom Scharmützelsee vom 10.11.2009 (links) und 30.08.2010 (rechts) bei Lichtintensitäten von 80, 40 und 0 µmol Photonen m⁻² s⁻¹, 12:12 h Licht: Dunkel und bei 17 °C kultiviert. n.a. – nicht analysiert.

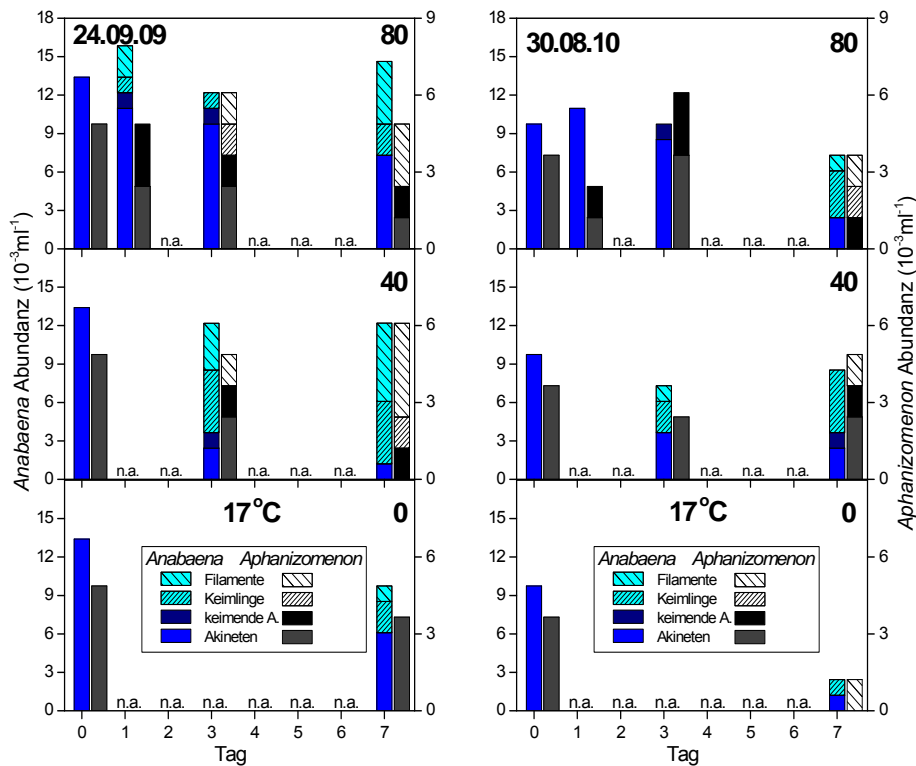


Abb. 3-22. Abundanz von Akineten, Keimlingen und Filamenten von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. aus Oberflächensediment von der tiefsten Stelle des Scharmützelsees vom 24.09.2009 (links) und 30.08.2010 (rechts) bei Lichtintensitäten von 80, 40 und 0 µmol Photonen m⁻² s⁻¹, 12:12 h Licht: Dunkel und bei 17 °C kultiviert. n.a. – nicht analysiert.

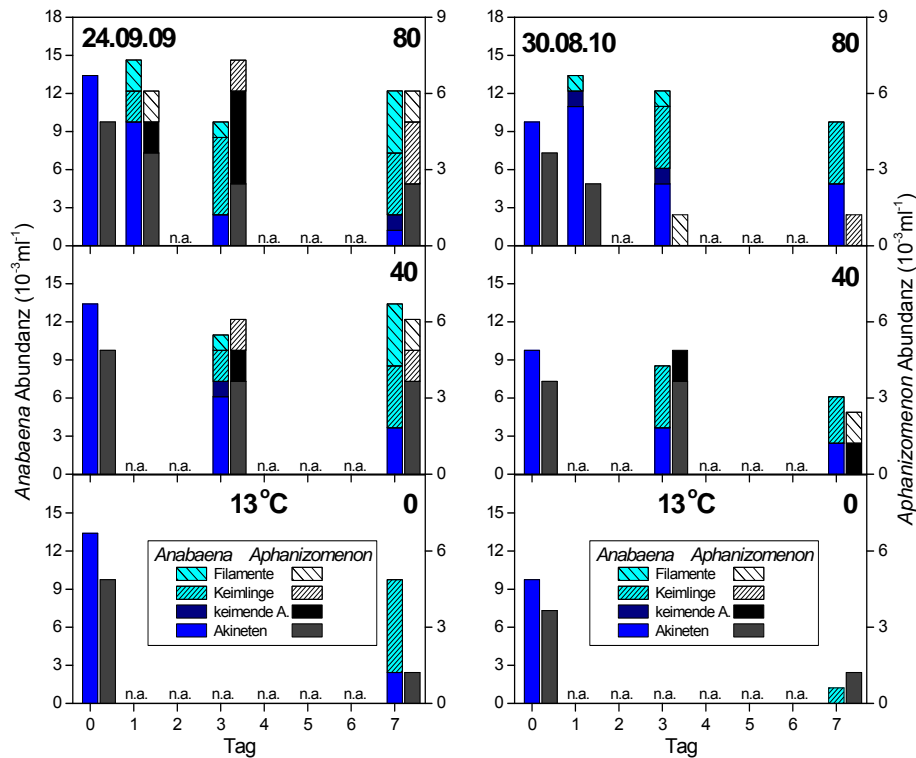


Abb. 3-23. Abundanz von Akineten, Keimlingen und Filamenten von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. aus Oberflächensediment von der tiefsten Stelle des Scharmützelsees vom 24.09.2009 (links) und 30.08.2010 (rechts) bei Lichtintensitäten von 80, 40 und 0 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12:12 h Licht: Dunkel und bei 13 °C kultiviert. n.a. – nicht analysiert.

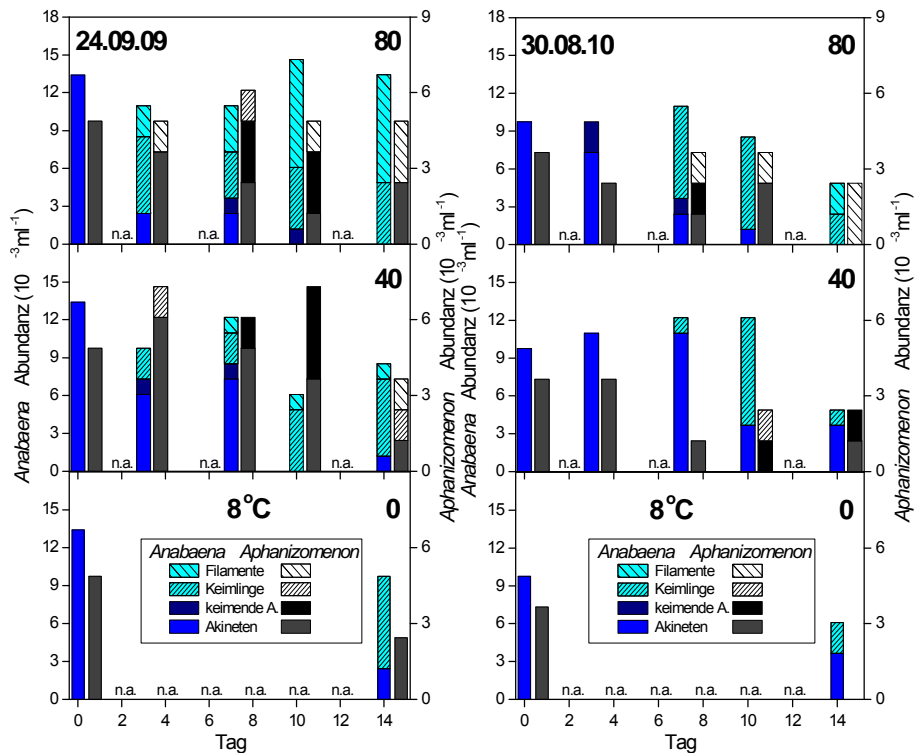


Abb. 3-24. Abundanz von Akineten, Keimlingen und Filamenten von *Anabaena* spp. und *Aphanizomenon* spp. aus Oberflächensediment von der tiefsten Stelle des Scharmützelsees vom 24.09.2009 (links) und 30.08.2010 (rechts) bei Lichtintensitäten von 80, 40 und 0 $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 12:12 h Licht: Dunkel und bei 8 °C kultiviert. n.a. – nicht analysiert.

3.2 Entwicklung eines CARD-FISH Protokolls zur Detektion und Quantifizierung von Akineten nostocaler Cyanobakterien in Sedimentproben

Bisher wurde die Anzahl von Akineten in Sedimentproben lichtmikroskopisch, meist nach der Methode von Utermöhl (1958), ermittelt. Verdünnte Sedimentproben werden dazu in Sedimentationskammern gefüllt und die Zahl der auf den Boden der Kammer sedimentierten Akineten am Umkehrmikroskop bestimmt. In Sedimenten von wenig eutrophen Gewässern ist die Abundanz von Akineten jedoch sehr gering, und sie sind zwischen den deutlich zahlreicheren anderen Sedimentpartikeln, von denen viele in Form und Größe den Akineten ähneln, nur schwer zu finden. Deshalb ist die Quantifizierung von Akineten sehr schwierig und zeitaufwendig. Besonders für oligo- und mesotrophe geschichtete Seen fehlen daher Informationen zum Akinetenpool von Nostocales.

Das übergeordnete Ziel dieser Studie war, mit Hilfe molekularbiologischer Techniken die Detektion von Akineten in Sedimentproben zu vereinfachen und ihre Quantifizierung mit weniger Zeitaufwand zu ermöglichen.

Als erfolgsversprechende Methode wurde hierfür die CARD-FISH (catalysed reporter deposition fluorescence *in situ* hybridization) selektiert. Diese Methode ermöglicht es, mit genetischen Markern (16S rRNA Sonden) Zellen ausgewählter Gattungen und teils Arten mit einem Fluoreszenzfarbstoff zu markieren. Damit sollten markierte, fluoreszierende Akineten zwischen den anderen Sedimentpartikeln besser sichtbar werden und durch Anwendung unterschiedlicher Marker sollte es ermöglicht werden, Akineten unterschiedlicher Gattungen bzw. Arten zu unterscheiden.

Die CARD-FISH-Methode wurde von Schönhuber et al. (1999) für Cyanobakterien entwickelt und wird in verschiedenen Bereichen der mikrobiologischen Forschung heutzutage vielfach angewendet. Allerdings wurde die Methode bisher nicht für Seesedimentproben angewendet und genetische Marker für die in dieser Studie relevanten Organismen existierten nur teilweise.

Die konkreten Arbeitsziele bestanden daher in folgenden Punkten:

- Modifikation des CARD-FISH-Protokolls von Schönhuber et al. (1999) zur Detektion von Akineten in Sedimentproben
- Entwicklung und Test von Sonden zur Detektion von Akineten
- Validierung der CARD-FISH-Methode zur Quantifizierung von Akineten in Sedimentproben durch:
 - a) Ermittlung der Wiederfindungsrate von Akineten (Standard addition method)
 - b) Vergleich mit Zählungen nach der Utermöhl-Methode
- Vergleich der Kosten und des Nutzen der CARD-FISH- und Utermöhl-Methode

3.2.1 Modifikation des CARD-FISH Protokolls von Schönhuber et al. (1999) zur Detektion von Akineten in Sedimentproben

Die einzelnen Arbeitsschritte und Modifikationen sind in Abbildung 3-25 dargestellt. Eine detaillierte Beschreibung aller methodischen Modifikationen ist in Ramm et al. (2012) zu finden.

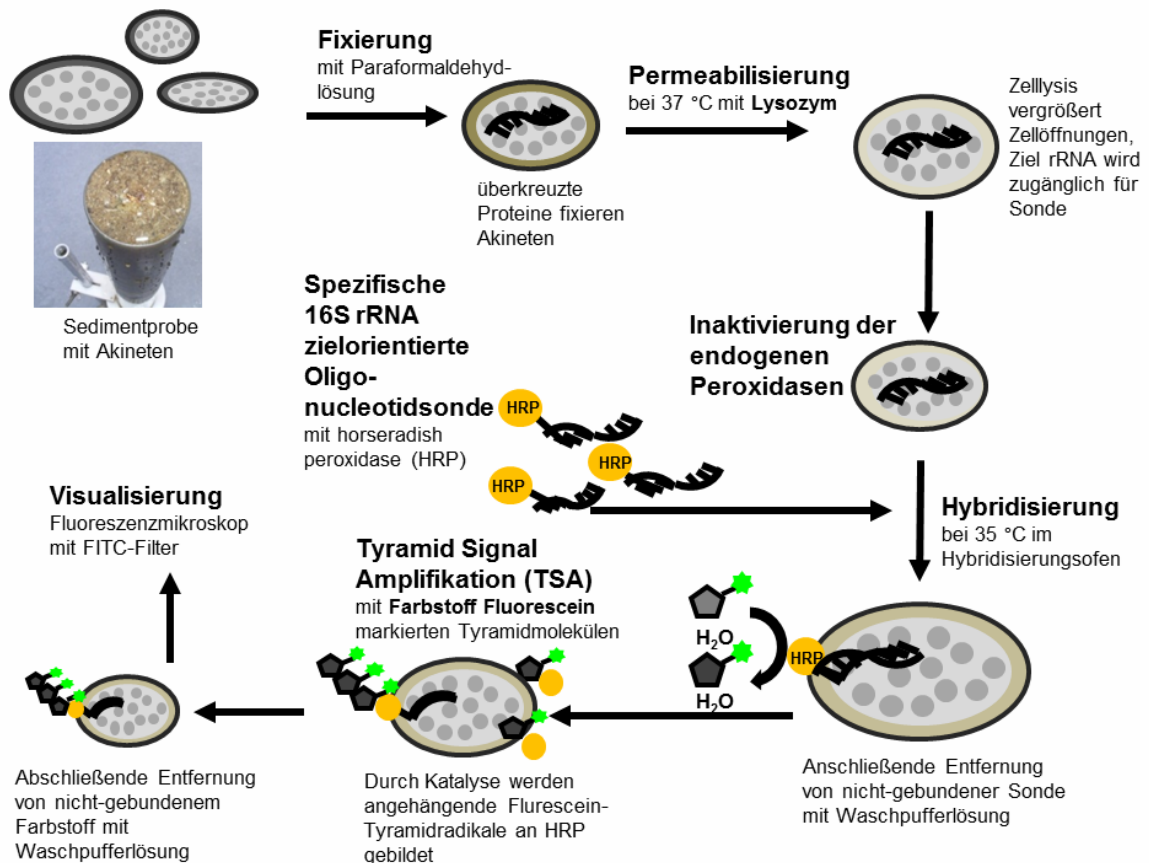


Abb. 3-25. CARD-FISH Arbeitsschritte und Modifikationen zur Detektion von Akineten (Detaillierte Beschreibung in Ramm et al. 2012).

3.2.2 Entwicklung und Test von Sonden zur Detektion von Cyanobakterien

Für die Detektion der Gruppe *Nostoc*, *Aphanizomenon* und *Anabaena*, sowie ausschließlich für die Gattung *Aphanizomenon* wurden die Sonden NOSTOC und APHA bereits von Rudi et al. (2000) beschrieben. Für die invasive Art *Cylindrospermopsis raciborskii* wurde in dieser Studie eine neue Sonde entwickelt (Tab. 3-2). Alle drei Sonden basieren auf 16S rRNA Sequenzinformationen.

Ihre Spezifität wurde an Kulturstämmen getestet. Abbildung 3-26 illustriert die Spezifität der Sonden beispielhaft anhand von drei Kulturstämmen: Akineten und Filamente von *C. raciborskii* fluoreszieren nach Behandlung mit der Sonde CYL, aber nicht nach Behandlung mit den Sonden APHA oder NOSTOC; *Aphanizomenon ovalisporum* fluoresziert nach Behandlung mit APHA, aber nicht nach Behandlung mit CYL; *Anabaena planctonica* fluoresziert nach Behandlung mit NOSTOC, aber nicht nach Behandlung mit CYL. Die Sonden CYL und NOSTOC wurden zudem an 32 weiteren Kulturstämmen

getestet (Tab. 3-3). Alle *C. raciborskii*-Stämme wurden positiv mit der CYL Sonde markiert und keiner der *C. raciborskii*-Stämme wurde durch die NOSTOC Sonde markiert. Die CYL-Sonde ist daher zur Detektion von *C. raciborskii* geeignet. Von den 22 getesteten *Anabaena*- und *Aphanizomenon*-Stämmen wurden 73 % durch die NOSTOC-Sonde markiert. Die NOSTOC-Sonde kann daher zu einer Unterschätzung bei der Quantifizierung von *Anabaena*- und *Aphanizomenon*-Akineten führen. Für *Anabaena*- und *Aphanizomenon*-Stämme wurde zudem in einigen Fällen eine falsch positive Markierung durch die CYL-Sonde festgestellt. Dies ist jedoch bei der Quantifizierung von Akineten weniger relevant, weil sich die Akineten von *C. raciborskii* in ihrer Form deutlich von den *Anabaena*- und *Aphanizomenon*-Akineten unterscheiden. Nach dem Test mit den Kulturstämmen sind die Sonden für die Quantifizierung von Akineten unterschiedlicher Nostocales geeignet.

Im Folgenden wurden die Sonden zur Markierung von Akineten in natürlichen Seesedimentproben getestet. Abbildung 3-27 illustriert beispielhaft den Markierungserfolg von Akineten in zwei Sedimentproben. Hierbei wird deutlich, dass die markierten Akineten in der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahme deutlich besser sichtbar sind im Vergleich zu den Aufnahmen derselben Akineten bei lichtmikroskopischer Ansicht.

Tab. 3-2. Sequenzen der in dieser Studie verwendeten Oligonukleotidsonden.

Sonde	Accession no. ^a	Zielorganismen	Sequenz der Sonde (5'-3')	Zielort (rRNA Position)	Referenz
NOSTOC	pB-00244	<i>Nostoc</i> , <i>Aphanizomenon</i> , <i>Anabaena</i>	GCTCAACCAR ¹ ATM ² ARA GCAGTGGAACCTA	16S (616-644)	Rudi et al. (2000)
APHA	pB-00025	<i>Aphanizomenon</i>	CCCCTAGCTTTTCGTCCC TCAGTGTCAGT	16S (748-775)	Rudi et al. (2000)
CYL	pB-02627	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	TAACAGCAGACTTTCAG TTCCACCTGC	16S (580-606)	diese Studie

^a siehe Ramm et al. (2012)

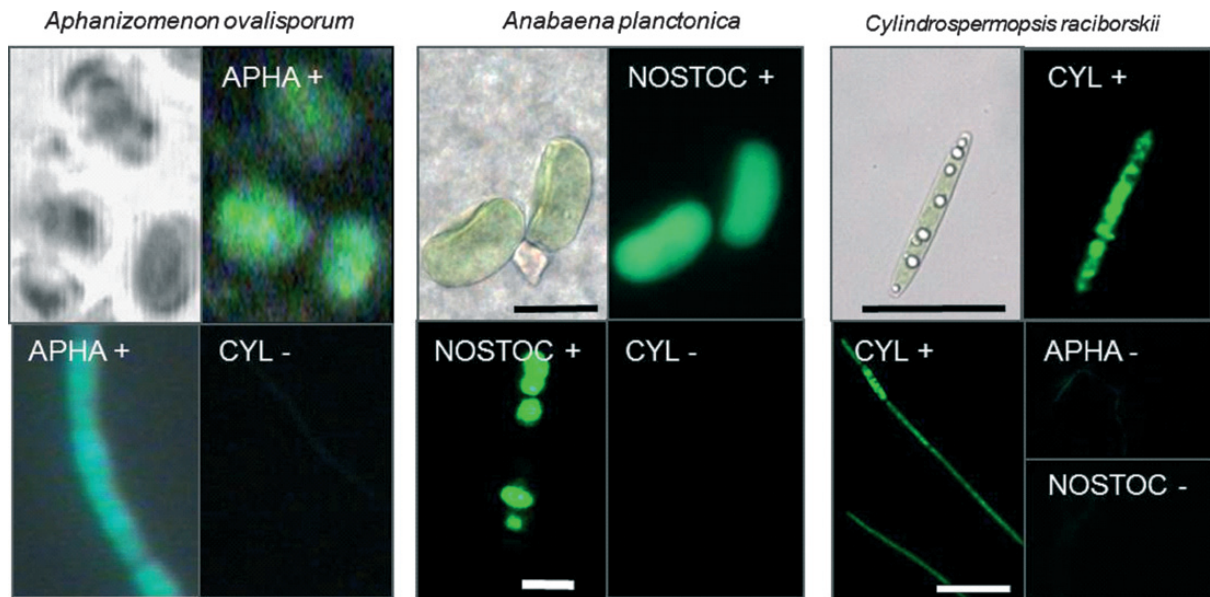


Abb. 3-26. Lichtmikroskopische und fluoreszenzmikroskopische Aufnahme von Akineten (obere Reihe) und Filamenten (untere Reihe) von drei Nostocales-Stämmen: *Aphanizomenon ovalisporum* (links), *Anabaena planctonica* (mittig) und *Cylindrospermopsis raciborskii* (rechts), die jeweils mit den Sonden APHA, NOSTOC und CYL behandelt wurden (+: positive Fluoreszenzmarkierung, -: keine Markierung).

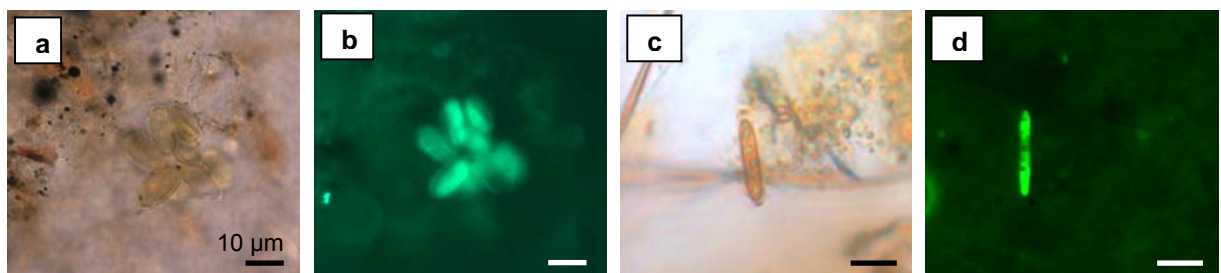


Abb. 3-27. Akineten von *Anabaena lemmermannii* (markiert mit der NOSTOC-Sonde) im Sediment aus dem Stechlinsee: a) lichtmikroskopische Aufnahme; b) fluoreszenzmikroskopische Aufnahme. Akineten von *Cylindrospermopsis raciborskii* (markiert mit der CYL-Sonde) im Sediment aus dem Scharmützelsee: c) lichtmikroskopische Aufnahme; d) fluoreszenzmikroskopische Aufnahme.

Tab. 3-3. Spezifität der Sonden NOSTOC und CYL für verschiedene Nostocales-Stämme anhand von Fluoreszenzsignalen. Zwei Arten der Ordnung der Chroococcales wurden als Kontrollen verwendet.

Taxon	Stamm	Geografische. Herkunft	NOSTOC			CYL		
			kein	schwach	stark	kein	schwach	stark
Anabaena								
<i>Anabaena bergii</i>	AB2008/4	Melangsee, GER	-	+	-	-	-	+
	AB2010/0	Lake Kinneret, ISR	-	+	-	-	-	+
	AB2010/0	Lake Kinneret, ISR	-	+	-	-	-	+
	ZIE26AB	Zierker See, GER	-	+	-	-	-	+
<i>Anabaena circinalis</i>	ST08_15	Stechlinsee, GER	-	+	-	+	-	-
<i>Anabaena crassa</i>	AB2008/5	Nehmitzsee, GER	-	+	-	-	-	+
<i>Anabaena flos-aquae</i>	AB2008/2	Scharmützelsee, GER	+	-	-	+	-	-
	AB2008/8	Nehmitzsee, GER	+	-	-	+	-	-
<i>Anabaena planctonica</i>	AB2008/2	Scharmützelsee, GER	-	-	+	+	-	-
	ST07_195	Stechlinsee, GER	-	-	+	+	-	-
<i>Anabaena spiroides</i>	AB2008/5	Langer See, GER		+	-	-	-	+
Aphanizomenon								
<i>Aphanizomenon</i>	22C4-9	Heiliger See, GER	-	-	+	-	-	+
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	ST07_115	Stechlinsee, GER	-	-	+	+	-	-
	ST07_42	Stechlinsee, GER	-	-	+	-	-	+
<i>Aphanizomenon gracile</i>	AB2008/1	Scharmützelsee, GER	+	-	-	+	-	-
	AB2008/3	Scharmützelsee, GER	+	-	-	+	-	-
	AB2008/6	Langer See, GER	+	-	-	+	-	-
	AB2008/6	Melangsee, GER	+	-	-	+	-	-
<i>Aphanizomenon issatschenkoi</i>	SP08_33	Stolpsee, GER	-	+	-	+	-	-
	SP08_34	Stolpsee, GER	-	+	-	+	-	-
<i>Aphanizomenon ovalisporum</i>	AB2010/0	Lake Kinneret, ISR	-	+	-	+	-	-
	AB2010/0	Lake Kinneret, ISR	-	+	-	+	-	-
Cylindrospermopsis								
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	24G7	Kl. Werbellinsee, GER	+	-	-	-	-	+
	AB2010/0	Lake Kinneret, ISR	+	-	-	-	-	+
	AB2010/0	Lake Kinneret, ISR	+	-	-	-	-	+
	19F6	Melangsee, GER	+	-	-	-	-	+
	26D9	Rangsdorfer See, GER	+	-	-	-	-	+
	ZIE11CR	Zierker See, GER	+	-	-	-	-	+
Anabaenopsis								
<i>Anabaenopsis elenkinii</i>	AB2008/6	Langer See, GER	+	-	-	-	-	+
Andere								
<i>Chroococcus sp.</i>	AB2008/1	Scharmützelsee, GER	+	-	-	-	+	-
<i>Microcystis aeruginosa</i>	49_018	nicht bekannt	+	-	-	-	+	-
<i>Microcystis aeruginosa</i>	14_524	nicht bekannt	+	-	-	-	+	-

3.2.3 Validierung der CARD-FISH Methode zur Quantifizierung von Akineten in Sedimentproben

a) Ermittlung der Wiederfindungsrate von Akineten (Standard addition method)

Hierfür wurden Akineten von einem *Aphanizomenon-ovalisporum*-Kulturstamm geerntet. Definierte Mengen der geernteten Akineten wurden zu Aliquoten einer Sedimentprobe aus dem Lake Kinneret hinzugegeben. Die Sedimentproben wurden danach mit der APHA-Sonde behandelt und die Akineten fluoreszenzmikroskopisch ausgezählt. Die Zählergebnisse (Abb. 3-28) zeigen eine sehr gute Wiederfindungsrate, das heißt die Anzahl der in den Sedimentproben ermittelten Akineten entspricht der Menge der hinzugegebenen Akineten.

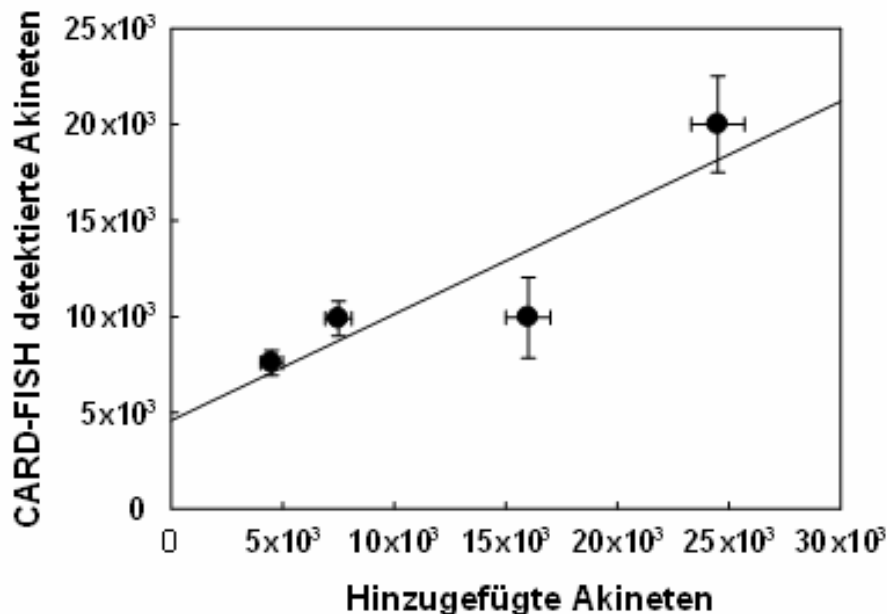


Abb. 3-28. Ermittelte Anzahl von *Aphanizomenon-ovalisporum*-Akineten in Aliquoten einer Sedimentprobe aus dem Lake Kinneret. Definierte Mengen von Akineten, die aus einem Kulturstamm isoliert wurden, wurden der Probe hinzugefügt. Die Akineten wurden mit der APHA-Sonde markiert.

b) Vergleichszählungen mit der CARD-FISH- und der Utermöhl-Methode

Zum Vergleich des qualitativen und quantitativen Zählerfolges wurden die Akineten aus je einer Sedimentprobe des Lake Kinneret, des Stechlinsees und des Scharmützelsees mit beiden Methoden bestimmt.

Mit beiden Methoden wurden Akinetenzahlen in der gleichen Größenordnung ermittelt (Abb. 3-29). Mit der Utermöhl-Methode wurden etwas höhere Werte für die Akinetenzahl aus der Probe des Lake Kinneret gefunden. Mit der CARD-FISH-Methode konnten dafür die Akineten unterschiedlicher Arten in der Probe aus dem Scharmützelsee besser aufgelöst werden. Beide Methoden sind daher für die Ermittlung von Akineten in Sedimentproben geeignet.

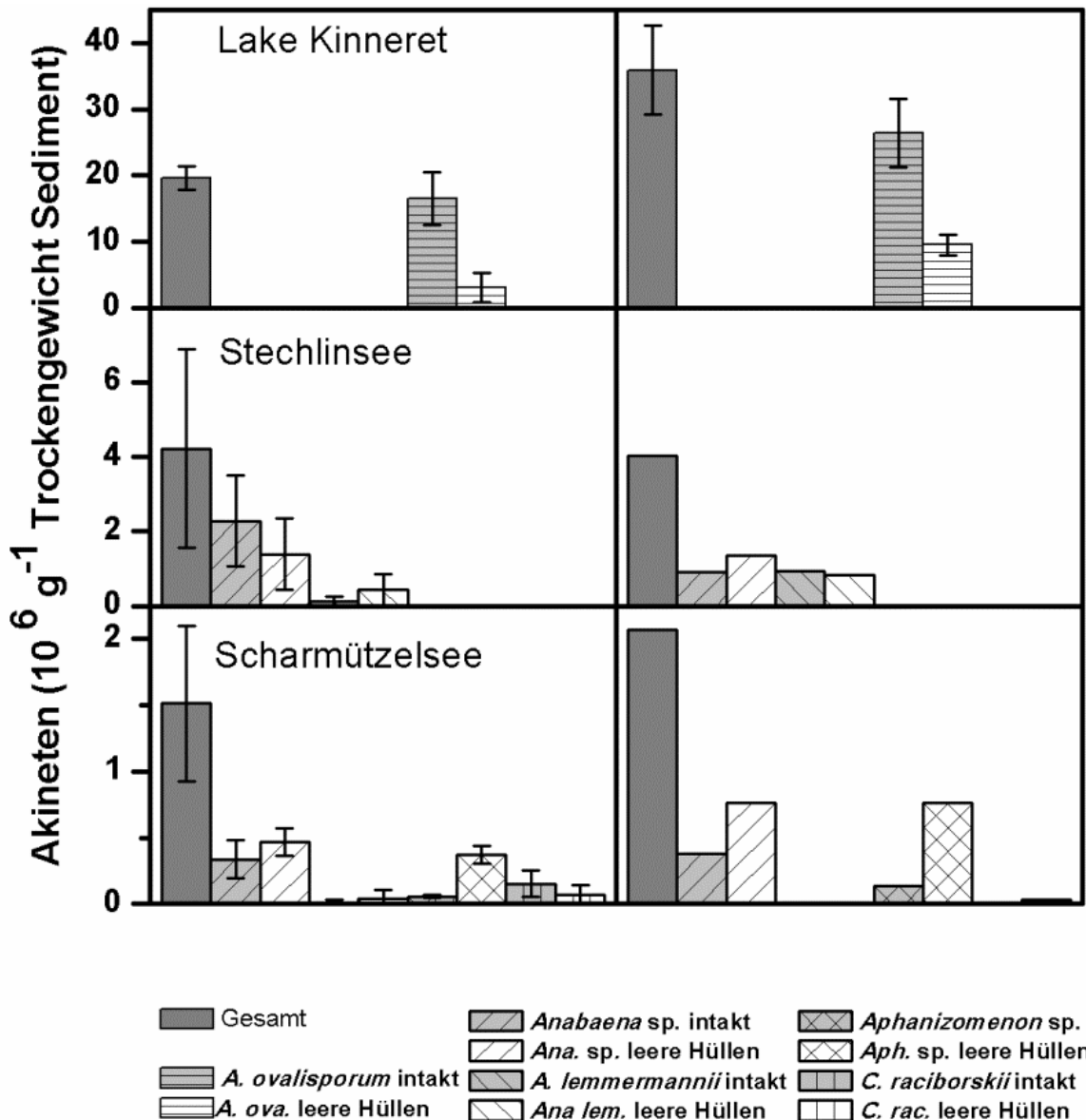


Abb. 3-29. Vergleich der Anzahl von Akineten, die nach der CARD-FISH Methode (links) und der Utermöhl-Methode (rechts) für unterschiedliche Nostocales in Sedimentproben aus den drei Untersuchungsgewässern ermittelt wurden.

3.2.4 Vergleich der Kosten und des Nutzen der CARD-FISH- und Utermöhl-Methode

In Tabelle 3-4 sind die einzelnen Arbeitsschritte der beiden Methoden und eine Abschätzung der benötigten Arbeitszeit und Kosten dargestellt.

Mit der CARD-FISH-Methode können in der gleichen Zeit doppelt so viel Proben bearbeitet werden wie mit der Utermöhl-Methode. Dies ist in erster Linie auf die gute Sichtbarkeit der fluoreszierenden Akineten zurückzuführen, wodurch sich die benötigte Zeit für die mikroskopische Auszählung halbiert. Allerdings fallen bei der CARD-FISH-Methode laufende Kosten für Materialien an, während dies bei der Utermöhl-Methode nicht der Fall ist. Berücksichtigt man jedoch zusätzlich die Personalkosten für die Zählung, ist die Utermöhl-Methode doppelt so teuer.

Tab. 3-4. Vergleichender Zeit- und Kostenaufwand der CARD-FISH- und Utermöhl-Methodik zur Visualisierung und Auszählung von Nostocales-Akineten in Seesedimentproben.

CARD-FISH-Protokoll		
Schritte	(für Ansatz von 24 Proben)	
	Bearbeitungszeit	Reaktionszeit
i) Fixierung	4 h	2 h
ii) Permeabilisierung	1 h	1.5 h
iii) Hybridisierung	3.5 h	2.5 h
iv) Tyramid-Signalamplifikation	1 h	25 min
v) Mikroskopische Auszählung (für 24 Filter)	36 h	
Gesamtarbeitszeit (für 24 Proben)	45.5 h	
(pro Probe)	~ 2 h	
Kosten	~10 € für 24 Proben oder 0.42 € pro Probe Geringe Kosten für Arbeitskraft durch reduzierte Beobachtungszeit	
Utermöhl (1958)		
Schritte	(pro Probe)	
	Bearbeitungszeit	Sedimentationszeit
Probenvorbereitung	5 min	3 h oder länger abhängig vom Probenvolumen
Mikroskopische Auszählung (für eine Sedimentationskammer)	4 h	
Gesamtarbeitszeit (pro Probe)	~ 4 h	
Kosten	Geringe Kosten im Verbrauch aber hohe Personalkosten	

Literatur

Chorus, I., Bartram, J., 1999: Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring, and management. Taylor & Francis.

Christen, T., Rücker, J., Nixdorf, B., 2007: Zur Repräsentativität von Probenahmen und Bewertung in morphologisch komplexen Gewässern - Fallbeispiel Scharmützelsee. Deutsche Gesellschaft für Limnologie, Tagungsbericht 2006: 308-312.

Codd, G. A., 2000: Cyanobacterial toxins, the perception of water quality and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological Engineering* 16: 51-60.

DEV (Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung), 1976-2009: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Beuth Verlag GmbH.

Downing, J. A., Watson, S. B., McCauley, E., 2001: Predicting cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58: 1905-1908.

Gorzó, Gy., 1987: Fizikai és kémiai faktorok hatása a Balatonban előforduló heterocisztás cianobaktériumok spóráinak csírázására [The influence of physical and chemical factors on the germination of spores of heterocystic cyanobacteria in Lake Balaton *Hidrológiai Közlöny* 67: 127-133 (in Hungarian with English summary).

Gruchot, G., 2012: Bestimmung des Überwinterungs- und Keimungspotenzials von nostocalen Cyanobakterien im Scharmützelsee, Bachelor-Arbeit, BTU Cottbus.

Grüneberg, B., Rücker, J., Nixdorf, B., Behrendt, H., 2011: Dilemma of Non-Steady State in Lakes - Development and Predictability of In-Lake P Concentration in Dimictic Lake Scharmützelsee (Germany) after Abrupt Load Reduction. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 96 (5): 599-621.

Hense, I., Beckmann, A., 2006: Towards a model of cyanobacteria life cycle - effects of growing and resting stages on bloom formation of N₂-fixing species. *Ecol. Model.* 195: 205-218.

Hilt, S., Henschke, I., Rücker, J., Nixdorf, B., 2010: Can submerged macrophytes influence turbidity and trophic state in deep lakes? Suggestions from a case study *Journal of Environmental Quality* 29: 725-733.

Jöhnk, K. D., Brüggemann, R., Rücker, J., Luther, B., Simon, U., Nixdorf, B., Wiedner, C., 2011: Modelling life cycle and population dynamics of Nostocales (cyanobacteria). *Environ. Modell. Softw.* 26: 669-677.

Kaplan-Levy, R. N., Hadas, O., Summers, M. L., Rücker, J., Sukenik, A., 2010: Akinetes: Dormant cells of cyanobacteria. Dormancy and Resistance in Harsh Environments. *Topics in Current Genetics*, Vol. 21. (Lubzens E, Cerda J & Clark M eds), pp. 5–28, Springer-Verlag, Heidelberg.

Karlsson-Elfgren, I., Brunberg, A.-K., 2004: The importance of shallow sediments in the recruitment of Anabaena and Aphanizomenon (Cyanophyceae). *J. Phycol.* 40: 831-836.

- Kim, B. H., Lee, W. S., Kim, Y. O., Lee, H. O., Han, M. S., 2005: Relationship between akinete germination and vegetative population of *Anabaena flos-aquae* (Nostocales, Cyanobacteria) in Seokchon reservoir (Seoul, Korea). *Arch. Hydrobiol.* 163: 49-64.
- Kravchuk, E. S., Ivanova, E. A., Gladyshev, M. I., 2006: Seasonal dynamics of akinetes of *Anabaena flos-aquae* in bottom sediments and water column of small Siberian reservoir. *Aquat. Ecol.* 40: 325-336.
- Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA), 1999: Gewässerbewertung - stehende Gewässer. Vorläufige Richtlinie für eine Erstbewertung von natürlich entstandenen Seen nach trophischen Kriterien. Kulturbuch-Verlag, Berlin.
- Mehnert, G., Leunert, F., Cirés, S., Jöhnk, K., Rücker, J., Nixdorf, B., Wiedner, C., 2010: Competitiveness of invasive and native cyanobacteria from temperate freshwaters under various light and temperature conditions. *J. Plankton Res.* 32: 1009-1021.
- Nicklisch, A., 1992: The interaction of irradiance and temperature on the growth rate of *Limnithrix redekei* and its mathematical description. *Arch. Hydrobiol.* 91 Suppl. Algological Studies 63: 1-18.
- Nixdorf, B., Mischke, U., Rücker, J., 2003: Phytoplankton assemblages and steady state in deep and shallow eutrophic lakes - an approach to differentiate the habitat properties of Oscillatoriales. *Hydrobiologia* 502: 111-121.
- Nixdorf, B., Rücker, J., Deneke, R., Grüneberg, B., 2009: Gewässer im Klimastress? Eutrophierungsgefahr in Seen am Beispiel der Scharmützelseeregion. *Forum der Forschung* 22: 99-106, Eigenverlag der BTU Cottbus.
- Padisák, J., 2003: Estimation of minimum sedimentary inoculum (akinete) pool of *Cylindrospermopsis raciborskii*: a morphology and life-cycle based method. *Hydrobiologia* 502: 389-394.
- Pearl, H. W., Huisman, J., 2009: Climate change: A catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports* 1: 27-37.
- Ptácnik, R., Lepistö, L., Willén, E., Brettum, P., Andersen, T., Rekolainen, S., Lyche Solheim, A., Carvalho, L., 2008: Quantitative responses of lake phytoplankton to eutrophication in Northern Europe. *Aquat. Ecol.* 42: 227-236.
- Ramm, J., Lupo, A., Hadas, O., Ballot, A., Rücker, J., Wiedner, C., Sukenik, A., 2012: A CARD-FISH protocol for the identification and enumeration of cyanobacterial akinetes in lake sediments. *FEMS Microbiology Ecology* 82: 23-36.
- Rudi, K., Skulberg, O. M., Skulberg, R., Jakobsen, K. S., 2000: Application of sequence-specific labeled 16S rRNA gene oligonucleotide probes for genetic profiling of cyanobacterial abundance and diversity by array hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 4004-4011.
- Rücker, J., Henschke, I., 2004: Monitoring der Eisbedeckung im Scharmützelseegebiet und Bestimmung ihres Einflusses auf das Unterwasserlichtangebot. In: Rücker, J.,

Nixdorf, B. (Hrsg.) Gewässerreport Nr. 8. BTUC-AR 3/2004 - Eigenverlag der BTU Cottbus: 43-52.

Rücker, J., Tingwey, E. I., Wiedner, C., Anu, C. M., Nixdorf, B., 2009: Impact of the inoculum size on the population of Nostocales cyanobacteria in a temperate lake. J. Plankton Res. 31: 1151-1159.

Schönhuber, W., Zarda, B., Eix, S., Rippka, R., Herdman, M., Ludwig, W., Amann, R., 1999: In Situ identification of cyanobacteria with horseradish peroxidase-labeled, rRNA targeted oligonucleotide probes. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1259-1267.

Stüken A., Rücker, J., Endrulat, T., Preussel, K., Hemm, M., Nixdorf, B., Karsten, U., Wiedner, C., 2006: Distribution of three alien cyanobacterial species (Nostocales) in northeast Germany: *Cylindrospermopsis raciborskii*, *Anabaena bergii* and *Aphanizomenon aphanizomenoides*. Phycologia 45: 696-703.

Suikkanen, S., Kaartokallio, H., Hällfors, S., Huttunen, M., Laamanen, M., 2010: Life cycle strategies of bloom-forming, filamentous cyanobacteria in the Baltic Sea. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography 57: 199-209.

Sutherland, J. M., Stewart, W. D. P., Herdman, M., 1985: Akinetes of the cyanobacterium *Nostoc* PCC-7524: morphological changes during synchronous germination. Arch. Microbiol. 142: 269-74.

Utermöhl, H., 1958: Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. Mitteilungen der Internationalen Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie 9: 1-38.

Van de Weyer, K., Pätzolt, J., Tigges, P., Raape, C., Oldorff, S., 2009: Flächenbilanzierungen submerser Pflanzenbestände - dargestellt am Beispiel des Großen Stechlinsees (Brandenburg) im Zeitraum von 1962-2008. Naturschutz und Landschaftspflege in Brandenburg 18 (4): 137-142.

Vollenweider, R. A., Kerekes, J., 1980: OECD Cooperative Programme for Monitoring of Inland Waters (Eutrophication Control). Synthesis Report, Paris.

Wagner, C., Adrian, R., 2009: Cyanobacteria dominance - quantifying the effects of climate change. Limnol. Oceanogr. 54: 2460-2468.

Wendl, A., 2011: Einfluss von Licht und Temperatur auf die Keimung und das Wachstum von Nostocales des Scharmützel-sees - Ermittlung der Keimfähigkeit von Akineten aus Oberflächensediment (Keimungsversuche mit natürlichen Sedimentproben), Bachelor-Arbeit, BTU Cottbus.

Wiedner, C., Rücker, J., Brüggemann, R., Nixdorf, B., 2007: Climate change affects timing and size of populations of an invasive cyanobacterium in temperate regions. Oecologia 152: 473-484.

Wohlgemuth, F., 2011: Sedimentation und Keimungspotenzial von Nostocales-Akineten (Cyanobakterien) im Scharmützelsee, Bachelor-Arbeit, BTU Cottbus.

Gesamtliste der aus dem Projekt hervorgegangenen Veröffentlichungen

Publikationen

Ballot, A., **Ramm, J.**, Rundberget, T., Kaplan-Levy, R. N., Hadas, O., Sukenik, A. & **Wiedner, C.** (2011): Occurrence of non-cylindrospermopsin-producing *Aphanizomenon ovalisporum* and *Anabaena bergii* strains in Lake Kinneret (Israel). J. Plankton Res. 33: 1736-1746.

Grüneberg, B., **Rücker, J.**, **Nixdorf, B.**, Behrendt, H. 2011: Dilemma of Non-Steady State in Lakes – Development and Predictability of In-Lake P Concentration in Dimictic Lake Scharmützelsee (Germany) after Abrupt Load Reduction. Internat. Rev. Hydrobiol. 96 (5): 599–621.

Kaplan-Levy R.N., Hadas O., Summers M.L., **Rücker, J.** & Sukenik A. (2010): Akinetes: Dormant cells of cyanobacteria. In: Lubzens, E., Cerdà, J & Clark, M. (eds.): Dormancy and Resistance in Harsh Environments. Topics in Current Genetics, Vol. 21. Springer-Verlag. p. 5-28. ISBN 978-3-642-12421-1.

Ramm, J., Lupo, A., Hadas, O., Ballot, A., **Rücker, J.**, **Wiedner, C.** & Sukenik A. (2012): A CARD-FISH protocol for the identification and enumeration of cyanobacterial akinetes in lake sediments. FEMS Microbiol Ecol 82: 23-36.

Vorträge

Ramm, J. (2009). Molecular assessment of Nostocales and their temporal and spatial distribution in deep lakes. Research seminar of PhD-programme Environmental and Resource Management (ERM), April 2009, BTU Cottbus.

Ramm, J., **Gonsiorczyk, T.**, Lupo, A., Sukenik, A. & **Rücker, J.** (2009) Microscopical quantification of Nostocales species in lake sediment. Work stay at Kinneret Limnological Laboratory (KLL), April 2009, Migdal, Israel.

Ramm, J., Lupo, A., **Rücker, J.**, Sukenik, A. & **Wiedner, C.** (2010): Application of CARD-FISH technique for identification and enumeration of cyanobacteria akinetes in lake sediments. Tagung der Sektion Phykologie der Deutschen Botanischen Gesellschaft 2010, 14.03.-17.03.2010, Insel Reichenau.

Ramm, J., Lupo, A., **Rücker, J.**, Sukenik, A. & **Wiedner, C.** (2010): Identification and enumeration of cyanobacteria akinetes in lake sediments. Project meeting at Kinneret Limnological Laboratory (KLL), April 2010, Migdal, Israel.

Ramm, J., Lupo, A., Ballot, A., **Rücker, J.**, Sukenik, A. & **Wiedner, C.** (2010): Application of CARD-FISH technique for identification and enumeration of cyanobacteria akinetes in lake sediments. SIL Conference August 2010, Cape Town, South Africa.

Ramm, J., Lupo, A., Sukenik, A., Hadas, O., Ballot, A., **Rücker, J.**, **Wiedner, C.** (2010): Identification and enumeration of akinetes by CARD-FISH technique. German – Israeli Cooperation in water technology research, 11th Status Seminar October 11th – 13th, 2010, Darmstadt.

Ramm, J., **Rücker, J.**, **Gonsiorczyk, T.**, **Wiedner, C.**, Knie, M., **Nixdorf, B.** (2012): Überwinterungsstrategien nostocaler Cyanobakterien. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Limnologie 2012, Koblenz.

Rücker, J. & **Nixdorf, B.** (2008): Response of cyanobacterial community to nutrient reduction in a deep stratified lake. Oral presentation at the 15th Workshop of the International Association of Plankton Research (IAP), November 2008, Ramot, Israel,

Rücker, J. (2008): Live cycles of Nostocales – An intrinsic dynamic component essential to predict cyanobacterial blooms in lakes and reservoirs. German – Israeli Cooperation in water technology research, 10th Status Seminar December 1st – 3rd, 2008, Haifa, Israel.

Rücker, J. (2009): Impacts of climate and trophic change on the development of cyanobacteria and cyanotoxins in our lakes. Oral Presentation at the Congress Wasser Berlin 2009 “Drinking Water Production and Resource Protection” 02.04.09.

Rücker, J., Tworeck, A. & **Nixdorf, B.** (2009): Wird der Scharmützelsee 2015 den „guten ökologischen Zustand“ nach WRRL erreichen? - Betrachtungen zur Langzeitentwicklung des Phytoplanktons. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Limnologie, September/Oktober 2009, Oldenburg.

Rücker, J. (2010): Life cycle studies on *Cylindrospermopsis raciborskii*. Project meeting, 25.04.2010. Kinneret Limnological Laboratory (KLL), Migdal, Israel.

Rücker, J., Grüneberg, B., **Nixdorf, B.** (2012): Better but not good – recovery of Lake Scharmützelsee after external load reduction. International Limnological Conference Natural and Anthropogenic Transformations of Lakes, Sept. 19-21 2012, Łagow, Polen.

Wiedner, C. (2009): Cyanobakterien im Stechlinsee – normal oder bedenklich? Naturschutzzentrum Ökowerk Berlin. Thementag: Der gläserne See – Großer Stechlinsee und Teufelssee im Vergleich, 4. Oktober 2009.

Wiedner, C. (2010): Cyanobakterien und Klimawandel. KLIWAS Workshop: Einfluss des Klimawandels auf Stoffhaushalt und Planktodynamik von Fließgewässern. Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz, 20. Mai 2010.

Wiedner, C., Wagner, C., **Rücker, J.**, Jöhnk, K., **Nixdorf, B.** (2010): Impact of global warming and trophic status on the predominance of different cyanobacteria taxa in different types of lakes in northern Germany. Colloquium of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, “Predictability of plankton communities in an unpredictable world”, Amsterdam the Netherlands April 7th – April 9th 2010.

Wiedner, C., Wagner, C., Mehnert, G., **Rücker, J.**, Jöhnk, K. and **Nixdorf, B.** (2011): Impact of global warming and trophic status on the predominance of different

cyanobacteria taxa in different types of lakes in northern Germany. ASLO Aquatic Sciences Meeting, 13-18 February 2011, San Juan, Puerto Rico, USA.

Wiedner, C.; Rücker, J., Ramm, J.; Sukkenik, A.; Hadas, O.; Gal, G. (2010): Life cycle of Nostocales – An intrinsic dynamic component essential to predict cyanobacterial blooms in lakes and reservoirs. German – Israeli Cooperation in water technology research, 11th Status Seminar October 11th – 13th, 2010, Darmstadt.

Poster

Ramm, J., Rücker, J., Krumm, J., **Wiedner, C. & Nixdorf, B.** (2008): Assessing temporal and spatial heterogeneity of cyanobacteria in lake Scharmützel. Poster für German – Israeli Cooperation in water technology research, 10th Status Seminar December 1st – 3rd, 2008, Haifa/Israel.

Ramm, J., Lupo, A., **Rücker, J.,** Sukenik, A., **Wiedner, C. & Nixdorf, B.** (2009): Quantification of Nostocales akinetes in lake sediments by Catalyzed Reporter Deposition Fluorescence In Situ Hybridization (CARD-FISH). Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Limnologie 2009, Oldenburg.

Rücker, J., Tingwey, E.I., Anu, C.M., Launhardt, A., **Wiedner, C. & Nixdorf, B.** (2008): Invaded versus native Nostocales - Dynamics of akinetes of *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Aphanizomenon* species in the sediment and the water column of a shallow lake. Poster auf dem Workshop „Sleeping Beauty – Dormancy and Resistance in Harsh Environments

Abschlussarbeiten

Wendl, Anna: Einfluss von Licht und Temperatur auf die Keimung und das Wachstum von Nostocales des Scharmützelsees – Ermittlung der Keimfähigkeit von Akineten aus Oberflächensediment (Keimungsversuche mit natürlichen Sedimentproben), Bachelor Thesis 2011, BTU Cottbus. Betreuer: **J. Ramm, J. Rücker.**

Wohlgemuth, Friederike: Sedimentation und Keimungspotenzial von Nostocales-Akineten (Cyanobakterien) im Scharmützelsee, Bachelor Thesis 2011, BTU Cottbus. Betreuer: **J. Ramm, J. Rücker.**

Gruchot, Gina: Bestimmung des Überwinterungs- und Keimungspotenzials von nostocalen Cyanobakterien im Scharmützelsee, Bachelor Thesis 2012, BTU Cottbus. Betreuer: **J. Rücker.**