

**Untersuchung zur  
Futterqualität des Sestons  
im Bodensee für *Daphnia galeata***

Diplomarbeit  
vorgelegt der  
Fakultät für Biologie, Universität Konstanz

von Alexander Wacker

Konstanz 1998

1 Einleitung .....	5
2 Material und Methoden.....	12
2.1 Untersuchungsgebiet.....	12
2.2 Kultivierung der Futteralgen .....	13
2.2.1 Verwendete Organismen .....	13
2.2.2 Kulturmedien .....	13
2.2.3 Kulturbedingungen.....	15
2.2.4 Präparation des Algenfutters .....	16
2.3 Kultivierung von <i>Daphnia galeata</i> .....	17
2.4 Wachstumsexperimente.....	18
2.4.1 Einfluß der Vorhälterung und Versuchsdauer .....	19
2.4.2 Wachstumsversuche mit Kulturalgen.....	20
2.4.3 Wachstumsversuche mit natürlichem Seston.....	20
2.4.3.1 Berechnung der Futterqualität .....	21
2.4.3.2 Wachstumsversuche mit konzentriertem und verdünntem Seston .....	23
2.4.3.3 Supplementierungsversuche.....	23
2.4.3.4 Gesamtversuch.....	24
2.5 Analysen.....	24
2.5.1 Bestimmung des partikulären organischen Kohlenstoffs und Stickstoffs .....	24
2.5.2 Bestimmung des partikulären Phosphors.....	25
2.5.3 Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung .....	27
2.5.3.1 Filtration .....	27
2.5.3.2 Extraktion und Umesterung.....	27
2.5.3.3 Gaschromatographie.....	28
2.6 Statistik .....	31

---

2.7 Abkürzungen.....	31
3 Ergebnisse.....	33
3.1 Algenzusammensetzung.....	33
3.1.1 Elemente .....	33
3.1.2 Biochemie .....	34
3.2 Einfluß der Vorhälterung und Versuchsdauer .....	36
3.3 Wachstumsexperimente mit Rein- und Mischfutter .....	37
3.4 Abhängigkeit des Wachstums von <i>D. galeata</i> bei Verfütterung definierten Standardfutters .....	38
3.5 Wachstum bei Verfütterung von <i>S. hantzschii</i> und <i>S. elongatus</i> .....	41
3.6 Wachstumsversuche mit natürlichem Seston .....	43
3.6.1 Saisonale Entwicklung.....	43
3.6.1.1 Sichttiefe und Wassertemperatur.....	43
3.6.1.2 Saisonaler Verlauf partikulärer Meßgrößen im Seston.....	44
3.6.1.3 Wachstumsraten der Versuchstiere.....	46
3.6.1.4 Futterqualität .....	46
3.6.1.5 C : P- und $\infty$ -Linolensäure : P - Verhältnisse .....	48
3.6.2 Korrelative Betrachtung.....	49
3.6.2.1 Lineare Abhängigkeit oder Sättigungsverhalten ? .....	49
3.6.2.2 Ressourcennutzung nach dem Monodmodell.....	50
3.6.2.3 Gelegegröße .....	57
3.6.2.4 Konzentriertes und verdünntes Seston.....	60
3.6.2.5 Interkorrelationen .....	63
3.6.2.6 Futterqualität als abhängige Größe.....	65
3.6.2.7 Auswirkungen von Konzentrierung und Verdünnung des Sestons auf die Futterqualität.....	68

---

3.6.2.8 Übertragbarkeit der korrelativen Ergebnisse des Sestons auf die Kulturalgen .....	69
3.6.3 Supplementierungen .....	71
3.6.4 Futterqualität im Untersee-Gnadensee.....	75
4 Diskussion .....	79
4.1 Futterqualität.....	79
4.2 Kausalität.....	85
4.3 Einfluß des Metabolismus auf die Futterqualität.....	87
4.4 Fettsäuren: essentiell oder limitierend?.....	90
4.5 Wachstum mit Kulturalgen .....	91
4.6 Saisonale Sukzession der Futterqualität .....	92
4.7 Bedeutung einer Limitation planktischer Organismen durch mehrfach ungesättigte Fettsäuren.....	93
5 Zusammenfassung .....	96
6 Literaturverzeichnis.....	99

## 1 Einleitung

Zur Aufrechterhaltung ihrer Lebensfunktionen müssen Organismen ihrer Umwelt Energie und Substanzen entziehen. Dabei werden Stoffe unter Verwendung von Energie auch zum Aufbau von Körpermasse anabolisiert. Autotrophe Organismen nehmen biogene Elemente in Form von gelösten Gasen und Ionen auf; als Energieträger dienen photosynthetisch aktive Strahlung oder exergonische chemische Reaktionen. Heterotrophe Organismen nehmen benötigte Elemente und Moleküle in Form von organischen Substanzen auf.

Der Konsum dieser Ressourcen führt zu einer Verminderung des Ressourcenvorkommens in der Umwelt. Wird die Konzentration auch nur einer einzelnen essentiellen Ressource zu gering, so wird das Wachstum der Organismen, die von dieser Ressource abhängig sind, begrenzt. Die Rate mit der Organismen ihre Ressourcen konsumieren, hängt sowohl von der Verfügbarkeit der Ressourcen als auch von den Fähigkeiten der Organismen ab, die Ressourcen aufzunehmen und zu verwerten. Eine Steigerung des Nahrungsangebots wird bei maximaler Nahrungsaufnahme und -verwertung zu keiner Steigerung der Konsumrate führen; die Konsumrate erreicht die Sättigungsgrenze (ILL, incipient limiting level). Bei Ressourcenkonzentrationen unterhalb dieser Sättigungsgrenze sind die Organismen durch die Verfügbarkeit der Ressource limitiert.

In dem Maß, in dem die aufgenommene Nahrung nicht wieder exkretiert oder für den Betriebsstoffwechsel verbraucht wird, kann sie in somatisches Wachstum oder in Reproduktion investiert werden. Entsprechend ihrer Effektivität, die Nahrung zu nutzen, können verschiedene Zooplanktonarten unterschiedliche Assimilation und Produktion zeigen.

Die Konkurrenz innerhalb des Phytoplanktons wird durch den Fraßdruck und die Nährstofffreisetzung durch das Zooplankton entscheidend beeinflusst (Sommer 1992).

Sind die Algen freßbarer Größe weder toxisch noch besitzen sie morphologische Verteidigungsstrukturen wie Stacheln, harte Schalen oder gelatinöse Hüllen, so gelten sie für herbivores Zooplankton als gut freßbar. Dies vernachlässigt jedoch jegliche mineralische und biochemische Unterschiede in der Zusammensetzung des Sestons.

Das Futter des Zooplanktons besitzt im Gegensatz zu den Nährstoffionen der Algen Paketcharakter. Es ist Energieträger, es enthält Kohlehydrate, Lipide, Proteine, Vitamine und meist alle essentiellen Elemente. Die Inhaltsstoffe der Nahrung werden in einem durch die Nahrungspartikel vorgegeben Verhältnis ingestiert. Außer durch die Menge an insgesamt ingestierbarem Kohlenstoff können herbivore Zooplankter deshalb auch durch

Futterinhaltsstoffe limitiert sein, was sich in einer geringen Verwertbarkeit des Kohlenstoffs und damit in einer geringen Futterqualität ausdrückt.

Im Gegensatz zu Copepoden und manchen Rotatorien, die gleich große Futterpartikel durch Geschmack unterscheiden können, sind Daphnien nicht in der Lage, Futterpartikel aufgrund der Futterqualität zu diskriminieren (Demott 1986). Daphnien filtern innerhalb einer bestimmten Größenfraktion, deren Minimum durch den Abstand der Setulae und deren Maximum durch die Größe der Carapaxspalte festgelegt sind (Geller & Muller 1981; Gophen & Geller 1984). Für Daphnien als unselektive Filtrierer ist deshalb die Qualität des verfügbaren und aufgenommenen Sestons identisch.

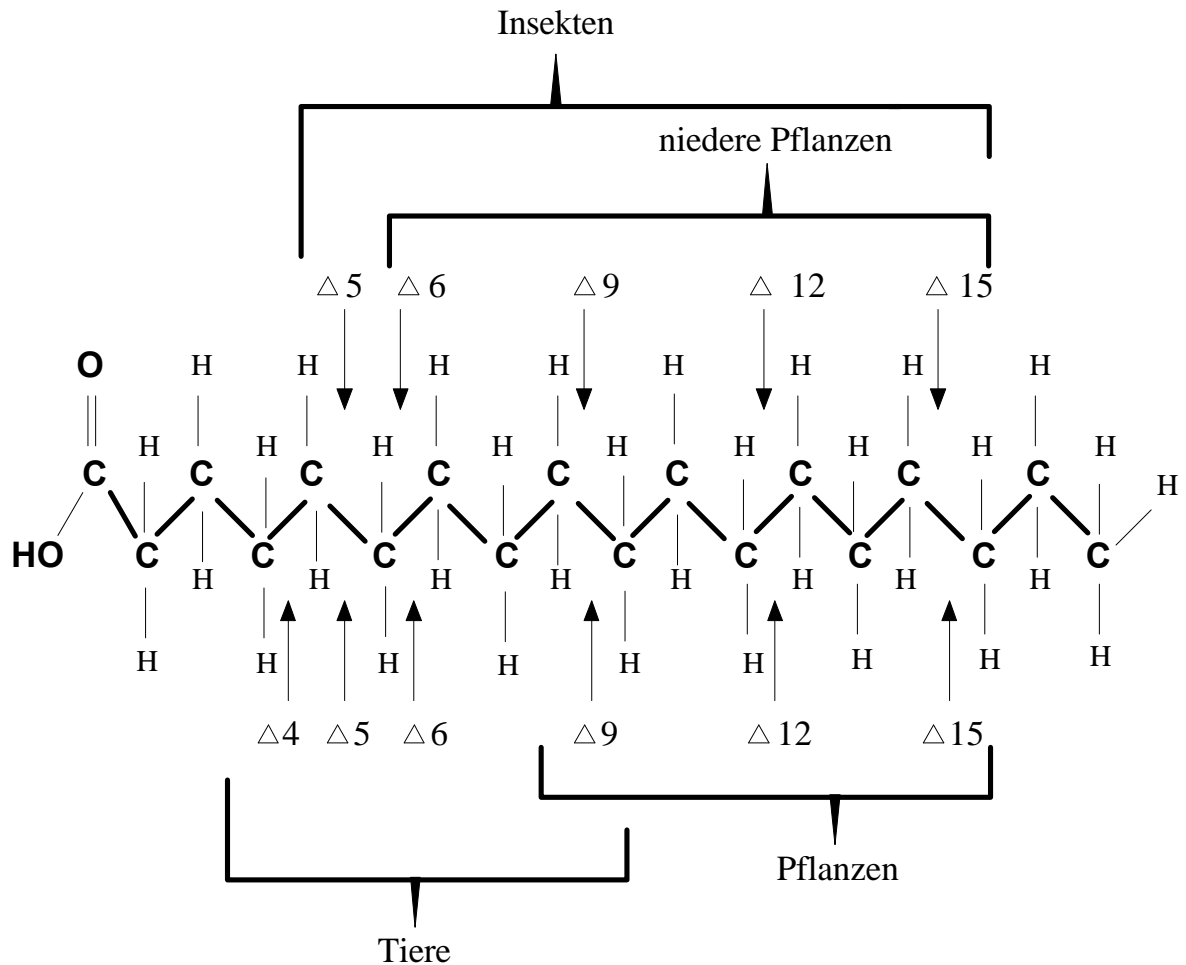
Diese Futterqualität hängt außer von der Partikelform und -größe auch von der mineralischen (Sternier 1993; Sternier et al. 1993) und der biochemischen Zusammensetzung (Ahlgren et al. 1992; Müller-Navarra 1995b) der filtrierten Partikel des Sestons ab. Limitierende biochemische Inhaltsstoffe des Sestons können teilweise substituiert werden, wie dies bei der Bereitstellung von Kohlenhydraten aus Lipiden und Proteinen möglich ist. Solche Inhaltsstoffe sind daher für den Konsumenten nicht essentiell. Andere biochemische Inhaltsstoffe, wie bestimmte Aminosäuren und Fettsäuren, sind dagegen nicht substituierbar und daher essentiell für den aufnehmenden Organismus. Wenn ein im Mangel befindlicher Inhaltsstoff nicht substituierbar ist, kann der aufnehmende Organismus diesen Mangel durch gesteigerte Nahrungsaufnahme nur soweit kompensieren, wie die Aufnahmesysteme dies erlauben.

Solche Limitationen des Wachstums der Cladocere *Daphnia* sind für mineralische Nahrungsinhaltsstoffe gut dokumentiert. Die Futterqualität von Kulturalgen für *Daphnia* nahm bei zunehmender Nährstofflimitierung der Algen (Stickstoff- und Phosphorlimitierung) ab (Sternier 1993). Giani (1991) fand Hinweise für eine Stickstofflimitation von *Daphnia* und Sternier et al. (1993) für eine Phosphorlimitation von *Daphnia* bei Verfütterung von Kulturalgen mit hohen C:N- bzw. C:P-Verhältnissen. Darauf aufbauend wurde ein Konzept der Limitierung des Zooplanktons durch mineralische Inhaltsstoffe entwickelt (Sternier et al. 1993). Die einzelnen Arten des Zooplanktons sind in Bezug auf ihre Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorverhältnisse homöostatisch (Hessen & Lyche 1991); die Futteralgen weisen jedoch große stöchiometrische Variabilität auf. Entsprechend der interspezifisch verschiedenen Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorverhältnisse der Zooplanktonarten kann man diese Verhältnisse zur Vorhersage des Ausgangs von interspezifischer Konkurrenz der Zooplanktonarten heranziehen (Hessen & Andersen 1992).

Das Konzept der mineralischen Phosphorlimitation wird neuerdings kritisch diskutiert (Brett 1993; Müller-Navarra 1995), wobei argumentiert wird, daß bei unterschiedlicher Nährstofflimitation der Algen auch biochemische Inhaltsstoffe verändert werden (Harrison et al. 1990; Müller-Navarra 1995) oder die Phosphorlimitation nur bei großen C:P-Verhältnissen herrscht (Sundbom & Vrede 1997). Müller-Navarra (1995a) fand, daß das Wachstum von *Daphnia* bei der Verfütterung von phosphorlimitierter *Cyclotella*, die aber viele hoch ungesättigte Fettsäuren enthielt, besser war als bei der Verfütterung von phosphorgesättigter *Scenedesmus*, die kaum hoch ungesättigte Fettsäuren enthielt.

Somit scheinen mehrfach ungesättigte Fettsäuren für die Futterqualität der Algen von Bedeutung zu sein. Da Pflanzen im allgemeinen die für Tiere essentiellen Fettsäuren bilden können, stellen Algen die Hauptquelle dieser Fettsäuren für die Grazer dar. Die Algenarten unterscheiden sich in ihrer Fettsäurezusammensetzung, sowohl in der Quantität als auch in der Qualität; deshalb sollte die Futterqualität von der Artenzusammensetzung des Phytoplanktons in der Nahrung des Zooplanktons abhängen.

Mehrfach ungesättigte Fettsäuren sind als Nahrungsbestandteile für Tiere sehr bedeutsam, da die wenigsten Tierarten in der Lage sind, eine zweite oder dritte Doppelbindung in Fettsäuren einzuführen (Beenackers et al. 1985). Gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren können aus Acetyl-CoA über einen Multienzymkomplex synthetisiert werden. Doppelbindungen werden erst am fertigen Fettsäuregerüst durch Desaturasen eingefügt (Abbildung 1-1), die spezifisch für die Position, an der die Doppelbindungen eingefügt werden, sind. Die Fettsäurebiosynthese in Tieren führt üblicherweise zu Fettsäuren mit Kettenlängen von 16 oder 18 Kohlenstoffatomen, die als Substrate für  $\Delta 9$ -Desaturasen dienen. Diese führen eine einzelne Doppelbindung zwischen dem neunten und zehnten Kohlenstoffatom ein. Das Produkt dient als Substrat für Elongationen um jeweils zwei Kohlenstoffatome am Carboxylende, das anschließend wieder in der  $\Delta 9$ -Position desaturiert werden kann. Somit werden zweite oder weitere Doppelbindungen immer zwischen einer schon existierenden Doppelbindung und dem Carboxylende der Kohlenstoffkette (Acylkette) und niemals auf der Methylseite einer existierenden Doppelbindung eingefügt (Abbildung 1-1).



**Abbildung 1-1** Positionen an denen die verschiedenen Fettsäuren-Desaturasen bei niederen und höheren Pflanzen, Tieren und manchen Insekten Doppelbindungen einfügen. Verändert nach Cook (1996).

Pflanzen sind jedoch in der Lage, zweite oder dritte Doppelbindungen zwischen einer existierenden Doppelbindung und der terminalen Methylgruppe einzufügen. Die Fähigkeit, Doppelbindungen auf beiden Seiten einer schon vorhandenen Doppelbindung einzufügen, besitzen neben manchen Insekten auch andere Invertebraten wie Schnecken (Cook 1996).

Die Lage der Doppelbindungen von ungesättigten Fettsäuren kann wie folgt bezeichnet werden: C<sub>18</sub>:2(9,12)Z,Z.

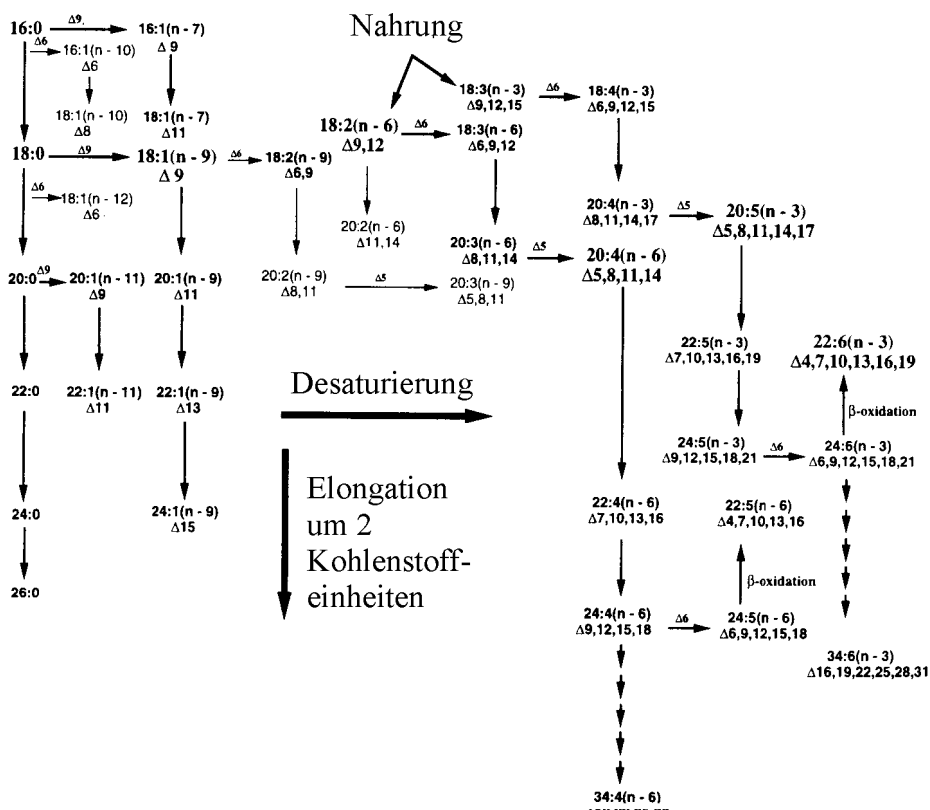
Die Zahl vor dem Doppelpunkt gibt die Anzahl der Kohlenstoffatome der Fettsäure an, die Zahl dahinter die Anzahl der in ihr enthaltenen Doppelbindungen. Die in der Klammer befindlichen Ziffern bezeichnen das Kohlenstoffatom in der Acylkette, das die Doppelbindung trägt, ausgehend von der im Molekül enthaltenen Gruppe der größten Elektronegativität, also der Carboxylgruppe. Ein **Z** bezeichnet die Stellung von



Substituenten (hier die Fortsetzung der Kohlenstoffkette) auf der gleichen und ein **E** auf der gegenüberliegenden Seite an den Kohlenstoffatomen, die die Doppelbindung tragen.

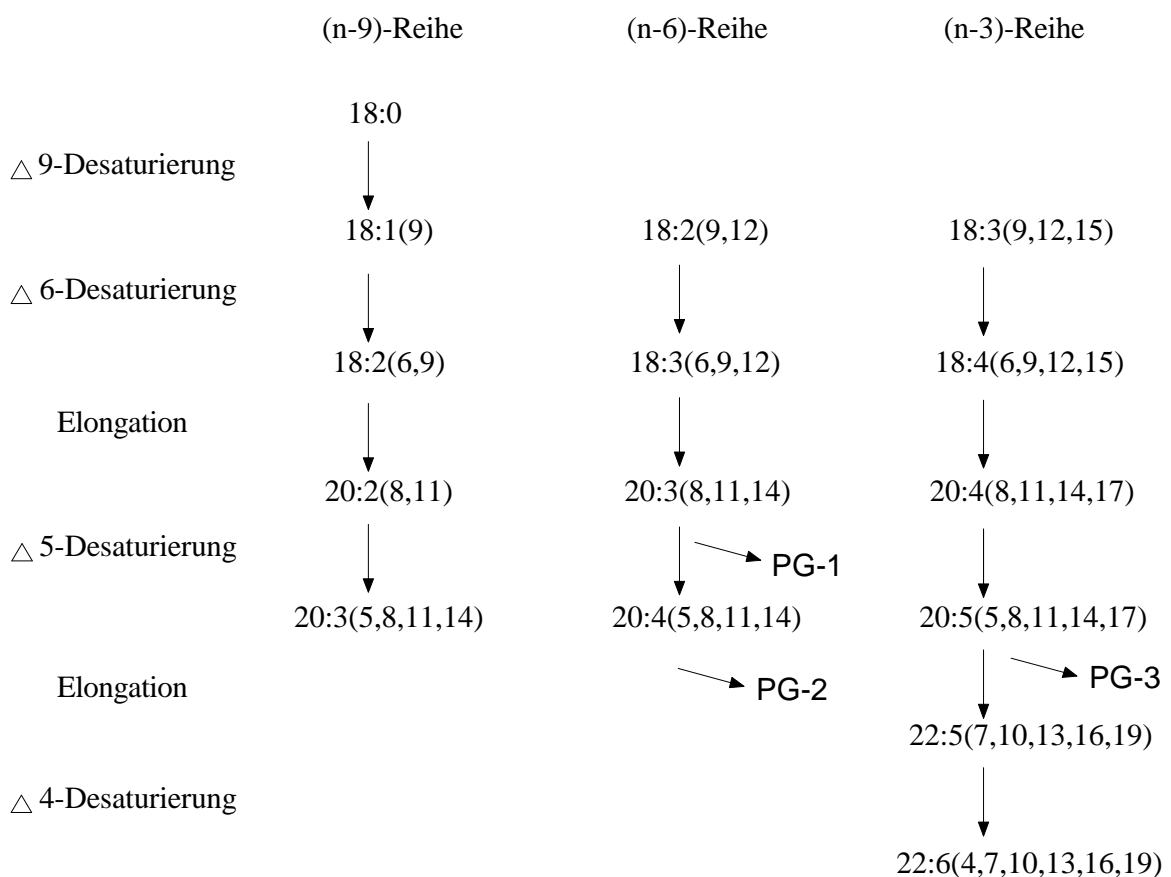
Da bei der Elongation Moleküle einer Länge von 2 Kohlenstoffatomen am Carboxylende angefügt werden, verändert sich damit die Positionsbezeichnung der Doppelbindungen bei jedem Elongationsschritt. Ein anderes Benennungssystem zählt vom Methylende her und bezeichnet die erste Doppelbindung mit  $n$ -Position<sub>Doppelbindung</sub>. So kann die Linolsäure mit C18:2(9,12) oder mit C18:2(n-6), die  $\alpha$ -Linolensäure entsprechend mit C18:3(9,12,15) oder mit C18:3(n-3) bezeichnet werden.

Da diese zwei oder drei Doppelbindungen enthaltenden Fettsäuren wichtige physiologische Rollen bei tierischen Organismen spielen, müssen sie mit der Nahrung aufgenommen werden. Bei den meisten Tieren sind das die Linolsäure (C18:2(n-6)) und die  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) (Abbildung 1-2).



**Abbildung 1-2** Hauptwege der Fettsäurebiosynthese durch Desaturierung und Kettenverlängerung in tierischen Geweben. Man beachte die alternierende Sequenz der Desaturierung in horizontaler Richtung und der Kettenverlängerung in vertikaler Richtung bei der Bildung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren aus essentiellen Fettsäuren, die mit der Nahrung aufgenommen werden müssen. Verändert nach Cook (1996).

Fettsäuren können zur Energiebereitstellung genutzt und als Triacylglycerole gespeichert werden. Wichtiger jedoch ist die Assoziation von Fettsäuren mit Membranlipiden. Membranphospholipide besitzen wichtige strukturelle und komplexe physiologische Aufgaben (Stanley-Samuelson et al. 1988). Die Linolsäure und die  $\alpha$ -Linolensäure sind Vorläufer für langkettige hoch ungesättigte Fettsäuren wie Arachidonsäure (C20:4(n-6)) und Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)), die wiederum Intermediate von Leukotrienen, Thromboxanen und Prostaglandinen sind, die wichtige Signalübermittlungsfunktionen ausüben (Abbildung 1-3). Prostaglandine besitzen auch bei Invertebraten wichtige signalübermittelnde Funktionen: z.B. das Auslösen von Eiablage, Immunreaktionen und Steuerung der malpighischen Gefäße (Stanley-Samuelson 1994a). Als Hauptbestandteil von Membranen beeinflussen die Fettsäuren Membranfunktionen wie Ionenkanäle und Ionentransport, Endozytose, Exozytose wie auch die Aktivität von membranassoziierten Rezeptoren und Enzymen (Cook 1996).



**Abbildung 1-3** Desaturierung und Elongation von Fettsäuren als Vorstufen von Prostaglandinen (PG) in Tieren. Aus Urich (1990).

Bei 15 Insektenarten wurden eine *de novo* Synthese der Linolsäure (C18:2(n-6)) beobachtet (Blomquist et al. 1991). Bisher wurden aber keine Tiere gefunden, die auch  $\alpha$ -Linolensäure

(C18:3(n-3)) synthetisieren können (Stanley-Samuelson 1994b). Diese gehört der (n-3)-Familie der Fettsäuren an. Eine Umwandlung von (n-3)- in (n-6)-Fettsäuren und umgekehrt wurde nicht beobachtet (Stanley-Samuelson 1994a).

Für die Regulation trophischer Interaktionen und die Nutzung vorhandener Ressourcen stellt die Kopplung Primärproduzent-Herbivor eine Schlüsselgröße dar (Oksanen 1988). Es ist wichtig, die limitierenden Ressourcen des Zooplanktons ebenso wie die des Phytoplanktons zu kennen, um trophische Interaktionen und Konkurrenzen zu bestimmen (Tilman 1982).

Daher wurde in der vorliegenden Arbeit die Futterqualität des Sestons im Bodensee für *Daphnia galeata* über eine Schichtungsperiode hinweg untersucht. Mit Ausnahme der natürlichen Futterlimitation wurden alle anderen Faktoren, die ebenfalls das Wachstum und die Reproduktion der Tiere beeinflussen, konstant gehalten. Dazu wurde natürliches Seston aus dem Bodenseepelagial in standardisierten Wachstumsexperimenten unter kontrollierten Bedingungen als Futter benutzt.

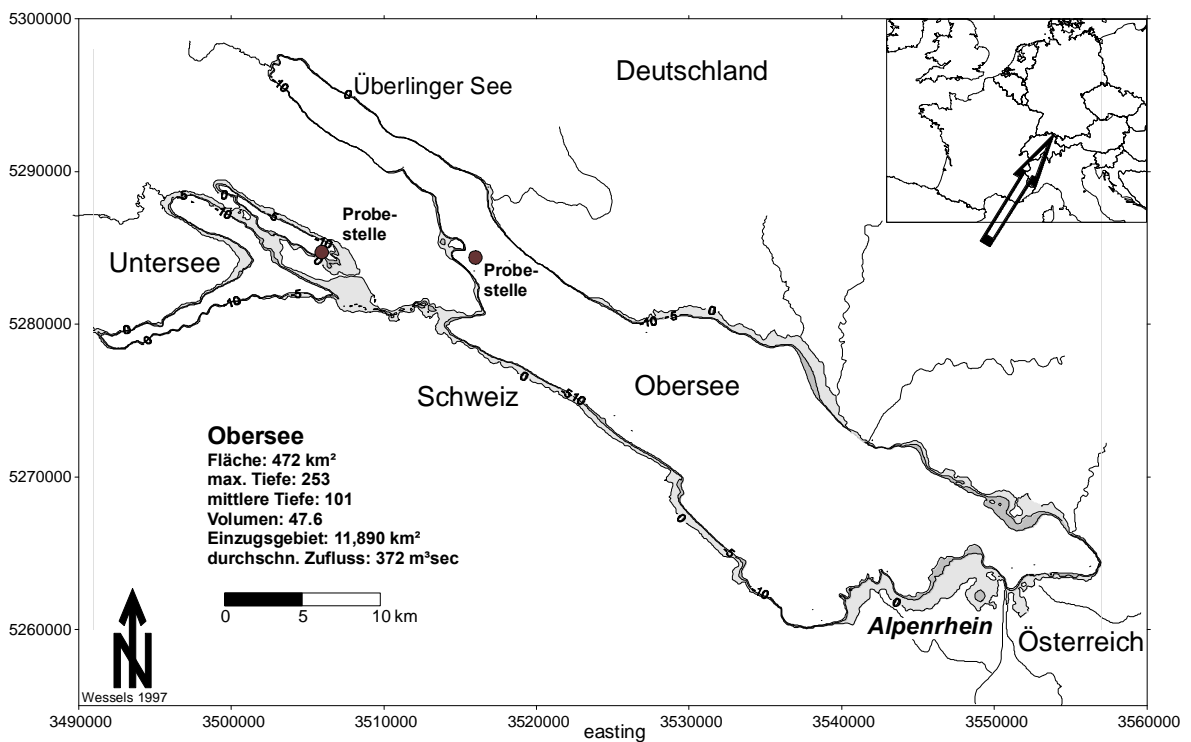
Gleichzeitig wurden die Konzentrationen von partikulärem organischen Kohlenstoff, Stickstoff und Phosphor im Futter bestimmt und die Fettsäuren der Lipidfraktion des Sestons aufgetrennt und quantifiziert. Diese Meßgrößen wurden mit den Wachstumsraten der Versuchstiere korreliert, um die Vorhersagekraft der Meßgrößen für das Wachstum abschätzen zu können.

Die Ursache von geringer Futterqualität zu bestimmten Zeitpunkten sollte ermittelt werden, indem außer dem natürlichen Seston in Parallelansätzen auch supplementiertes Seston an *D. galeata* verfüttert wurde. Dazu wurden dem Seston geringe Mengen einer stark phosphorhaltigen, aber an hoch ungesättigten Fettsäuren armen Alge (*Synechococcus elongatus*) oder einer viel hoch ungesättigte Fettsäuren enthaltenden, aber unter Phosphorlimitation kultivierten Alge (*Stephanodiscus hantzschii*) zugesetzt. Veränderungen der Futterqualität durch die Supplementierungen sollten Hinweise auf die Art der Limitierung von *D. galeata* geben.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Untersuchungsgebiet

Der Bodensee ist warm-monomiktisch und mit 571 km<sup>2</sup> Gesamtfläche nach dem Genfer See der zweitgrößte Voralpensee. Er gliedert sich in drei Teile, den bis zu 254 m tiefen Obersee, den Überlinger See, einem 147 m tiefen fjordähnlichen Seitenarm mit zum Teil sehr steilen Ufern und den Untersee, einem flacheren Seeteil mit maximal 46 m Tiefe, der mit dem Obersee nur durch den Seerhein verbunden ist (Braun & Schärpf 1994). Die Probestelle lag 1000 m südöstlich der Insel Mainau und kann noch dem Obersee zugeordnet werden, der eine mittlere Tiefe von 101 m und eine Fläche von 472 km<sup>2</sup> aufweist (Abbildung 2-1). Im Rahmen eines Experiments wurde auch der Untersee-Gnadensee bei Oberzell (Insel Reichenau) beprobt.



**Abbildung 2-1** Karte des Bodensees mit eingezeichneten Probenahmestellen (●) in Ober- und Untersee. Verändert nach Wessels (1998).

## 2.2 Kultivierung der Futteralgen

### 2.2.1 Verwendete Organismen

Für die Daphnien wurde als Standardfutter die Chlorophyceae *Scenedesmus acutus* MEYEN verwendet, die aus der Kulturensammlung des Max-Planck Instituts für Limnologie in Plön stammt. Von den beiden zu Supplementierungszwecken verwendeten Algen wurde das Cyanobakterium *Synechococcus elongatus* (SAG 89.79) aus der Sammlung von Algenkulturen in Göttingen bezogen, die Bacillariophyceae *Stephanodiscus hantzschii* (ein Isolat aus dem Bodensee) wurde der institutseigenen Algensammlung entnommen.

### 2.2.2 Kulturmedien

Zur Herstellung des WC Nährstoffmediums (modifiziert nach Guillard (1975) ) für *S. acutus* und *S. hantzschii* wurden 115 mg N-tris[hydroxymethyl]methyl-2-aminoethansulfonsäure (TES) eingewogen und jeweils 1 ml der in Tabelle 2-1 angegebenen Stammlösungen zugegeben und auf ein Liter mit Reinstwasser (Milli-Q, Firma Millipore) aufgefüllt. Zur Kultivierung von *S. hantzschii* unter Phosphorlimitierung wurden statt 1 ml nur 40 µl der K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung je 1 Liter Medium zugesetzt und der fehlende Salzgehalt durch Zugabe von 1 ml einer 40 mM KCl-Lösung ersetzt. Zusätzlich wurde bei der Bacillariophyceae das Medium mit 1 ml der Vitaminstammlösung pro Liter versetzt (Tabelle 2-3).

**Tabelle 2-1** Stammlösungen und Endkonzentrationen bei der Herstellung von WC Medium (modifiziert nach Guillard 1975).

Lösung	MG (g/mol)	Stammlösung		Medium µM
		g/l	M	
TES	229,2	0,115		500
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> NO <sub>6</sub> S				
CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	146	36,8	0,250	250
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	228	11,4	0,050	50
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	246	37,0	0,150	150
NaHCO <sub>3</sub>	84	12,6	0,150	150
NaNO <sub>3</sub>	85	85,0	1,000	1000
NaSiO <sub>3</sub> *5H <sub>2</sub> O	189	21,2	0,112	112
Spurenelemente:	siehe Tabelle 2-2			

**Tabelle 2-2** Spurenelemente für das WC Medium (modifiziert nach Guillard 1975).

Lösung	MG (g/mol)	Stammlösung		Medium μM
		g/l	mM	
Na <sub>2</sub> EDTA	≈363	4,36	12	12
FeCl <sub>3</sub> *6H <sub>2</sub> O	269	3,15	12	12
CuSO <sub>4</sub> *5H <sub>2</sub> O	249	0,01	4	0,04
ZnSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	286	0,022	0,08	0,08
CoCl <sub>2</sub> *6H <sub>2</sub> O	237	0,01	0,042	0,042
MnCl <sub>2</sub> *4H <sub>2</sub> O	197	0,18	0,90	0,90
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	244	0,006	0,025	0,025
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	62	1,0	16	16

**Tabelle 2-3** Vitamine für das WC Medium (modifiziert nach Guillard 1975).

Vitaminlösung	MG (g/mol)	Stammlösung		Medium μM
		mg/l	μM	
Thiamin *HCl	≈333	100,0	300	0,3
Biotin	≈250	0,5	2	0,002
Cyanocobalamin	≈1250	0,5	0,4	0,0004

Für das Nährmedium für Cyanobakterien (Jüttner et al. 1983) wurden je 10 ml der in Tabelle 2-4 aufgeführten Stammlösungen entnommen und auf 1 Liter mit Reinstwasser aufgefüllt.

Alle Medien wurden durch Druckfiltration über sterile hydrophile surfactantfreie Filtrationskartuschen von Satorius (0,45/0,2 μm) in die Mediumvorratsflaschen der Chemostate steril filtriert. Die Mediumvorratsflaschen und die Chemostate waren zuvor mindestens 30 Minuten lang bei 120°C und 120 kPa über dem atmosphärischen Druck autoklaviert worden.

**Tabelle 2-4** Stammlösungen und Endkonzentration bei der Herstellung des Nährstoffmediums für Cyanobakterien (Jüttner et al. 1983).

Lösung	MG (g/mol)	Stammlösung		Medium μM
		g/l	M	
CaCl <sub>2</sub> *2H <sub>2</sub> O	146	8,8	0,060	600
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> *3H <sub>2</sub> O	228	9,1	0,040	400
MgSO <sub>4</sub> *7H <sub>2</sub> O	246	9,9	0,040	400
NaNO <sub>3</sub>	85	68,0	0,800	8000
NaFe EDTA	396	0,367	0,001	10
Spurenelemente:	siehe Tabelle 2-5			

**Tabelle 2-5** Spurenelemente für die Cyanobakterien-Nährlösung (Jüttner et al. 1983).

Lösung	MG (g/mol)	Stammlösung		Medium
		g/l	M	µM
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O	244	0,484	0,002	20
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	62	0,625	0,01	100

### 2.2.3 Kulturbedingungen

*S. acutus*, *S. hantzschii* und *S. elongatus* wurden in kontinuierlichen Kulturen vermehrt, um jeweils Futteralgen mit konstantem physiologischen Zustand verfügbar zu haben. Die Chemostate wurden steril mit einem Aliquot aus dicht gewachsenen Batchkulturen angeimpft. Die Chemostatgefäße wurden durch Peristaltikpumpen (Gilson 4-Kanalpumpen) kontinuierlich mit frischem Medium versorgt. Die optische Dichte des Chemostatüberlaufes wurde regelmäßig alle zwei Tage kontrolliert. Schwankte sie nicht mehr, konnte man davon ausgehen, daß der Chemostat sich im Fließgleichgewicht befand. Die kontinuierlichen Kulturen wurden zur CO<sub>2</sub>-Versorgung und homogenen Durchmischung mit Preßluft begast. Die Raten des Zu- und Abflusses stimmen bei Chemostatkulturen überein. Die Durchflußrate [Tag<sup>-1</sup>] errechnet sich aus dem Quotient der Flußrate [Liter\*Tag<sup>-1</sup>] und dem Flüssigkeitsvolumen des Kulturgefäßes [Liter]. Durch den Zufluß ist eine kontinuierliche Auswaschung der Kulturen gegeben, die zu einer exponentiellen Verdünnung der Algenkulturen führt. Gleichzeitig wird durch den Zufluß des Mediums jedoch exponentielles Wachstum ermöglicht. Nach einer Einschwingungszeit stellt sich bei gegebenem Durchfluß ein Fließgleichgewicht ein:

$$\text{Verdünnungsrate } D = \text{Wachstumsrate } \mu$$

Die Zelldichte der Algenkultur hängt von der im Medium des Kulturgefäßes limitierenden Ressource ab. Das heißt, bei hoher Verdünnungsrate ist die limitierende Ressourcenkonzentration höher und damit das Wachstum der Algen weniger limitiert. Überschreitet die Verdünnungsrate  $D$  die maximale Wachstumsrate der Kultur, kommt es zur Auswaschung der Chemostatkultur.

*S. acutus* wurde bei einer Temperatur von 20 °C und kontinuierlicher photosynthetisch aktiver Strahlung (PAR) von 120 µE\*m<sup>-2</sup>\*s<sup>-1</sup> unter Verwendung des WC-Mediums bei einer Durchflußrate von 0,5 Tag<sup>-1</sup> kultiviert.

*S. hantzschii* wurde bei 16 °C und konstanter PAR von  $80 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  bei einer Verdünnungsrate von  $0,25 \text{ Tag}^{-1}$  unter Phosphatlimitierung in vitaminhaltigem WC-Medium kultiviert.

Die Kultivierung von *S. elongatus* bei 20 °C in WC-Medium führte bei Lichtintensitäten sowohl von  $30 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  wie auch von  $15 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  und verschiedenen Durchflußraten zu unerwünscht hohen Kohlenstoff zu Phosphor-Verhältnissen der Algen. Daher wurde im folgenden die höher konzentrierte Cyanobakterien-Nährlösung bei einer Durchflußrate von  $0,35 \text{ Tag}^{-1}$  bei der geringeren Lichtintensität verwendet.

#### 2.2.4 Präparation des Algenfutters

Zur Herstellung von Futtersuspensionen für *Daphnia galeata* wurden die Überläufe der Chemostate sechs Stunden gesammelt und 10 Minuten bei 3000 g zentrifugiert. Das Pellet wurde in membranfiltrierem Bodenseewasser ( $<0,45 \mu\text{m}$ ) resuspendiert. Anschließend wurde die optische Dichte der Algensuspension bei einer Wellenlänge von 800 nm (ELKO II; mit Filter S72E70) in einer 1 cm langen Glasküvette gemessen und mit dem Blindwert der mit Aqua dest. gefüllten Küvette korrigiert. Über eine Kalibrationskurve zwischen optischer Dichte von *S. acutus* und dem analytisch bestimmten partikulären Kohlenstoffgehalt konnte die Kohlenstoffkonzentration der Algensuspension abgeschätzt werden:

$$\text{POC}_{S. acutus} [\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}] = \text{OD} / (1,74 [\text{ml} \cdot \text{mgC}^{-1} \cdot \text{1cm}^{-1}] * 1 [\text{cm}_{\text{Schichtdicke}}]); (r^2=0,99 ; p<0,001).$$

Mit den entsprechenden Verdünnungen mit membranfiltrierem Seewasser ( $<0,45 \mu\text{m}$ ) konnten somit Futtermedien definierter partikulärer Kohlenstoffkonzentration für die Daphnien hergestellt werden.

Bei *S. hantzschii* und *S. elongatus* wurde analog verfahren. Allerdings wurde hier zusätzlich ein weiterer Zentrifugations- und Resuspensionsschritt durchgeführt, um eventuelle Rückstände des Kulturmediums auszuwaschen, da diese Algen dem natürlichen Seston möglichst ohne Eintrag von limitierenden Ressourcen zugesetzt werden sollten.

$$\text{POC}_{S. hantzschii} [\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}] = \text{OD} / (2,44 [\text{ml} \cdot \text{mgC}^{-1} \cdot 5\text{cm}^{-1}] * 5 [\text{cm}_{\text{Schichtdicke}}])$$

$$\text{POC}_{S. elongatus} [\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}] = \text{OD} / (5,56 [\text{ml} \cdot \text{mgC}^{-1} \cdot 1\text{cm}^{-1}] * 1 [\text{cm}_{\text{Schichtdicke}}])$$

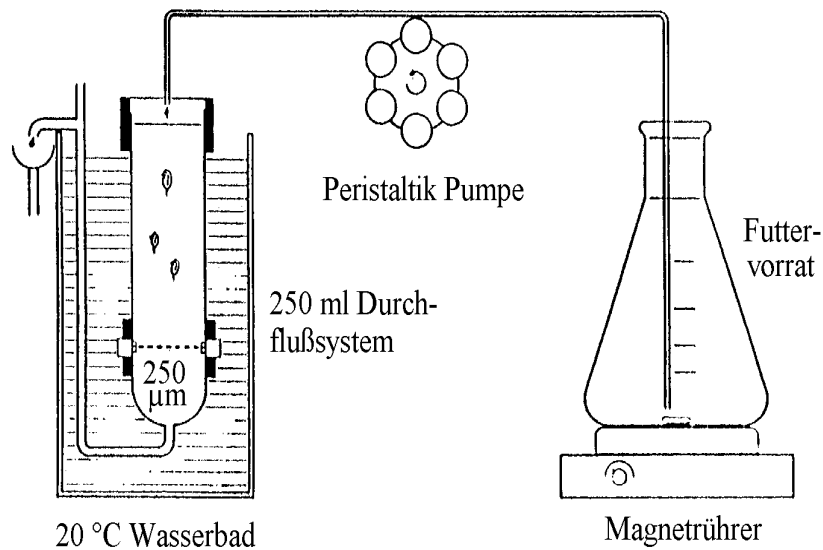


### 2.3 Kultivierung von *Daphnia galeata*

Als Versuchstier wurde *Daphnia galeata* gewählt, die aus einem Laborklon stammte, welcher ursprünglich von Stich aus dem Bodensee isoliert wurde (Stich & Lampert 1984). Als Kulturmedium nutzte man durch Druckfiltration über Glasfaservorfilter (Fa. Schleicher & Schuell GF 92) und hydrophile Filtrationskartuschen (Satorius) <0,45 µm filtriertes Bodenseewasser, das anschließend mindestens 30 Minuten mit Raumluft begast wurde.

Durch entsprechende Verdünnung der abzentrifugierten *S. acutus* mit obigem Kulturmedium wurden Futtersuspensionen definierten Kohlenstoffgehaltes ( $2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ) hergestellt. Zur Konstanthaltung der Futterkonzentrationen wurden zur Hälterung der Muttertiere Durchflußsysteme benutzt (Lampert et al. 1988). Je Durchflußsystem befanden sich maximal 30 Tiere, um dichteabhängige Reaktionen zu vermeiden.

Die Futtersuspensionen wurden in verdunkelten 5 l Vorratsgefäßen permanent durch Magnetrührstäbe gerührt und über Schlauchsysteme mit Peristaltikpumpen (Ismatec Mehrkanalpumpen) den Durchflußsystemen zugeleitet (Abbildung 2-2). Da die Durchflußrate mit 60 ml pro Stunde die Gesamtfiltrationsrate aller Tiere in einer Röhre übertraf, konnten Fluktuationen der Futterquantität vermieden werden. Die Durchflußröhren standen in einem Wasserbad, welches mit der gesamten Versuchsanordnung in einem bei konstant 20 °C klimatisierten Raum und kontinuierlichem Licht aufgestellt war. Ein Entweichen der Tiere wurde durch eine Gaze mit 250 µm Maschenweite am unteren Ende der Durchflußröhren verhindert. Die Tiere wurden regelmäßig alle ein bis zwei Tage in neue Durchflußröhren umgesetzt, um neugeschlüpfte Tiere von den Adulten zu trennen. Es wurden jeweils innerhalb von wenigen Stunden ( $\pm 4 \text{ h}$ ) neugeborene Daphnien des dritten Geleges der Muttertiere zur Weiterzucht verwendet. Dadurch erhielt man synchronisierte Muttertiere gleichen Alters.



**Abbildung 2-2** Schematische Darstellung eines einzelnen Durchflußsystem-Versuchsaufbaus (Lampert et al. 1988).

## 2.4 Wachstumsexperimente

Von Mai bis Oktober 1997 wurden mit jeweils 21 der Abbildung 2-2 entsprechenden Versuchsanordnungen Wachstumsexperimente durchgeführt. Dabei wurden Algen-suspensionen verschiedener Konzentrationen, sowie natürliches Seston aus dem Bodensee zu verschiedenen Zeitpunkten an *Daphnia galeata* verfüttert.

Innerhalb eines 8 Stunden langen Zeitintervalls geborene *D. galeata* wurden auf mehrere Durchflußsysteme verteilt und noch zwei weitere Tage unter nichtlimitierenden Futterbedingungen ( $2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ) bei konstanten Umweltfaktoren vorgehärtet. Für die Wachstumsversuche wurden ausschließlich Neugeborene aus dem dritten oder vierten Gelege der Elterntiere benutzt, da sie die geringste Streuung der initialen Trockenmassen pro Individuum zeigten (Lampert 1993).

Zu Versuchsbeginn entnahm man zwei Teilproben mit jeweils 10 Tieren zur Bestimmung der Trockenmasse. Die Tiere wurden zur Entfernung von Algenresten zweimal mit Aqua dest. gespült, in vorgewogene Aluschiffchen ( $4 \cdot 4 \cdot 11 \text{ mm}$ , Firma elementar Analysensysteme GmbH) überführt und 12 Stunden in einem Trockenschrank bei  $50 \text{ °C}$  getrocknet. Im Anschluß wurden sie in einem Exsikkator abgekühlt und mit einer

Mikrowaage (Mettler UMT2  $\pm 0,1\mu\text{g}$ ) nachgewogen. Aus der Differenz und der Anzahl der Tiere ließen sich die mittleren Trockengewichte pro Individuum berechnen.

Die restlichen Tiere wurden auf die verschiedenen, mit den experimentellen Futtersuspensionen versorgten, Durchflußsysteme verteilt. Pro experimentellem Futter wurden drei Replikate, also drei Durchflußröhren, mit je 10 Tieren besetzt. Jedes Futterexperiment dauerte vier Tage, während derer die experimentellen Futtersuspensionen täglich erneuert wurden. Am Ende wurde von jedem einzelnen Tier die Gelegegröße und von jeweils allen Tieren aus den Durchflußröhren die Trockenmasse pro Individuum bestimmt. Aus der Differenz zu der zu Versuchsbeginn entnommenen Teilprobe konnte man die Zunahme der Trockenmasse pro Individuum berechnen. Die Wachstumsperiode bis zur Anlage des ersten Geleges kann als Messung der Fitneß von *Daphnia* verwendet werden (Lampert & Trubetskova 1996), da außer in das somatische Wachstum auch in die Organe der Reproduktion investiert wird.

Nach folgender Formel wurde die somatische Wachstumsrate **g** errechnet:

$$g = \frac{\ln(m_{t=6}) - \ln(m_{t=2})}{\Delta t} \quad [\text{Tag}^{-1}]$$

$m_{t=2}$ :	Trockenmasse pro Individuum zu Beginn des Versuches [ $\mu\text{g} \cdot \text{Ind}^{-1}$ ]
$m_{t=6}$ :	Trockenmasse pro Individuum am Ende des Experiments [ $\mu\text{g} \cdot \text{Ind}^{-1}$ ]
$\Delta t$ :	Versuchsdauer [Tage]

#### 2.4.1 Einfluß der Vorhälterung und Versuchsdauer

Vor Erstellung des endgültigen Versuchablaufs wurde untersucht, in welchem Alter und wie lange die Versuchstiere anschließend unter diesen Bedingungen inkubiert werden sollen, damit deutliche Wachstumsunterschiede aufgrund verschiedener Futterqualitäten auftraten.

Kohorten von innerhalb von 6 Stunden geborenen *D. galeata* wurden in den beiden ersten Ansätzen zwei Tage lang in nichtlimitierenden Kohlenstoffkonzentrationen mit *S. acutus* ( $2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ) versorgt. Anschließend wurde die Futterkonzentration im ersten Versuch auf  $0,5 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  reduziert, im zweiten auf  $0,5 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *S. elongatus* umgestellt. In einem weiteren Versuchsansatz erhielten die Tiere erst nach drei Tagen Vorhälterung *S. elongatus* als Nahrungsquelle.

Dazu wurde zu Versuchsbeginn von 30 Tieren die Trockenmasse pro Individuum bestimmt. Von jedem der drei Futteransätze wurden zwei unabhängige Experimente ausgeführt. Jede Durchflußröhre wurde zu Versuchsbeginn mit 20 Tieren bestückt und täglich 5 Individuen zur Ermittlung der Trockenmasse entnommen. Von den Futtersuspensionen wurden täglich Proben auf Glasfasermikrofilter zur Analyse des partikulären Kohlenstoffs und Stickstoffs filtriert.

#### **2.4.2 Wachstumsversuche mit Kulturalgen**

Da das Wachstum der Daphnien auch von der Nahrungskonzentration abhängig ist, wurden die Tiere nach zweitägiger Vorhälterung 4 Tage lang bei verschiedenen Konzentrationen der drei Chemostatalgen kultiviert. Durch die Berechnung der Wachstumsraten war es möglich, die Abhängigkeit des Wachstums bezüglich der Kohlenstoffkonzentration zu bestimmen.

#### **2.4.3 Wachstumsversuche mit natürlichem Seston**

Die Wachstumsversuche mit Seston als Futter für *D. galeata* und die Analyse des Sestons sollten Aufschluß über die Nahrungssituation im See geben. Von Mai bis Oktober wurden in der Regel alle zwei Wochen Wasserproben 1000 m südöstlich der Insel Mainau aus dem Pelagial des Bodensees entnommen. Als Probe wurden 60-80 Liter Seston aus 6 m Wassertiefe mit Hilfe eines Paulischöpfers (9,2 Liter; Eigenbau des Limnologischen Institutes) geschöpft. Die Tiefe von 6 m wurde gewählt, da *D. galeata* keine diurnale Vertikalwanderung ausführt und sich tendenziell in dieser Tiefe aufhält (Stich & Lampert 1981).

Als physikalische Parameter erfaßte man die Secchitiefe und die Temperatur in 6 m Wassertiefe.

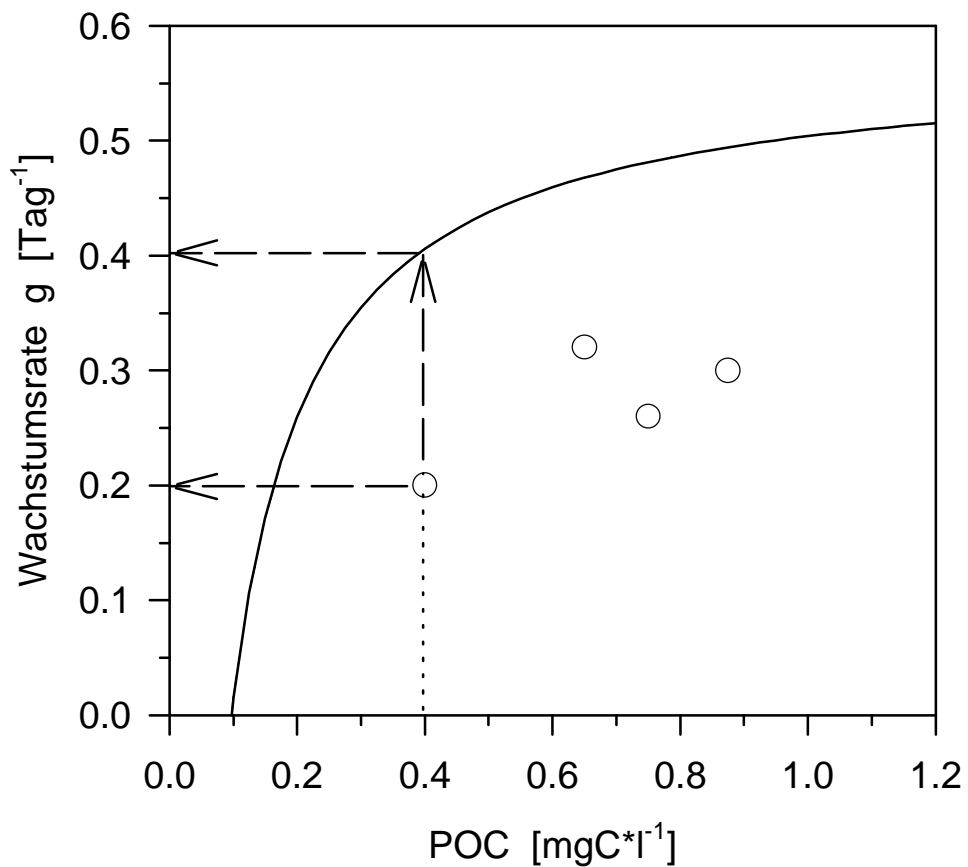
Das natürliche Seston wurde unmittelbar nach der Probenahme durch eine Gaze mit 30 µm Maschenweite filtriert und die Fraktion <30 µm im klimatisierten Versuchsraum temperiert. Diese Fraktionierung wurde vorgenommen, da *D. galeata* primär kleinere Partikel als 30 µm filtriert (Lampert 1978). Maximal 6 Stunden nach der Probenahme wurde mit der Verfütterung des Sestons begonnen, das alle 24 Stunden durch frisch genommenes Seston <30 µm ersetzt wurde. Das Seston <30 µm wurde vier Tage lang nach dem in Kapitel 2.3

und 2.4 beschriebenen Versuchsablauf in drei Replikaten an *D. galeata* verfüttert und zu Versuchsende wurden die Wachstumsraten und die Gelegegrößen bestimmt.

Von der verfütterten Fraktion wurden täglich 150-500 ml zur späteren Analyse von POC und PON auf Glasfasermikrofilter (Whatman GF/F ; 25 mm) und 100-400 ml zur Analyse des partikulären Phosphors auf Polysulfonfilter (Gelman; HT-200 ) filtriert. Weiterhin mußten bis zu 5 Liter über Glasfasermikrofilter (Whatman; GF/F ; 47 mm) für die Bestimmung von Fettsäuregehalten filtriert werden. Die kleinsten Partikel des Filtrationsbereiches von Daphnien (Geller & Muller 1981; Gophen & Geller 1984) liegen in dem Größenbereich der für die Analysen verwendeten Filter (GF/F = 0,7 µm; Polysulfon HT-200 = 0,2 µm), so daß die analytisch untersuchte Größenfraktion des Sestons dem durch die Daphnien genutzten Größenspektrum ihrer Futteralgen entsprach.

#### **2.4.3.1 Berechnung der Futterqualität**

Die Wachstumsraten der Daphnien, die mit natürlichem Seston gefüttert wurden, dienten als Maß für den Nährwert des Sestons. Da die Wachstumsraten aber von der Nahrungskonzentration abhängig sind, konnten sie nicht zur Charakterisierung der Futterqualität herangezogen werden. Daher verglich man diese Wachstumsraten mit denen bei gleicher partikulärer Kohlenstoffkonzentration mit *Scenedesmus acutus* erreichten Wachstumsraten (Abbildung 2-3).



**Abbildung 2-3** Berechnung der Futterqualität aus dem Quotienten der aktuellen Wachstumsrate (o) und der Wachstumsrate (Regressionslinie), die bei gleicher Konzentration bei Fütterung mit *S. acutus* erreicht würde. Im Beispiel läge die Futterqualität bei 0,4 mgC\*l<sup>-1</sup> des Sestons bei 0,2 / 0,4 = 50 %.

$$\text{Futterqualität} = \frac{\text{Wachstumsrate auf Seston}}{\text{bei gleicher POC auf } S.\text{acutus} \text{ erzielte Wachstumsrate}} * 100\%$$

Es können sich auch Futterqualitäten von über 100 % ergeben, wenn *D. galeata* auf Seston besseres Wachstum als bei Verfütterung der gleichen Kohlenstoffkonzentration von *S. acutus* zeigt.

### 2.4.3.2 Wachstumsversuche mit konzentriertem und verdünntem Seston

Parallel zu den Versuchsansätzen mit dem natürlichen Seston wurden drei Replikate mit konzentriertem Seston verfüttert. Es sollte festgestellt werden, ob eine Wachstumssteigerung aufgrund der größeren Nahrungskonzentration möglich war und somit die Versuche mit natürlichem Seston noch unterhalb des ILL (Incipient-limiting-level) ausgeführt wurden.

Dazu wurden täglich 10 Liter des <30 µm filtrierten Sestons mit Hilfe einer Tangentialflußfiltrationsanlage (Millipore Minitan System ) mit drei Filtrationsscheiben (Minitan plates 0,45 µm) bei 20 kPa über dem Umgebungsdruck auf 5,5 Liter eingeeengt. Das Tangentialflußsystem wurde anschließend mit 0,5 Liter des Permeats rückgespült, um im System verbliebene Partikel rückzulösen und dem Konzentrat zuzuführen.

Zuvor war die Methode der Konzentrierung mit *S. acutus* und *Rhodomonas minuta* geprüft worden; beide Algenarten überstanden die Prozedur, soweit lichtmikroskopisch erkennbar, unbeschadet.

Da sich zu Beginn der Versuchsperiode abzeichnete, daß die POC-Konzentrationen der <30 µm Fraktion sehr groß waren und deshalb vielleicht keine Limitierung der Daphnien durch Futterinhaltsstoffe erkennbar würde, wurde das Seston <30 µm in einem weiteren Ansatz mit <0,45 µm filtriertem Seewasser 1:2 verdünnt.

Täglich wurden Teilproben der verfütterten Ansätze zur Bestimmung von POC, PON und partikulärem Phosphor entnommen.

### 2.4.3.3 Supplementierungsversuche

In zwei weiteren experimentellen Ansätzen mit je drei Replikaten wurden dem natürlichen Seston <30 µm geringe Mengen je einer der Kulturalgen *S. hantzschii* oder *S. elongatus* zugesetzt. Verbesserte sich die Futterqualität durch die Supplementierung mit 125 µgC\*l<sup>-1</sup> der phosphorreichen, aber an ungesättigten Fettsäuren armen *S. elongatus*, so wäre dies ein Hinweis auf eine Limitierung der Daphnien durch den Phosphorgehalt des Sestons zum entsprechenden Zeitpunkt. Würde sich die Futterqualität jedoch bei Zusatz von 125 µgC\*l<sup>-1</sup> der phosphorlimitierten und an hoch ungesättigten Fettsäuren reichen *S. hantzschii* verbessern, so sollte dies ein Hinweis auf eine entsprechende Limitation der Daphnien durch Fettsäuren im Seston sein.

Die Algen wurden wie unter Kapitel 2.2.4 beschrieben geerntet; mit Hilfe der optischen Dichte der resuspendierten Algen wurde das dem Seston zuzusetzende Volumen über die Kalibrationskurve berechnet.

#### **2.4.3.4 Gesamtversuch**

In einem Versuch mit natürlichem Seston  $<30\ \mu\text{m}$  wurden die Wachstumsraten auf natürlichem Seston, konzentriertem Seston, verdünntem Seston, mit *S. elongatus* supplementiertem und mit *S. hantzschii* supplementiertem Seston untersucht. Zusätzlich wurde *S. acutus* in einer definierten Konzentration verfüttert, um eine Kontrolle über das Wachstum der Tiere und eine Ergänzung der Wachstumskurve auf *S. acutus* zu erhalten. Von jedem Versuchsansatz wurden drei Replikate mit jeweils 10 *D. galeata* durchgeführt, d.h., inklusive der Entnahme der Tiere zur initialen Trockenmassebestimmung wurden für ein solches Experiment 200 synchronisierte Daphnien benötigt. Von Mai bis Oktober wurden auf diese Weise 10 Versuche ausgeführt. Vom 26.08.97 bis 29.08.97 wurden bei einem Experiment zum Vergleich Sestonproben aus dem Gnadensee bei Oberzell (Reichenau) genommen.

## **2.5 Analysen**

Als partikuläre Parameter wurden jeweils die Konzentrationen an partikulärem organischen Kohlenstoff und Stickstoff (POC bzw. PON), partikulärem Phosphor ( $P_{\text{part}}$ ) und die partikulären Fettsäuregehalte in der Sestonfraktion  $<30\ \mu\text{m}$  bestimmt. Die Fettsäuren wurden gaschromatographisch in einzelne Komponenten aufgetrennt.

### **2.5.1 Bestimmung des partikulären organischen Kohlenstoffs und Stickstoffs**

Zur Bestimmung des partikulären organischen Kohlenstoffs bzw. Stickstoffs wurden täglich Teilproben jedes Futteransatzes (Algensuspension, natürliches Seston oder modifizierte Ansätze) über Glasfasermikrofilter mit reduziertem Druck (80 kPa) abfiltriert. Die Glasfasermikrofilter (Whatman GF/F, Durchmesser 25 mm) wurden zuvor vier Stunden bei 550 °C im Muffelofen vorgeglüht, um den Hintergrundgehalt der Filter an Kohlenstoff und Stickstoff zu senken. Es wurde darauf geachtet, daß die Filter nach der Filtration eine deutliche Färbung zeigten, damit der Kohlenstoffgehalt des Filters im optimalen Bereich von



0,1 bis 0,3 mg Kohlenstoff für die spätere Analyse lag. Die Filter wurden anschließend 12 Stunden bei 50 °C im Trockenschrank getrocknet und im Exsikkator abgekühlt.

Die getrockneten Glasfasermikrofilter wurden in Zinnkartuschen (5\*9 mm; Firma HEKAtech) verpackt und mit einem NCS-Analysegerät (NCS-2500, Firma Carlo Erba Instruments) analysiert. Hierbei wurde die Probe unter Luftausschluß bei 1000 °C und konstantem Fluß von Helium (120ml\*min<sup>-1</sup>, Reinheit 4.6) mit 10 ml Sauerstoff (Reinheit 4.8) oxidiert. Um eine quantitative Oxidation des entstehenden Gasgemisches zu erreichen, wurde die Oxidation durch Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> katalysiert. Durch die Oxidation entstandene Stickoxide wurden durch elementares Kupfer bei 650 °C zu elementarem Stickstoff reduziert. Die resultierenden Komponenten wurden durch eine Porapak PQS-Säule separiert und N<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> durch einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor nachgewiesen.

Die absoluten Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte der durch die Glasfasermikrofilter zurückgehaltenen Partikel wurden über eine Kalibrationskurve berechnet, die mit einem genau abgewogenen Standard mit 59,55 % Kohlenstoff- und 9,92 % Stickstoffgehalt (N-Cyclohexyl-N`-[2-(N-methylmorpholino)-ethyl]-carbodiimid-4-toluolsulfonat, Firma Merck) aufgenommen wurde. Die Nachweisgrenze für Kohlenstoff und Stickstoff auf den Filtern betrug 12 µg bzw. 2 µg.

Nach Korrektur der Blindwerte der Filter konnten über die ursprünglich filtrierte Volumina die jeweiligen Konzentrationen der Teilproben ermittelt werden:

$$POC = \frac{(A - A_0) * k}{V_{Pr}}$$

<i>POC</i> :	Konzentration des partikulären Kohlenstoffs in der filtrierte Teilprobe [mgC*I <sup>-1</sup> ]
<i>A</i> :	Integrationsfläche
<i>A</i> <sub>0</sub> :	Mittelwert aus den Integrationsflächen zweier Blindwerte (Leerfilter)
<i>k</i> :	Kalibrationsfaktor der Eichkurve [mgC]
<i>V</i> <sub>Pr</sub> :	Filtrationsvolumen der Teilprobe [l]

Zur Berechnung des PON wurde analog verfahren.

### 2.5.2 Bestimmung des partikulären Phosphors

Zur Bestimmung des partikulären Phosphors wurden Teilproben der Futteransätze durch auf 80 kPa reduzierten Druck über Polysulfonfilter (HT-200, Porenweite: 0,2 µm, Firma Gelman Sciences) filtrierte. Die Filter wurden in 100 ml Duran Schraubdeckelgläser mit jeweils 50 ml Oxidationslösung (10 g Kaliumperoxodisulfat (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) und 1,5 g Natrium-

hydroxid (NaOH) ad 1 Liter Reinstwasser) gegeben und eine Stunde bei 120 °C durch Autoklavieren aufgeschlossen.

Der gelöste reaktive Phosphor des Aufschlusses wurde nach der Molybdänblau-Methode mit Ascorbinsäure als Reduktionsmittel bei einer Wellenlänge von 880 nm und einer Küvettenlänge von 5 cm als Phosphormolybdänkomplex mit einem Autoanalysator (Firma Technicon) nachgewiesen (Tabelle 2-6).

**Tabelle 2-6** Zusammensetzung des Mischreagenz für die Phosphor-Bestimmung. Die Zuflußrate des Mischreagenz betrug 0,23 ml\*min<sup>-1</sup>, die der Probe 1,4 ml\*min<sup>-1</sup> und die des Waschwassers 0,32 ml\*min<sup>-1</sup>. Nach 6 Minuten wurde der Farbkomplex photometrisch bei 880 nm in einer 5 cm Küvette vermessen (Technicon manual).

Stoff	Konzentration der Stammlösung	Zugabe zu den Proben [ml]
Schwefelsäure (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	4,9 N	50
Ammoniummolybdat ((NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> *4H <sub>2</sub> O)	40,0 g*I <sup>-1</sup>	15
Ascorbinsäure (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> )	18,0 g*I <sup>-1</sup>	30
Kalium-Antimon-Tartrat (K(SbO)C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> *1/2H <sub>2</sub> O)	3,0 g*I <sup>-1</sup>	5

Die Meßwerte wurden durch Ermitteln des Phosphor-Hintergrundgehaltes der Filter korrigiert. Die Meßgenauigkeit betrug 1 µgP\*I<sup>-1</sup>. Die Phosphorkonzentration wurde über eine Eichkurve aus drei verschiedenen Konzentrationen (jeweils Doppelbestimmungen) nach folgender Formel berechnet:

$$P_{part} = (E - E_0) * k * \frac{V_{Ox}}{V_{Pr}}$$

P <sub>part</sub> :	Konzentration des partikulären Phosphors in der filtrierten Teilprobe [µgP*I <sup>-1</sup> ]
E :	Extinktion
E <sub>0</sub> :	Mittelwert aus den Extinktionen zweier Blindwerte (Leerfilter)
k :	Kalibrationsfaktor der Eichkurve [µgP*I <sup>-1</sup> ]
V <sub>Ox</sub> :	Volumen des zugegebenen Oxidationsmittels in dem die Extinktion gemessen wird [l]
V <sub>Pr</sub> :	Filtrationsvolumen der Teilprobe [l]

Sämtliche Gefäße wurden zwischen den Messungen in 0,1 N Salzsäure gelagert und erst kurz vor Einfüllen der Proben mit Reinstwasser gespült, um Kontaminationen zu vermeiden.

## 2.5.3 Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung

### 2.5.3.1 Filtration

Für die Analyse der Fettsäuren wurden täglich Teilproben von den verschiedenen Futteransätzen über Glasfasermikrofilter (Whatman GF/F, Durchmesser: 47 mm) filtriert. Die Filter wurden wie bei der Kohlenstoffanalyse vorbehandelt. Je nach Kohlenstoffgehalt im Seston mußten bis zu 5 Liter über die Filter filtriert werden, um einen Kohlenstoffgehalt von 1 mgC auf jedem Filter zu erreichen. Die Filter wurden nach der Filtration zusammengefaltet und bei minus 20 °C bis zur Analyse aufbewahrt.

### 2.5.3.2 Extraktion und Umesterung

Bevor die Fettsäurezusammensetzung der durch die Glasfasermikrofilter zurückgehaltenen Partikel mittels Gaschromatographie untersucht werden konnte, mußten deren Lipide extrahiert und in flüchtige und unpolare Derivate, die Fettsäuremethylester, umgewandelt werden.

Zur Extraktion wurde zu den Glasfasermikrofiltern in verschlossenen Erlenmeyerkolben jeweils 8 ml eines Dichlormethan-Methanol-Gemisches (2:1, v/v) und 100 µl eines internen Standards zugesetzt. Der interne Standard enthielt 20 µg\*ml<sup>-1</sup> Heptadecansäuremethylester (C17:0) und 25 µg\*ml<sup>-1</sup> Tricosansäuremethylester (C23:0) in Isohexan; es wurden also 2 µg bzw. 2,5 µg zugesetzt.

Die Extraktion wurde durch 10 Sekunden lange Ultraschallbehandlung und langer Einwirkungszeit des Dichlormethan-Methanol-Gemisches über Nacht bei 8 °C unterstützt. Anschließend wurden die jeweiligen Extrakte zwei Minuten bei 2000 g zentrifugiert, um Glasfaserpartikel zu pelletieren. Die Überstände wurden in 10 ml Reagenzgläser überführt und unter Stickstoff-Begasung (N<sub>2</sub>) auf einem Heizblock bei 40 °C eingengt. Der Extraktionsschritt wurde wiederholt und der Überstand dem vorigen Extrakt beigemischt und weiter vorsichtig bis zur Trockene eingengt. Dann wurden 3 ml einer 3 N methanolischen Salzsäure für die Umesterung zugegeben. Die Gefäße wurden verschlossen und 15 Minuten auf 60 °C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Proben mit 3 ml Isohexan überschichtet und zur Extraktion der Fettsäuremethylester kräftig geschüttelt. Nach der Trennung der Phasen wurde die obere Phase in neue Gefäße überführt und mit N<sub>2</sub> eingengt. Der Extraktionsschritt wurde wiederholt, die vereinigten Extrakte zur Trockene

eingengt und in 40 µl Isohexan aufgenommen. Alle Chemikalien waren im Reinheitsgrad pro Analysis.

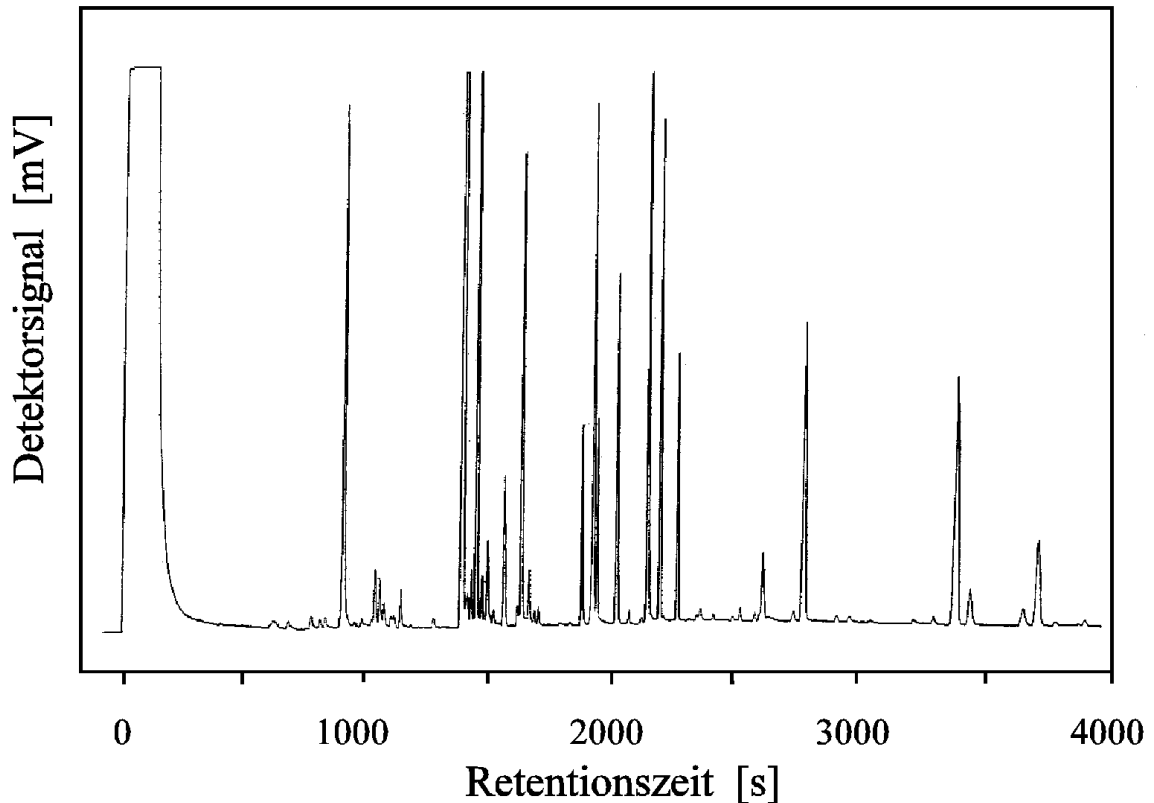
### 2.5.3.3 Gaschromatographie

Für die gaschromatographische Analyse wurden manuell 1-2 µl der Fettsäuremethylester-extrakte bei einem Split von 1:2 aufgegeben; die Detektion erfolgte durch einen Flammenionisationsdetektor (FID).

Zur Analyse wurde ein Gaschromatograph der Firma Carlo Erba (Fractovap Series 2150) benutzt, der mit einer DB 225 Säule (30 m \* 0,25 mm; Schichtdicke 0,25 µm; Firma J&W Scientific products GmbH) ausgestattet war. Die Säulentemperatur betrug zu Beginn jeder Analyse 3 Minuten lang 140 °C und wurde dann mit 2 °C pro Minute auf eine Endtemperatur von 210 °C erhöht, die dann 30 Minuten gehalten wurde.

Als Trägergas wurde Helium (Reinheit: 4.6) benutzt und ein Fluß von 1 ml pro Minute durch die Säule eingestellt. Die Identifizierung der einzelnen Fettsäuremethylester erfolgte durch Vergleich mit den Retentionszeiten von Referenzsubstanzen (37 Komponenten FAME Mischung in Isohexan; Firma SUPELCO) und drei Einzelsubstanzen (C18:1(n-9), C18:4(n-3) und C20:1(n-7)).

In Abbildung 2-4 ist ein Gaschromatogramm der Fettsäuremethylester eines Extraktes einer am 17.05.97 filtrierten Probe des natürlichen Seston der Größenfraktion <30 µm dargestellt.



**Abbildung 2-4** Gaschromatogramm einer Probe aus der Größenfraktion <math><30\ \mu\text{m}</math> des natürlichen Sestons aus dem Bodensee vom 17.05.97. Dargestellt sind die umgeesterten Fettsäuren.

Einzelne Fettsäuren, die größere Retentionszeiten besaßen, wiesen trotz gleich eingesetzter Mengen kleinere Integrationsflächen auf. Daher wurden Responsefaktoren zur Korrektur berechnet:

$$RF_n = \frac{A_n / m_n}{A_{17:0} / m_{17:0}}$$

- $RF_n$  : Response-Korrekturfaktor des n-ten Fettsäuremethylesters  
 $A_n$  : Integrationsfläche des jeweilig bestimmten Fettsäuremethylesters  
 $m_n$  : eingespritzte Masse des jeweiligen Fettsäuremethylesters [ng]  
 $A_{17:0}$  : Integrationsfläche der C17:0, die in den Proben als interner Standard benutzt wurde  
 $m_{17:0}$  : eingespritzte Masse der C17:0 Fettsäure [ng]

Bis zu einer Fettsäurenkettenlänge von 20 Kohlenstoffatomen wurden die Responsefaktoren auf den Methylester der Heptadecansäure (C17:0), bei größeren Kettenlängen auf den Methylester der Tricosansäure (C23:0) bezogen. Zum Ermitteln der Responsefaktoren (Tabelle 2-7) wurden Mittelwerte aus 7 Analysen einer Fettsäurenreferenzmischung (SUPELCO) herangezogen.

**Tabelle 2-7** Responsefaktoren der einzelnen Fettsäuren, berechnet aus 7 Analysen einer Referenzfettsäuremischung.

Fettsäuremethylester	Responsefaktor	Standardabweichung
C13:0	1.00	0.0895
C14:0	1.01	0.0790
C14:1	1.00	0.0661
C15:0	1.02	0.0663
C15:1	0.98	0.0345
C16:0	1.00	0.0305
C16:1	0.97	0.0292
C17:0	1.00	
C17:1	0.97	0.0215
C18:0	0.98	0.0180
C18:1(9)E	0.95	0.1420
C18:1(9)Z/C18:1(6)Z	0.98	0.0498
C18:1(11)	0.98	0.0100
C18:2(9,12)Z,Z	0.86	0.0202
C18:2(9,12)Z,Z	0.88	0.0192
C18:3(6,9,12)	0.78	0.0253
C18:3(9,12,15)	0.77	0.0194
C18:4(6,9,12,15)	0.75	0.0100
C20:0	0.95	0.0184
C20:1(11)	0.94	0.0189
C20:1(13)	0.94	0.0100
C20:2(11,14)	0.83	0.0585
C20:3(8,11,14)	0.74	0.0258
C20:4(5,8,11,14)	0.70	0.0441
C21:0	0.94	0.0316
C20:3(11,14,17)	0.72	0.0256
C20:5(5,8,11,14,17)	0.61	0.0562
C22:0	1.01	0.0135
C22:1(13)	1.00	0.0168
C22:2(13,16)	0.87	0.0326
C23:0	1.00	
C22:6(4,7,10,13,16,19)	0.54	0.0574
C24:0	0.97	0.0283
C24:1	0.94	0.1121

Da die Menge der der Probe zugesetzten internen Standards bekannt war, konnten die Mengen der identifizierten Fettsäuren in den Proben nach folgender Formel berechnet werden:

$$m_n = \frac{A_n}{A_{int}} * \frac{m_{int}}{RF_n}$$

$m_n$ :	Masse des n-ten Fettsäuremethylesters in der Probe
$A_n$ :	Integrationsfläche des n-ten Fettsäuremethylesters
$A_{int}$ :	Integrationsfläche des internen Fettsäuremethylesterstandards
$RF_n$ :	Responsefaktor des n-ten Fettsäuremethylesters
$m_{int}$ :	Zugesetzte Masse der internen Standards: 2000 ng der C17:0 und 2500 ng der C23:0

Die jeweiligen Fettsäurekonzentrationen [ $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ] in den filtrierten Proben konnte man über die Division der Masse der Fettsäuremethylester durch die Filtrationsvolumina und den Gehalt in  $\text{ng} \cdot \text{mgC}^{-1}$  durch Division durch den POC-Gehalt der filtrierten Probe erhalten.

## 2.6 Statistik

Sämtliche statistischen Berechnungen wurden mit STATISTICA, einem Programm der Firma StatSoft Inc. (Version 4.5) durchgeführt. Als Signifikanzniveau wurde  $\alpha=0,05$  gewählt.

## 2.7 Abkürzungen

$E_{max}$ :	maximale Eizahl pro Individuum
g :	somatische Wachstumsrate
$g_{max}$ :	maximale Wachstumsrate
HUFA :	langkettige hoch ungesättigte Fettsäuren (i.D. Regel > C20)
ILL :	incipient limiting level (Sättigungsgrenze)
$K_S$ :	Halbsättigungskonstante der Monodkinetik
n.d. :	nicht detektiert
n.s. :	nicht signifikant
POC :	partikulärer organischer Kohlenstoff, hier in der Regel der <30 $\mu\text{m}$ Fraktion
PON :	partikulärer organischer Stickstoff, hier in der Regel der <30 $\mu\text{m}$ Fraktion
PUFA :	mehrfach ungesättigte Fettsäuren
$P_{part}$ :	partikulärer Phosphor, hier in der Regel der <30 $\mu\text{m}$ Fraktion
$S_0$ :	Schwellenkonzentration für positive Wachstumsraten und Anlage von

Gelegen

±SD : einfache Standardabweichung

**Tabelle 2-8** Nomenklatur und Trivialnamen der Fettsäuren: Die erste Ziffer beschreibt die Kettenlänge, die zweite die Anzahl der Doppelbindungen. In Spalte eins wird mit (n-?) die Position der ersten Doppelbindung bei Zählung vom Methylende der Fettsäure her, bezeichnet. In Spalte drei dagegen werden alle einzelnen Positionen der Doppelbindungen bei Zählung vom Carboxylende her, aufgelistet.

Fettsäure	Trivialnamen	Fettsäuren mit Position der Doppelbindung
C14:0	Myristinsäure	C14:0
C15:0	Pentadecansäure	C15:0
C16:0	Palmitinsäure	C16:0
C16:1	Palmitoleinsäure	C16:1
C17:0	Heptadecansäure	C17:0
C18:0	Stearinsäure	C18:0
C18:1(n-12)/(n-9)	Ölsäure	C18:1(6)Z/C18:1(9)Z
C18:1(n-7)	Ölsäure	C18:1(11)
C18:2(n-6)	Linolsäure	C18:2(9,12)Z, Z
C18:3(n-6)	γ-Linolensäure	C18:3(6,9,12)
C18:3(n-3)	α-Linolensäure	C18:3(9,12,15)
C18:4(n-3)	Stearidonsäure	C18:4(6,9,12,15)
C20:0	Arachinsäure	C20:0
C20:1(n-9)	Eicosensäure	C20:1(11)
C20:1(n-7)	Eicosensäure	C20:1(13)
C20:2(n-6)	Eicosadiensäure	C20:2(11,14)
C20:3(n-6)	Eicosatriensäure	C20:3(8,11,14)
C20:4(n-6)	Arachidonsäure	C20:4(5,8,11,14)
C20:3(n-3)	Eicosatriensäure	C20:3(11,14,17)
C20:5(n-3)	Eicosapentaensäure	C20:5(5,8,11,14,17)
C22:0	Behensäure	C22:0
C22:1(n-9)	Docosensäure	C22:1(13)
C22:2(n-6)	Docosadiensäure	C22:2(13,16)
C22:6(n-3)	Docosahexaensäure	C22:6(4,7,10,13,16,19)
C23:0	Tricosansäure	C23:0
C24:0	Lingnocerinsäure	C24:0
C24:1	Nervonsäure	C24:1



### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Algenzusammensetzung

##### 3.1.1 Elemente

Die Stammkulturen von *Daphnia galeata*, wie auch die neugeborenen Versuchstiere bis zum zweiten Lebenstag wurden bei konstanten Futterkonzentrationen mit *Scenedesmus acutus* aus Chemostaten gefüttert. Neu angeimpfte Chemostaten erreichten in der Regel nach einer Woche das Fließgleichgewicht und lagen in ihren C:N:P-Verhältnissen mit 130:16,5:1 nahe am Redfieldverhältnis (106:16:1) (Goldman et al. 1979). Der partikuläre Kohlenstoffgehalt pendelte sich auf 25 bis 33 mgC\*l<sup>-1</sup> ein (Tabelle 3-1).

Die zur Supplementierung des Sestons benutzte Kultur von *Stephanodiscus hantzschii* erreichte unter Phosphorlimitierung in Chemostaten molare C:N:P-Verhältnisse bis 390:36:1. Die partikulären Kohlenstoffgehalte von 5 mgC\*l<sup>-1</sup> lagen aufgrund der starken Phosphorlimitierung wesentlich unter denen von *Scenedesmus acutus*. Die Chemostatkultur von *S. hantzschii* zeigte jedoch ausgeprägte Dichteschwankungen. Häufig brach die Kultur nach einem Dichtemaximum und der dadurch entstehenden starken Phosphorlimitation zusammen. Zeitweise war es so nicht möglich, stabile phosphorlimitierte *S. hantzschii*-Kulturen aufrecht zu erhalten.

Das ebenfalls zur Supplementierung des natürlichen Sestons verwendete Cyanobakterium *Synechococcus elongatus*, das hierbei vor allem zur Verringerung des C:P-Verhältnisses im Seston führen sollte, zeigte bei der Anzucht in kontinuierlicher Kultur jedoch C:N:P-Verhältnisse, die über dem Redfieldverhältnis lagen.

Dagegen erreichte eine Batchkultur mit *S. elongatus* im höher konzentrierten Cyanomedium in der exponentiellen Phase ein molares C:P-Verhältnis, das unter 70:1 lag. Daher wurde das Cyanomedium auch für die kontinuierliche Kulturen von *S. elongatus* verwendet und dabei ein molares C:N:P-Verhältnis von 84:16:1 erreicht.

**Tabelle 3-1** Partikuläre Nährstoffverhältnisse der Chemostatkulturen in  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . *S. elongatus* wurde anfänglich mit WC- Medium bei verschiedenen Lichtintensitäten und Durchflußraten (D) kultiviert. Eine Umstellung auf Cyanomedium verringerte das molare C:P-Verhältnis.

		$[\text{mgC}\cdot\text{l}^{-1}]$	$[\text{mgN}\cdot\text{l}^{-1}]$	$[\text{mgP}\cdot\text{l}^{-1}]$	C :N :P	C : N
<i>Scenedesmus</i>						
<i>acutus</i>	15.04.97	25,80	3,83	0,513	130:16,5:1	7,9
	10.09.97	33,5	5,65	0,644	134:19:1	6,9
<i>Stephanodiscus</i>						
<i>hantzschii</i>		4,87	0,53	0,033	386:36:1	10,7
<i>Synechococcus</i> <i>elongatus</i>	D=0,35 $[\text{Tag}^{-1}]$					
	( $30\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )	31,78	4,63	0,514	160:20:1	8,0
	( $15\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ):	38,0	8,98	0,713	142:29:1	4,9
	D=0,6 $[\text{Tag}^{-1}]$					
	( $15\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ):	17,6	2,72	0,368	124:16:1	7,6
Batchkultur mit Cyanomedium		113,5	26,3	4,448	66:13:1	5,0
Chemostat mit Cyanomedium		28,8	6,4	0,885	84:16:1	5,3

### 3.1.2 Biochemie

Um außer den Auswirkungen der elementaren auch die der biochemischen Zusammensetzung der Futteralgen auf das Wachstum von *D. galeata* zu untersuchen, wurde die Fettsäurezusammensetzung von *S. acutus*, *S. hantzschii* und *S. elongatus* analysiert. Dabei unterschieden sich die Zusammensetzungen von *S. acutus*, *S. elongatus* und *S. hantzschii* deutlich.

Bei *S. acutus* kam vor allem die dreifach ungesättigte  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) mit annähernd 50 % der Gesamtfettsäuren, die vierfach ungesättigte Stearidonsäure (C18:4(n-3)) mit 6,7 % und die einfach ungesättigte Ölsäure (C18:1) mit 13 % vor (Tabelle 3-2). Der Anteil der doppelt ungesättigten Linolsäure (C18:2(n-2)) an den Gesamtfettsäuren betrug 7,8 % und der aller gesättigten 21,8 %. Von der Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) wurden nur Spuren und die Docosahexaensäure (C22:6(n-6)) nicht detektiert. Die Nachweisgrenze lag bei 20 ng.

*S. elongatus* enthielt 59 % gesättigte und 40 % einfach ungesättigte Fettsäuren, während mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie Linolsäure (C18:2(n-2)),  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Linolensäure (C18:3(n-3) und C18:3(n-6)) nur in Spuren, Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure nicht nachweisbar waren (Tabelle 3-2). Setzt man diesen *S. elongatus* dem natürlichen Seston zu, so sollte ein großes C:P-Verhältnis gesenkt und eine Erhöhung der Konzentration von mehrfach ungesättigten Fettsäuren vermieden werden.

Anders müßte die Situation bei Zugabe von *S. hantzschii* sein, mit der vor allem Eicosapentaensäure zugegeben werden sollte. Das Fettsäurespektrum dieser centralen

Kieselalge setzt sich zu 47,6 % aus einfach ungesättigten Fettsäuren wie Palmitoleinsäure (C16:1(n-7)) und geringeren Mengen Ölsäure zusammen (Tabelle 3-2). Gesättigte Fettsäuren sind mit 28 % und mehrfach ungesättigte mit 24 % aller Fettsäuren vertreten. Einen wesentlichen Bestandteil stellt die Eicosapentaensäure (14,8 %) dar.

Die Menge an Gesamtfettsäuren war bei *S. hantzschii* mit über 300 µg pro mg Kohlenstoff 3,5 bis 4,5 mal höher als bei *S. acutus* (86 µg\*mgC<sup>-1</sup>) und *S. elongatus* (68 µg\*mgC<sup>-1</sup>).

**Tabelle 3-2** Fettsäurezusammensetzung der Chemostatkulturen: *Scenedesmus acutus*, *Synechococcus elongatus* und *Stephanodiscus hantzschii* (n.d. = nicht detektiert). Die Nachweisgrenze lag bei 15-20 ng. Zwischen C18:1(n-12) und C18:1(n-9) wurde nicht unterschieden.

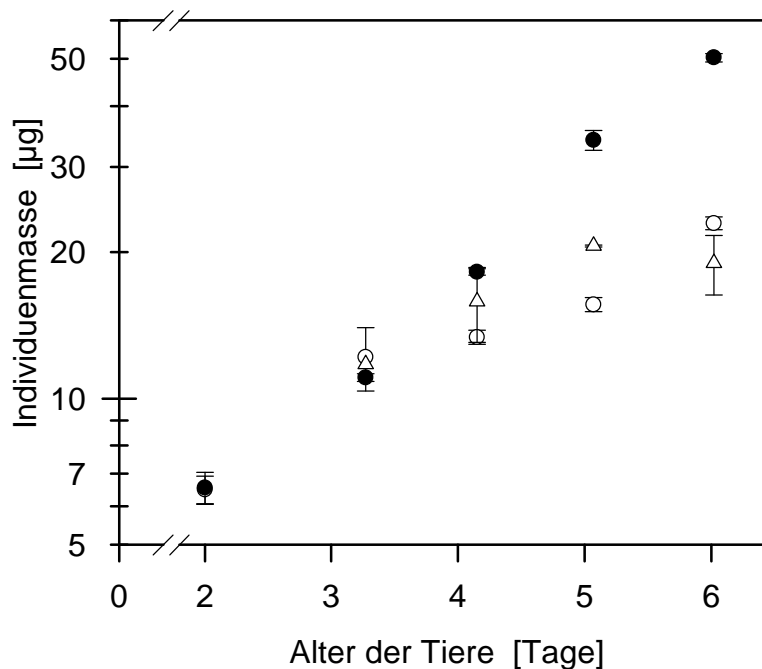
Fettsäure	<i>Scenedesmus acutus</i>		<i>Synechococcus elongatus</i>		<i>Stephanodiscus hantzschii</i>	
	[ng*mgC <sup>-1</sup> ]	([%])	[ng*mgC <sup>-1</sup> ]	([%])	[ng*mgC <sup>-1</sup> ]	([%])
C14:0	954	(1.11)	15195	(22.33)	36521	(12.0)
C15:0	101	(0.12)	232	(0.34)	1109	(0.36)
C16:0	15052	(17.48)	23954	(35.21)	41736	(13.7)
C16:1	467	(0.54)	24291	(35.70)	138465	(45.5)
C18:0	1147	(1.33)	664	(0.98)	5594	(1.84)
C18:1(n-12)/(n-9)	10159	(11.80)	708	(1.04)	3111	(1.02)
C18:1(n-7)	1000	(1.16)	2328	(3.42)	2234	(0.73)
C18:2(n-6)	6722	(7.81)	144	(0.21)	3582	(1.18)
C18:3(n-6)	433	(0.50)	n.d.	n.d.	896	(0.29)
C18:3(n-3)	42450	(49.29)	77	(0.11)	2742	(0.90)
C18:4(n-3)	5745	(6.67)	77	(0.11)	7641	(2.51)
C20:0	n.d.	n.d.	70	(0.10)	424	(0.14)
C20:1(n-9)	240	(0.28)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:1(n-7)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:2(n-6)	18	(0.02)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:3(n-6)	n.d.	n.d.	54	(0.08)	352	(0.12)
C20:4(n-6)	n.d.	n.d.	129	(0.19)	1075	(0.35)
C20:3(n-3)	16	(0.02)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
C20:5(n-3)	42	(0.05)	n.d.	n.d.	45091	(14.8)
C22:0	1107	(1.29)	63	(0.09)	504	(0.17)
C22:1(n-9)	28	(0.03)	n.d.	n.d.	1115	(0.37)
C22:2(n-6)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	644	n.d.
C22:6(n-3)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	11571	(3.80)
C24:0	438	(0.51)	48	(0.07)	143	(0.05)
Gesamtfettsäuren	86119	(100.00)	68035	(100.00)	304551	(100.00)
Summe aller (n-3)	48253	(56.03)	154	(0.23)	67045	(22.0)
Summe aller (n-6)	7173	(8.33)	327	(0.48)	6550	(2.15)
Quotient (n-3)/(n-6)	6.73	(6.73)	0.47	(0.47)	10.24	(10.24)

### 3.2 Einfluß der Vorhälterung und Versuchsdauer

Da die Muttertiere von *Daphnia galeata* ständig unter konstanten Futterkonzentrationen mit  $2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *Scenedesmus acutus* in Durchflußsystemen gehalten wurden, sollten auch die in die Gelege investierten Reserven gleichbleibend sein. In welchem Alter und wie lange die neugeborenen Versuchstiere anschließend unter verschiedenen Futterbedingungen inkubiert werden sollten, um deutliche Wachstumsunterschiede aufgrund verschiedener Futterqualitäten zu beobachten, wurde durch folgendes Experiment untersucht:

Synchronisierte neonate *D. galeata* ( $\pm$  drei Stunden) wurden zwei bzw. drei Tage lang mit  $2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *S. acutus* versorgt. Anschließend wurde  $0,5 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *S. elongatus* als Futter angeboten. In allen Ansätzen zeigten die Tiere während der ersten beiden Tage mit *S. elongatus* als Futter noch schnelles Wachstum, so daß man bei schlechtem Futter bis dahin von einer Zehrung interner Reserven ausgehen kann. An ihrem 6. Lebenstag erreichten die Tiere jedoch nur eine Individuenmasse von  $23 \pm 0,7 \mu\text{g}$  bzw.  $25,8 \pm 2,6 \mu\text{g}$ . Wurde ab dem zweiten Lebenstag statt dessen  $0,5 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *Scenedesmus* angeboten, erreichten die Tiere nach exponentiellem Wachstumsverlauf  $50,3 \pm 1,0 \mu\text{g}$  (Abbildung 3-1). Ebenso waren die Wachstumsraten zwischen zweitem und sechstem Lebenstag der auf *S. acutus* gewachsenen Tiere ( $g=0,514 \pm 0,080 \text{ Tag}^{-1}$ ) doppelt so hoch wie die auf *S. elongatus* ( $g=0,219 \pm 0,084$  bzw.  $0,267 \pm 0,035 \text{ Tag}^{-1}$ ). Nach einer Varianzanalyse (ANOVA) gab es signifikante Unterschiede ( $F(2,3)=224$ ;  $p<0,001$ ). Der post hoc Test nach Scheffe unterschied zwar zwischen den Individuenmassen und Wachstumsraten der auf *S. acutus* und der auf *S. elongatus* gewachsenen Tiere ( $p<0,01$ ) signifikant, jedoch nicht zwischen den beiden Ansätzen auf *S. elongatus*.

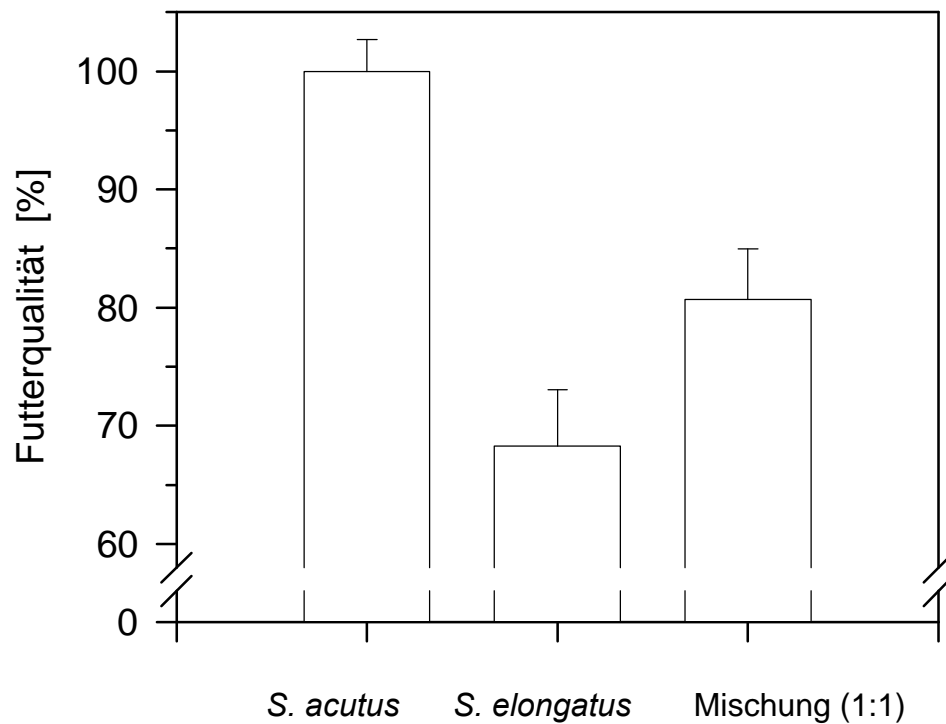
Während die auf der Grünalge gezogenen Cladoceren am 6. Lebenstag alle ihre ersten Gelege mit  $7,7 \pm 0,6$  Eiern anlegten, war die Reproduktion bei den beiden anderen Ansätzen stark herabgesetzt, da nur vereinzelte Gelege mit einem Ei zu finden waren.



**Abbildung 3-1** Veränderung der individuellen Trockenmasse von *Daphnia galeata* nach zweitägiger (○) bzw. dreitägiger (△) Vorhälterung mit  $2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *Scenedesmus acutus* und anschließender Fütterung mit  $0,5 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *Synechococcus elongatus* sowie nach zweitägiger Vorhälterung und Reduzierung auf  $0,5 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *S. acutus* (●). Die Fehlerbalken repräsentieren die einfache Standardabweichung ( $n=2$ ).

### 3.3 Wachstumsexperimente mit Rein- und Mischfutter

Als weiteres Wachstumsexperiment wurden die Wachstumsraten von *D. galeata* bei Verfütterung von gleichen Kohlenstoffkonzentrationen von *S. acutus*, *S. elongatus* und einer aus je 50 % beider Algen bestehenden Mischung ausgeführt. Während einer Wachstumsperiode von vier Tagen erreichte *Daphnia galeata* bei Fütterung mit  $0,285 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  *Scenedesmus* Wachstumsraten von  $0,340 \pm 0,010 \text{ Tag}^{-1}$  (Mittelwerte aus drei Replikaten). Bei annähernd gleichen Kohlenstoffkonzentrationen von  $0,291 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  mit reiner *Synechococcus* bzw.  $0,287 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  mit dem Mischansatz wurden nur Wachstumsraten von  $68,3 \pm 4,8 \%$  bzw.  $80,7 \pm 4,3 \%$  derer des Ansatzes mit *Scenedesmus* bestimmt (Abbildung 3-2). Die Futterqualitäten unterschieden sich alle signifikant (ANOVA;  $F(2,6)=48$ ;  $p<0,001$ ; Scheffe post hoc Test:  $p<0,05$ ).



**Abbildung 3-2** Futterqualität von *Scenedesmus acutus*, *Synechococcus elongatus* und einer Mischung aus je 50 % beider Algen, bezogen auf *S. acutus*. D.h., *S. acutus* ist als 100 % Futterqualität definiert. Die Fehlerbalken repräsentieren die einfache Standardabweichung (n=3).

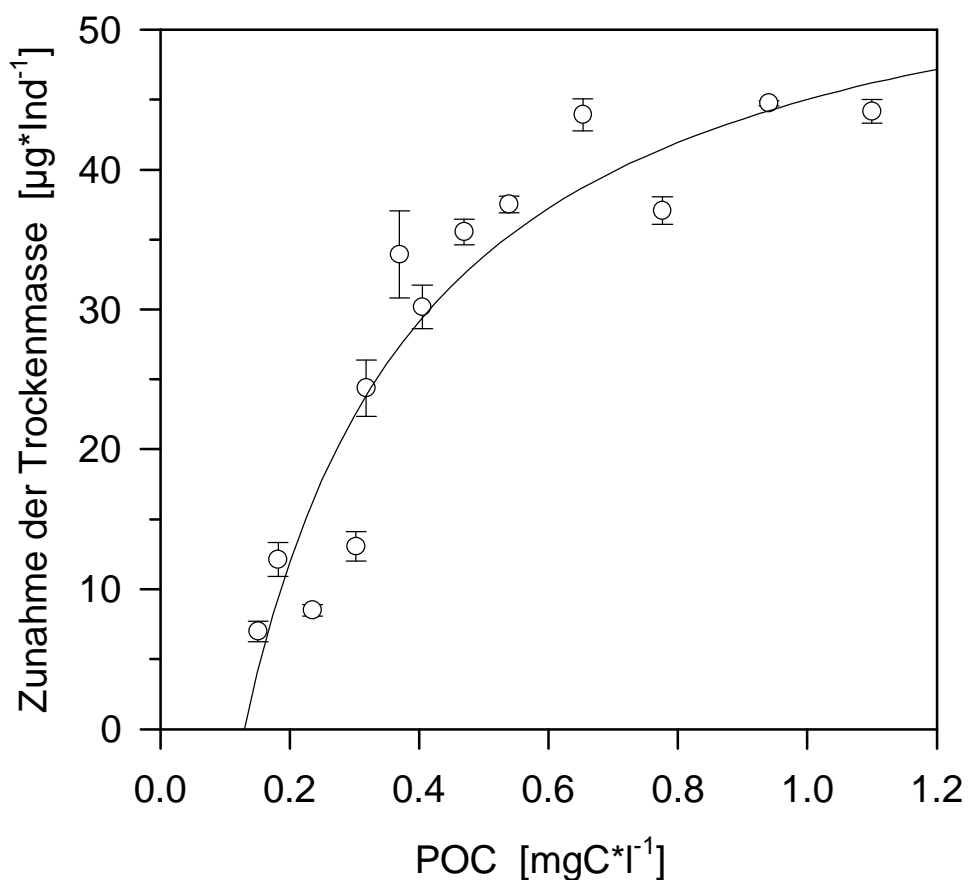
### 3.4 Abhängigkeit des Wachstums von *D. galeata* bei Verfütterung definierten Standardfutters

*S. acutus* wurde in mehreren Kohlenstoffkonzentrationen an die Daphnien verfüttert, um die Abhängigkeit des Wachstums von der Nahrungskonzentration zu untersuchen. Dabei wurde die individuelle Trockenmasse vor und nach viertägiger Fütterung mit währenddessen gleichbleibenden Kohlenstoffkonzentrationen bestimmt.

Bei geringen Kohlenstoffkonzentrationen ist die Differenz der Trockenmassen noch stark von der Futterkonzentration abhängig. Bei höheren Konzentrationen nähert sich das Wachstum einem Plateau. Ein solches durch steilen Anfangsanstieg ausgezeichnetes Verhalten, welches sich dann langsam einem Plateau nähert, kann gut mit einer Monodkinetik verglichen werden, welche hier durch die Einführung einer Schwellenkonzentration für Nullwachstum modifiziert wurde (Abbildung 3-3).

$$g = g_{\max} * \frac{c - S_0}{c - S_0 + K_S}$$

- $g_{\max}$  : maximale Wachstumsrate [ $\text{Tag}^{-1}$ ], Trockenmassendifferenz [ $\mu\text{g}$ ] oder Gelegegröße [Eier pro eitragendem Tier]  
 $c$  : Konzentration des Futters [ $\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ]  
 $S_0$  : Schwellenwert für Nullwachstum [ $\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ]  
 $K_S$  : Monodkonstante [ $\text{mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ]



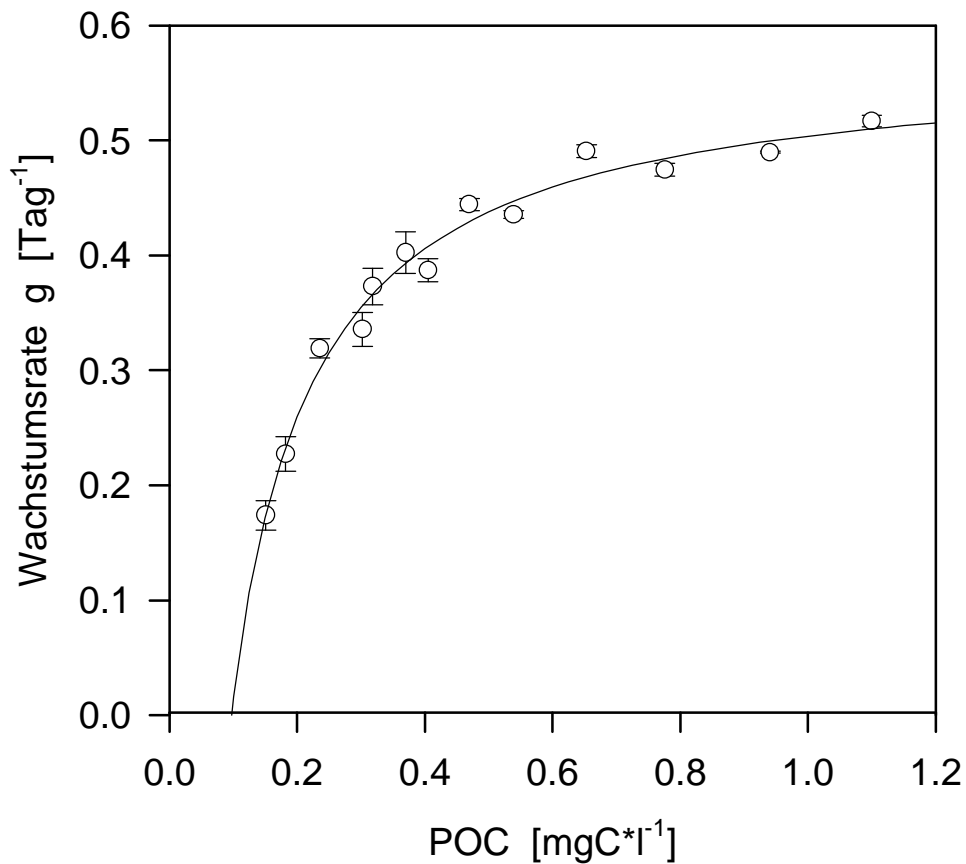
**Abbildung 3-3** Zunahme der Trockenmassen von *Daphnia galeata* in Abhängigkeit von der Kohlenstoffkonzentration der verfütterten *Scenedesmus acutus* (o). Die Regressionslinie ist nach dem Monodmodell berechnet ( $g_{\max}=59,7 \mu\text{g}$  ;  $S_0=0,129 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  ;  $K_S=0,284 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  ;  $r^2=0,88$  ;  $p<0,001$ ). Die Fehlerbalken repräsentieren die einfache Standardabweichung ( $n=3$ ).

Eine auf dieser modifizierten Monodkinetik beruhende nichtlineare Regression konnte 88% der Varianz der Daten erklären ( $g_{\max}=59,7 \mu\text{g}$  ;  $S_0=0,129 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  ;  $K_S=0,284 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  ;

$p < 0,001$ ). Da die Wachstumsdaten sukzessiv gesammelt wurden, gibt es unterschiedliche Anfangswerte der Individuenmassen, wodurch sich die Abweichungen von der Regression erklären lassen. Daher wurden die somatischen Wachstumsraten berechnet, die unabhängig von der anfänglichen Individuenmasse sind. Bei der Darstellung dieser somatischen Wachstumsraten versus partikuläre Kohlenstoffkonzentration (POC) erhält man nach anfänglich starkem Anstieg eine deutliche Sättigungskurve, die sich hervorragend durch die Monodkinetik beschreiben läßt (Abbildung 3-4). Der ILL (incipient limiting level) könnte im Bereich von  $0,6 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  liegen und ist wegen des Sättigungsverhaltens schwer abzuschätzen. Der hochsignifikanten Regression ( $r^2=0,97$ ;  $p < 0,001$ ) nach dem Monodmodell kann man eine maximale Wachstumsrate von  $0,574 \text{ Tag}^{-1}$  und einen Halbsättigungswert von  $0,126 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  entnehmen. Die Schwellenkonzentration für das Nullwachstum wurde auf  $0,096 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  extrapoliert.

Die Gelegegrößen der eiträgenden Tiere verhielten sich, wenn auch mit größerer Streuung, ähnlich. Die nichtlineare Regression lieferte eine maximale Gelegegröße von 10,5 Eiern je Tier und eine Halbsättigungskonzentration von  $0,19 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  ( $r^2=0,85$  ;  $p < 0,001$ ). Für die Reproduktion konnte eine Schwellenkonzentration von  $0,145 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  abgeschätzt werden, die über jener der somatischen Wachstumsraten lag (ohne Abbildung).





**Abbildung 3-4** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* in Abhängigkeit von der Kohlenstoffkonzentration der verfütterten *Scenedesmus acutus* (o). Die Regressionslinie ist nach dem Monodmodell berechnet ( $g_{\max}=0,574 \text{ Tag}^{-1}$ ,  $S_0=0,096 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  $K_S=0,126 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ,  $r^2=0,97$ ;  $p<0,001$ ). Die Fehlerbalken repräsentieren die einfache Standardabweichung ( $n=3$ ).

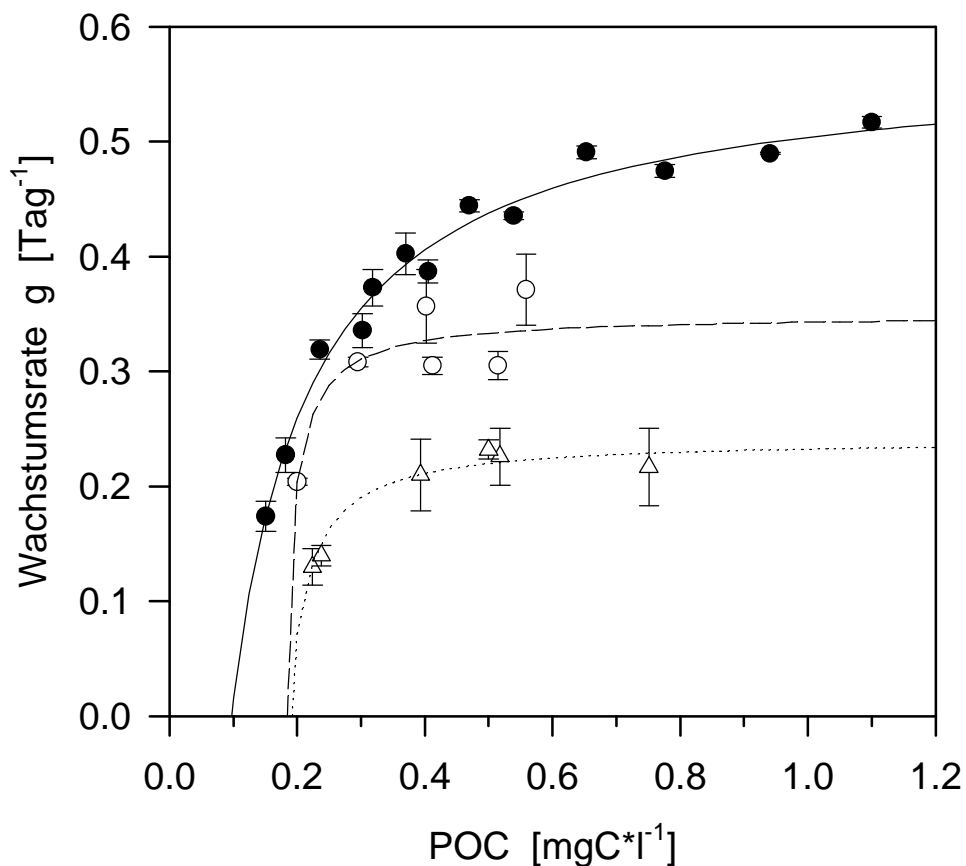
### 3.5 Wachstum bei Verfütterung von *S. hantzschii* und *S. elongatus*

Bei der Fütterung gleicher Kohlenstoffkonzentrationen verschiedener Algen wurden unterschiedliche Wachstumsraten der Daphnien erzielt (Kapitel 3.3). Die Algen besaßen also auf ihren Kohlenstoffgehalt bezogen unterschiedliche Futterqualität für die Daphnien.

Die Wachstumsraten von *D. galeata*, denen vier Tage lang der phosphorreiche, aber an ungesättigten Fettsäuren arme *S. elongatus* gefüttert wurde, waren deutlich geringer als bei den entsprechenden Kohlenstoffkonzentrationen von *S. acutus*. Über die nicht lineare Regression wurde eine maximale Wachstumsrate  $g_{\max}$  mit  $0,241 \text{ Tag}^{-1}$  und ein  $K_S$  von

0,013 mgC\*l<sup>-1</sup> bei einem r<sup>2</sup> von 0,79 und p<0,05 ermittelt. Der Schwellenwert für das Nullwachstum betrug bei *S. elongatus* das Doppelte dessen der mit *S. acutus* gefütterten Daphnien (Abbildung 3-5).

Erstaunlicherweise wuchsen die Daphnien bei Fütterung mit der an Phosphor verarmten, aber sehr viel Eicosapentaensäure (EPA) enthaltenden *S. hantzschii* zwar besser als mit *S. elongatus*, aber immer noch deutlich schlechter als mit dem an EPA armen *S. acutus*. Die maximale Wachstumsrate (0,349 Tag<sup>-1</sup>) und die Halbsättigungskonstante (0,15 mgC\*l<sup>-1</sup>) konnte nicht signifikant bestimmt werden (Abbildung 3-5).



**Abbildung 3-5** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* in Abhängigkeit der partikulären Kohlenstoffkonzentration (POC) der verfütterten Algen: *Scenedesmus acutus* (●); *Stephanodiscus hantzschii* (○); *Synechococcus elongatus* (Δ). Die Regressionslinien wurden nach dem Monodmodell berechnet (für *S. acutus*:  $g_{\max}=0,574 \text{ Tag}^{-1}$ ,  $S_0=0,096 \text{ mgC*l}^{-1}$ ,  $K_S=0,126 \text{ mgC*l}^{-1}$ ,  $r^2=0,97$ ;  $p<0,001$ ; für *S. elongatus*:  $g_{\max}=0,241 \text{ Tag}^{-1}$ ,  $K_S=0,013 \text{ mgC*l}^{-1}$ ,  $r^2=0,79$  und  $p<0,05$  und für *S. hantzschii*: nicht signifikant). Die Fehlerbalken repräsentieren die einfache Standardabweichung (n=3).

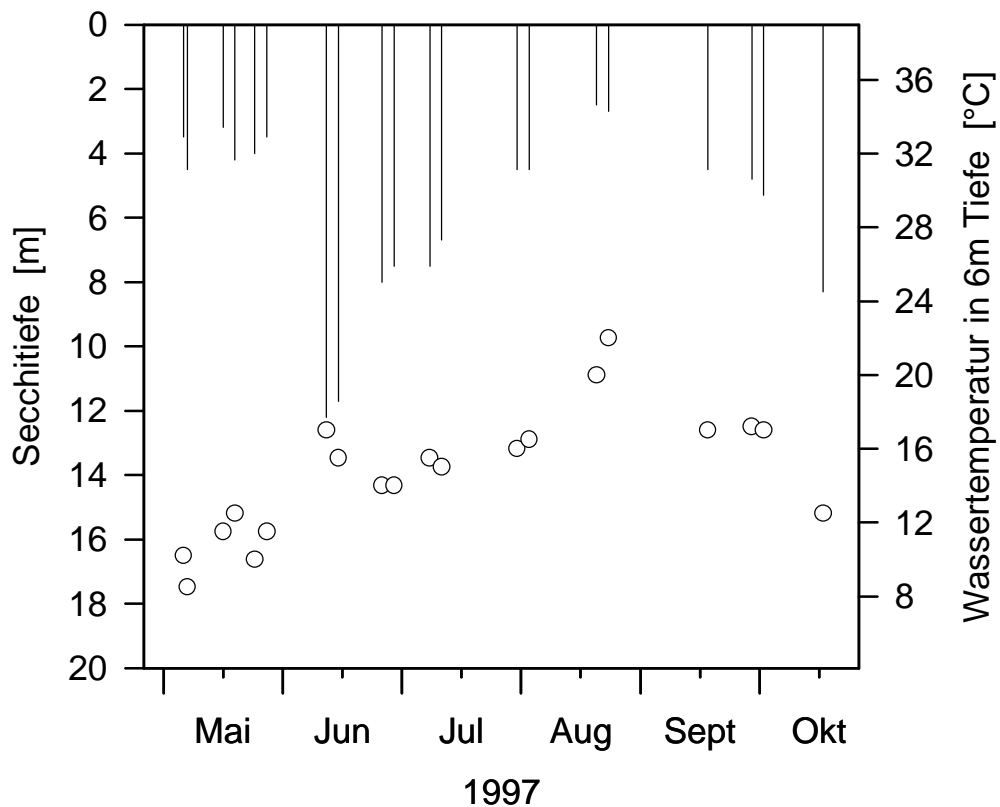
### 3.6 Wachstumsversuche mit natürlichem Seston

#### 3.6.1 Saisonale Entwicklung

##### 3.6.1.1 Sichttiefe und Wassertemperatur

Mit der ersten Probenahme wurde am 4. Mai 1997 während der Frühlingsblüte begonnen. Die Sichttiefe betrug zu diesem Zeitpunkt nur 3,5 m und die Temperatur in 6 m Wassertiefe 10 °C. Sowohl die Temperatur als auch die Secchitiefe schwankten in den darauffolgenden Tagen, da durch Frühlingsstürme die Wassersäule in ihrer Schichtung gestört wurde.

Im weiteren Verlauf stieg die Temperatur an und erreichte Mitte August maximale Werte von 22 °C. Die Sichttiefe erreichte am 11. Juni 1997 mit 12,5 m einen Höchstwert in der Klarwasserphase und verringerte sich bis zur sommerlichen Phytoplanktonblüte Mitte August auf ein Minimum von 2,5 m (Abbildung 3-6).

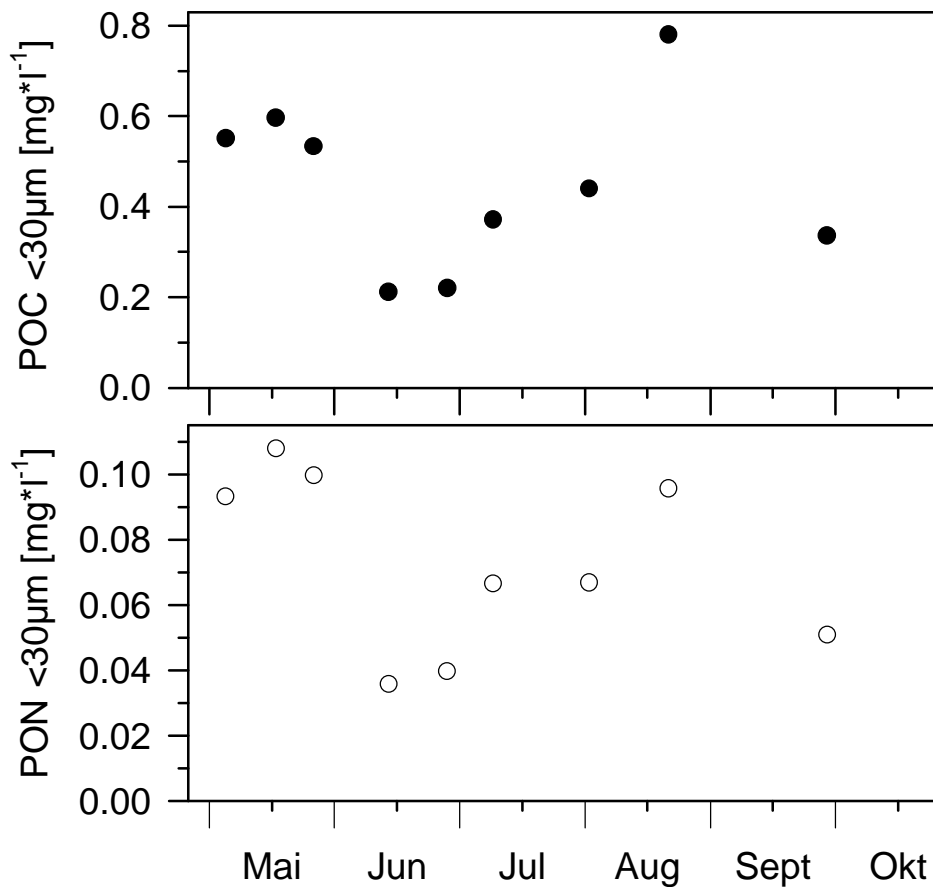


**Abbildung 3-6** Zeitlicher Verlauf der Secchitiefe (|) und der Wassertemperatur in 6 m Tiefe (o) während des Zeitraumes der Probenahme.

### 3.6.1.2 Saisonaler Verlauf partikulärer Meßgrößen im Seston

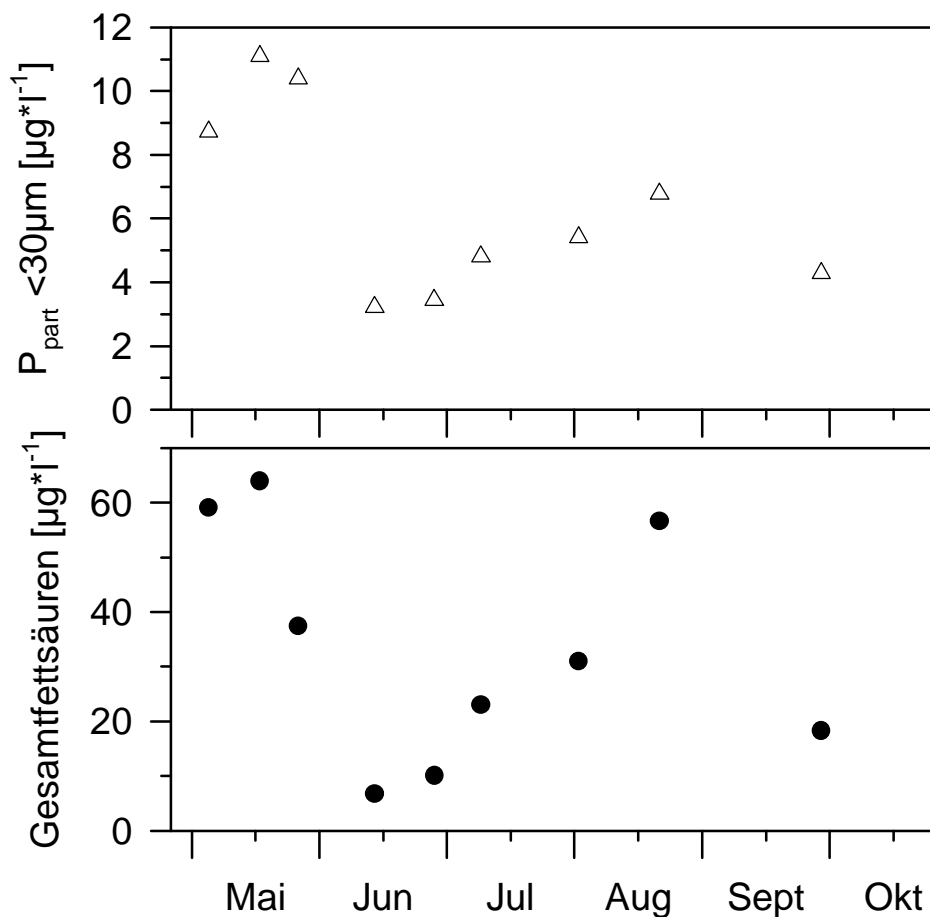
Die Konzentration an partikulärem Kohlenstoff und Stickstoff (POC und PON) wurde aus der Größenfraktion 0,7-30  $\mu\text{m}$ , dem für *Daphnia galeata* freißbaren Bereich, bestimmt. Während der Frühjahrsblüte traten für POC <30  $\mu\text{m}$  maximale Konzentrationen von 0,60  $\text{mgC}\cdot\text{l}^{-1}$  auf. Der POC-Gehalt nahm in der Klarwasserphase auf 0,21  $\text{mgC}\cdot\text{l}^{-1}$  ab und stieg im Sommer mit 0,78  $\text{mgC}\cdot\text{l}^{-1}$  auf ein Maximum an (Abbildung 3-7).

Die PON- Konzentration zeigte einen ähnlichen Verlauf mit einer Konzentration von 0,10  $\text{mgN}\cdot\text{l}^{-1}$  im Frühjahr, 0,035  $\text{mgN}\cdot\text{l}^{-1}$  im Klarwasserstadium und 0,096  $\text{mgN}\cdot\text{l}^{-1}$  im Hochsommer (Abbildung 3-7).



**Abbildung 3-7** Zeitlicher Verlauf der partikulären Kohlenstoff- (●) und partikulären Stickstoffkonzentration (o) in der Größenfraktion <30  $\mu\text{m}$  des natürlichen Sestons <30  $\mu\text{m}$ .

Auch bei der Konzentration des partikulären Phosphors, die in der Größenfraktion von 0,2-30  $\mu\text{m}$  des Sestons bestimmt wurde, zeichnete sich die Frühlingsblüte durch eine hohe Konzentration von  $11 \mu\text{gP}\cdot\text{l}^{-1}$  deutlich ab. Diese sank in der Klarwasserphase zunächst auf  $3,2 \mu\text{gP}\cdot\text{l}^{-1}$  und stieg bis zum Hochsommer nur langsam auf  $6,8 \mu\text{gP}\cdot\text{l}^{-1}$  an (Abbildung 3-8). Im Vergleich zu POC, PON und  $\text{P}_{\text{part}}$ , die nur um den Faktor 2,9-3,7 schwankten, variierte die Summe der im Seston  $<30 \mu\text{m}$  gefundenen Fettsäuren während der Zeitspanne der Probenahmen um den Faktor 9,5. In der Frühlingsblüte wurden  $64 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  gemessen, die in der Klarwasserphase drastisch auf  $6,7 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  reduziert waren (Abbildung 3-8). Bis Mitte August stieg der Fettsäuregehalt dann wieder auf  $57 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  an.



**Abbildung 3-8** Zeitlicher Verlauf der Konzentration an partikulärem Phosphor ( $\Delta$ ) und der Gesamtfettsäuren ( $\bullet$ ) in der Größenfraktion  $<30 \mu\text{m}$  des natürlichen Sestons.

### 3.6.1.3 Wachstumsraten der Versuchstiere

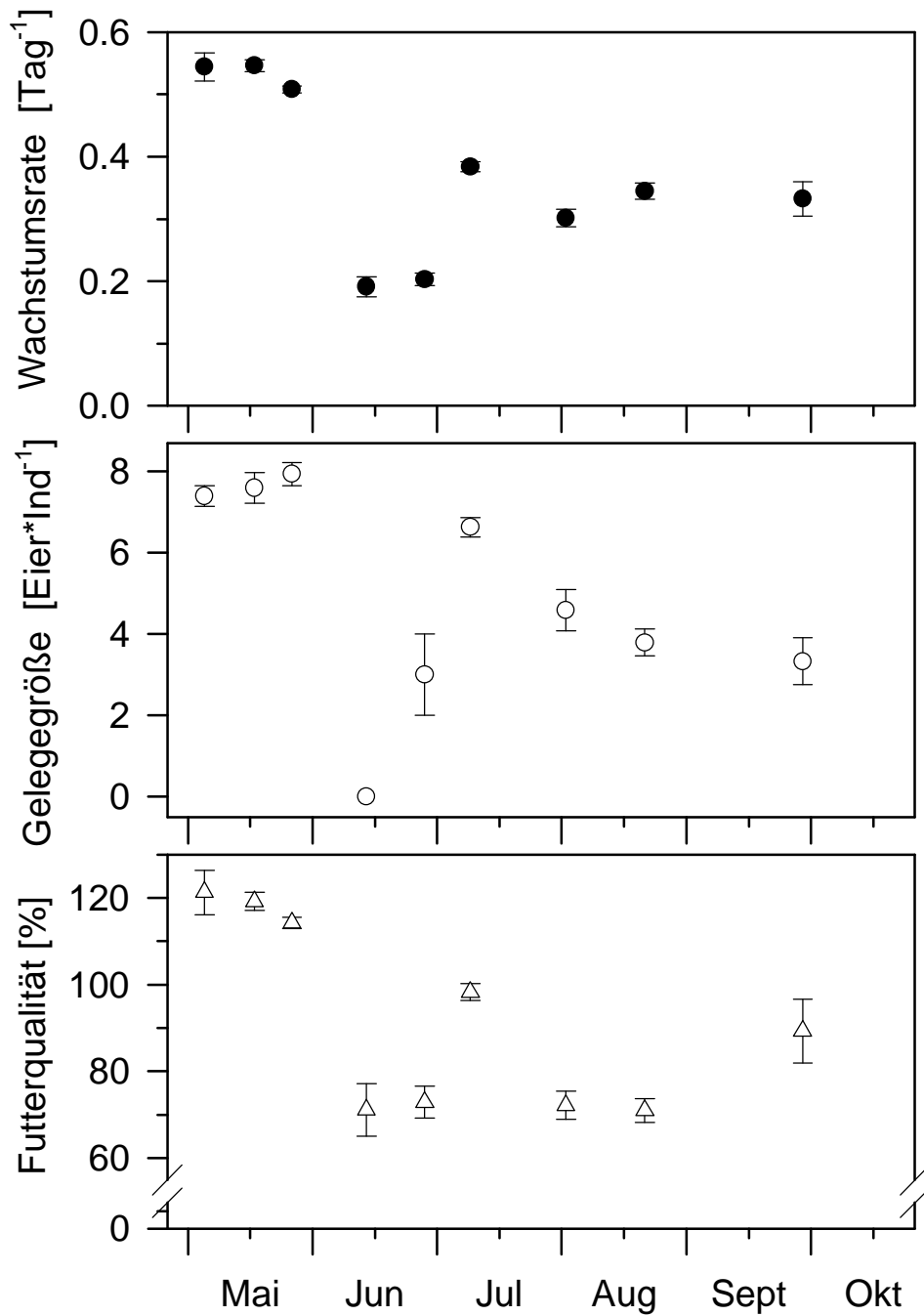
Betrachtet man die somatischen Wachstumsraten von *Daphnia galeata*, die in den Wachstumsexperimenten zu entsprechenden Zeitpunkten mit natürlichem Seston <30 µm gefüttert wurden, so zeigt sich auch dort eine ausgeprägte Saisonalität (Abbildung 3-9). Im Frühjahr konnten von den Daphnien bei hoher POC-Konzentration Wachstumsraten bis zu 0,56 Tag<sup>-1</sup> erreicht werden. Während des Klarwasserstadiums waren nur Wachstumsraten von 0,17 bis 0,2 Tag<sup>-1</sup> möglich. Von Anfang Juli bis Ende September wurden trotz hoher POC-Konzentration des verfütterten Sestons nur moderate Wachstumsraten im Bereich 0,3 - 0,4 Tag<sup>-1</sup> erzielt.

Die Gelegegrößen der Versuchstiere spiegelten den zeitlichen Verlauf der Wachstumsraten wider (Abbildung 3-9).

### 3.6.1.4 Futterqualität

Die in Abbildung 3-9 dargestellten somatischen Wachstumsraten sind außer von der Qualität auch von der Quantität des jeweils vorhandenen Sestons abhängig. Um diese Abhängigkeit von der Futterkonzentration zu eliminieren, wurden die ermittelten Wachstumsraten auf das Wachstum bezogen, das bei gleicher Futterkonzentration mit einer Referenzfütteralge (*S. acutus*) aus einer Laborkultur erzielt wurde. Der Quotient aus diesen beiden Wachstumsraten beschreibt die Futterqualität als relatives Maß, dessen saisonaler Verlauf sich deutlich von dem der Wachstumsraten unterscheidet:

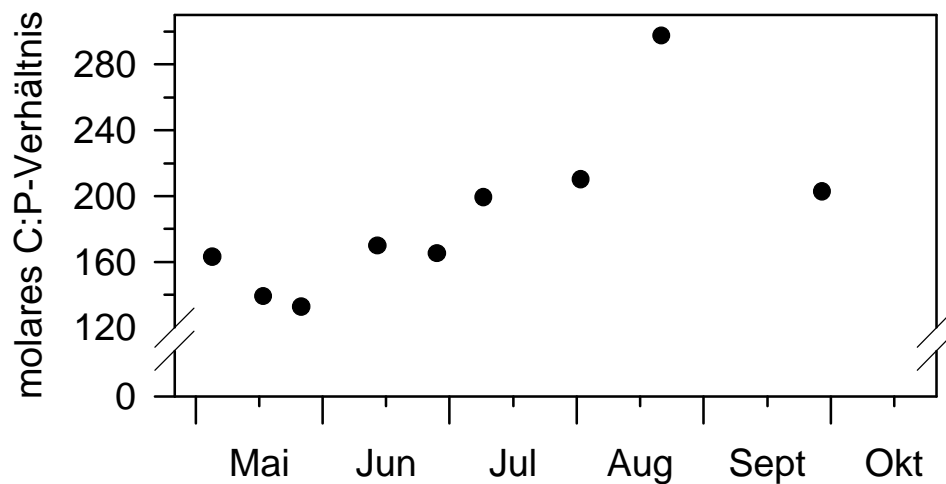
In der Frühjahrsblüte betrug die Futterqualität für *Daphnia galeata* z.T. über 120 % (Abbildung 3-9). In der Klarwasserphase sank die Futterqualität auf 71 %, erreichte Anfang Juli bei gleichzeitigem Anstieg der Wachstumsraten annähernd 100 %, um anschließend erneut auf 70 % abzufallen, obwohl die Wachstumsraten weniger reduziert wurden. Erst Ende September stieg sie wieder an, vor allem da die POC-Konzentration geringer wurde, die Wachstumsraten jedoch annähernd gleich blieben.



**Abbildung 3-9** Zeitlicher Verlauf der somatischen Wachstumsraten (●) und Gelegegrößen (○) von *Daphnia galeata*, bei Verfütterung von natürlichem Seston  $<30 \mu\text{m}$  ( $\pm\text{SD}$ ;  $n=3$ ). Die Futterqualität des Sestons ( $\Delta$ ) wurde durch den Quotienten von erreichter Wachstumsrate der Daphnien auf Seston und der bei gleicher POC- Konzentration auf *Scenedesmus acutus* erzielten Wachstumsrate berechnet.

### 3.6.1.5 C : P- und $\omega$ -Linolensäure : P - Verhältnisse

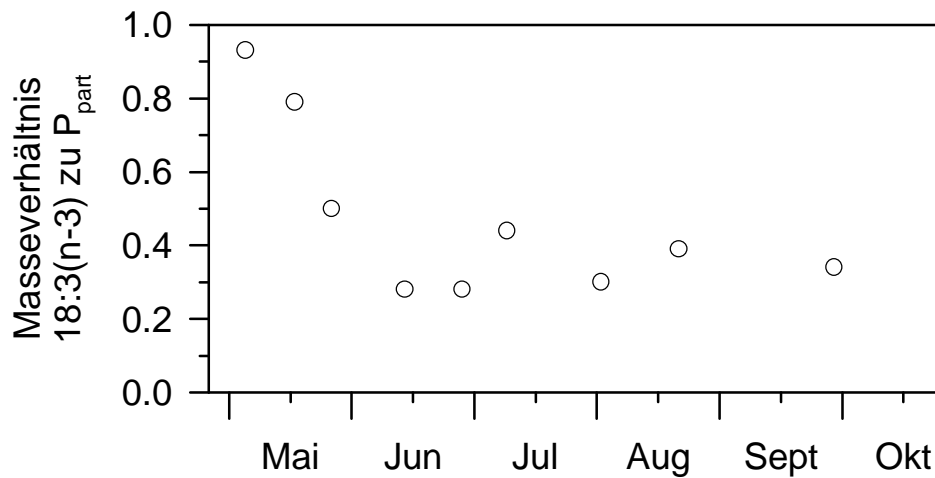
Aus den POC und  $P_{\text{part}}$ -Konzentrationen lassen sich die molaren C:P-Verhältnisse berechnen. Das molare C:P-Verhältnis lag während der Frühjahrsblüte in der Größenfraktion  $<30 \mu\text{m}$  des Sestons bei 140:1 und stieg dann allmählich bis zum Sommer auf 210:1 an (Abbildung 3-10). Mitte August erreichte es dann ein Maximum mit 300:1 und fiel anschließend wieder ab. Während der hohen C:P-Verhältnisse im August kann mit Phosphorlimitation der Daphnien gerechnet werden.



**Abbildung 3-10** Zeitlicher Verlauf der C:P - Verhältnisse in der Größenfraktion  $<30 \mu\text{m}$  des Sestons (●).

Betrachtet man den saisonalen Verlauf der Futterqualität unter dem Aspekt einer eventuellen Beteiligung von essentiellen Fettsäuren an einer Limitation der Daphnien durch Futterqualität, kann man analog zum C:P-Verhältnis einen Quotienten der bei den meisten Tieren essentiellen  $\omega$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) und dem partikulären Phosphor bilden. Die Futterqualität (Abbildung 3-9) folgt der Saisonalität dieses Quotienten relativ gut (Abbildung 3-11).





**Abbildung 3-11** Zeitlicher Verlauf des Verhältnisses der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) und dem partikulären Phosphor (o) in der Größenfraktion  $<30 \mu\text{m}$  des Sestons.

### 3.6.2 Korrelative Betrachtung

#### 3.6.2.1 Lineare Abhängigkeit oder Sättigungsverhalten ?

Zwischen den Wachstumsraten der zu verschiedenen Zeitpunkten mit natürlichem Seston  $<30 \mu\text{m}$  gefütterten Daphnien und den analysierten Meßgrößen des Sestons wurden Korrelationen berechnet. Zur Übersicht wurden lineare Korrelationen herangezogen (Tabelle 3-3). Die Meßdaten aus dem Untersee-Gnadensee wurden vorerst nicht berücksichtigt, aber in den Abbildungen dargestellt, da sie in Kapitel 3.6.4 behandelt werden. Die Wachstumsraten korrelieren zwar signifikant, aber nur schwach mit POC, PON und  $P_{\text{part}}$ . Dagegen war die Abhängigkeit von den Gesamtfettsäuren, vor allem der Linolsäure (C18:2(n-6)) und der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) mit einem Bestimmtheitsmaß von  $r^2=0,87$  bzw.  $0,84$  relativ gut.

**Tabelle 3-3** Lineare Korrelationen der Wachstumsraten von *D. galeata* mit verschiedenen Meßgrößen des natürlichen Sestons <30 µm (n=27). Steigungen für POC, PON und P<sub>part</sub> in [10<sup>-3</sup>l\*Tag<sup>-1</sup>\*mg<sup>-1</sup>], für die Fettsäuren in [10<sup>-3</sup>l\*Tag<sup>-1</sup>\*ng<sup>-1</sup>] (n.s.= nicht signifikant). Die Daten aus dem Untersee wurden nicht berücksichtigt.

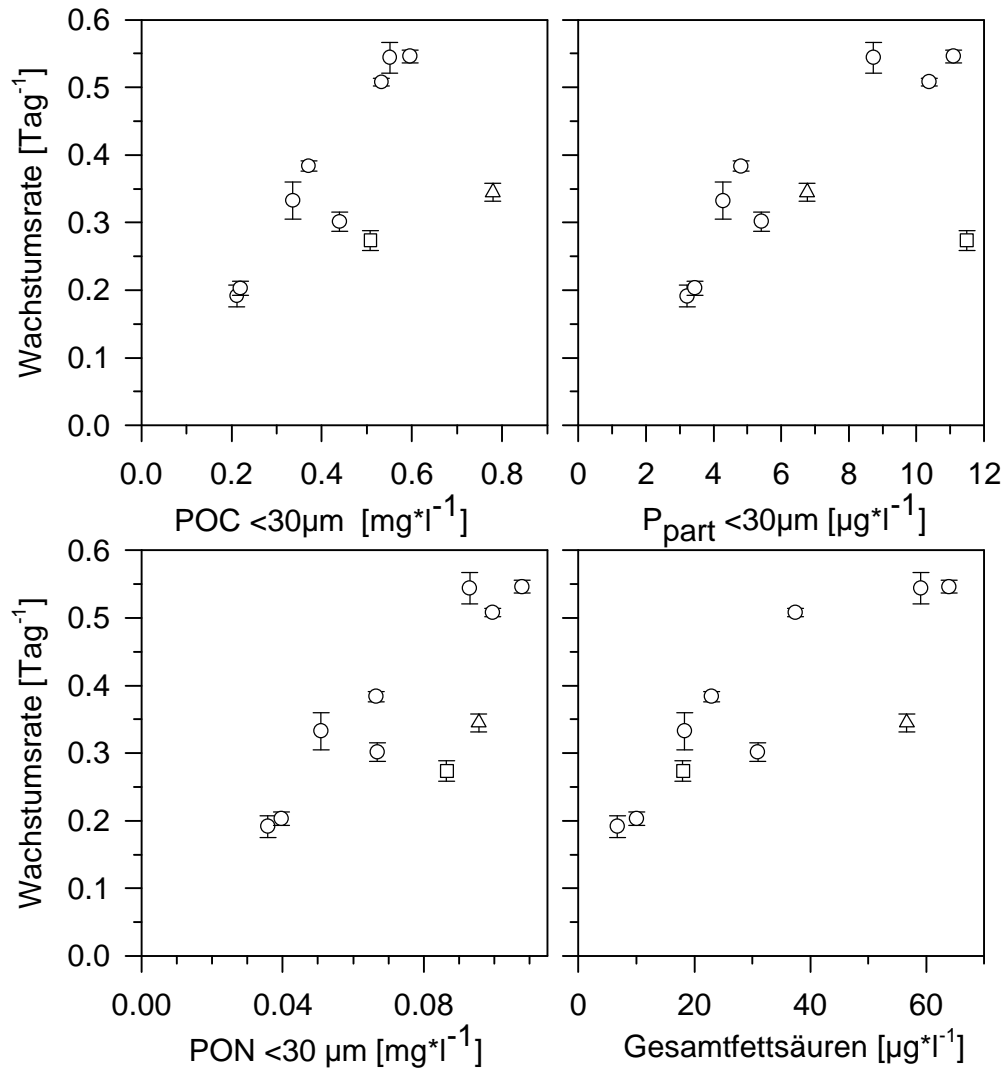
	r <sup>2</sup>	p	y-Achsen- abschnitt [Tag <sup>-1</sup> ]	Steigung
POC	0.42	<0.001	0.159	475
PON	0.78	<0.001	0.050	4426
P <sub>part</sub>	0.84	<0.001	0.101	0.042
C14:0	0.40	<0.001	0.245	0.037
C15:0	0.37	<0.01	0.187	0.811
C16:0	0.71	<0.001	0.182	0.028
C16:1	0.18	<0.05	0.301	0.017
C18:0	0.62	<0.001	0.128	0.217
C18:1(n-12)/(n-9)	0.76	<0.001	0.180	0.247
C18:1(n-7)	0.14	n.s. 0.06	0.324	0.014
C18:2(n-6)	0.87	<0.001	0.209	0.091
C18:3(n-6)	0.04	n.s. 0.33	0.336	0.291
C18:3(n-3)	0.84	<0.001	0.229	0.041
C18:4(n-3)	0.83	<0.001	0.198	0.063
C20:0	0.22	<0.05	0.255	1.250
C20:1(n-9)	0.02	n.s. 0.53	0.347	0.239
C20:2(n-6)	0.45	<0.001	0.168	2.157
C20:3(n-6)	0.50	<0.001	0.320	2.143
C20:4(n-6)	0.68	<0.001	0.212	0.316
C20:5(n-3)	0.72	<0.001	0.214	0.057
C22:0	0.08	n.s. 0.15	0.307	0.529
C22:1(n-9)	0.00	n.s. 0.99	0.373	0.003
C22:2(n-6)	0.56	<0.001	0.313	5.498
C22:6(n-3)	0.46	<0.001	0.242	0.069
C24:0	0.00	n.s. 0.96	0.375	-0.021
Gesamtfettsäuren	0.654	<0.001	0.200	0.005
Summe aller (n-3)	0.802	<0.001	0.206	0.015
Summe aller (n-6)	0.841	<0.001	0.198	0.068

### 3.6.2.2 Ressourcennutzung nach dem Monodmodell

Ein lineares Modell beschreibt die Abhängigkeit der Wachstumsraten der Daphnien von Nahrungsinhaltsstoffen ziemlich schlecht, da die Regressionslinien durch positive Y-Abschnitte Wachstum bei Nullressourcenkonzentrationen vorhersagen. Weiterhin wurde bereits bei der Verfütterung der Kulturalgen ein deutliches Sättigungsverhalten der Wachstumsraten bei zunehmender Nahrungskonzentration beobachtet, das sich sehr gut mit einer Monodkinetik beschreiben ließ (Kapitel 3.4).

Daher wurde die Monodkinetik auch hier als nichtlineares Regressionsmodell benutzt. Die Varianz der Wachstumsraten ließ sich weder durch POC, PON noch durch P<sub>part</sub> erklären, da

sich die durch die nichtlineare Korrelation errechneten Halbsättigungskonstanten als nicht signifikant erwiesen (Tabelle 3-3 und Tabelle 3-4). Da aber gerade die Halbsättigungskonstante  $K_S$  das Sättigungsverhalten charakterisiert, ist das Monodmodell für diese stark streuenden Daten wenig sinnvoll (Abbildung 3-12).



**Abbildung 3-12** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) als Funktion partikulärer Summenparameter des verfütterten Sestons  $<30\ \mu\text{m}$  während der Versuchsperiode (o); besonders gekennzeichnet sind die Werte für die Hochsommersituation ( $\Delta$ ) und den Untersee ( $\square$ ). Die entsprechenden Parameter der linearen bzw. nichtlinearen Korrelationen können der Tabelle 3-3 und Tabelle 3-4 entnommen werden.

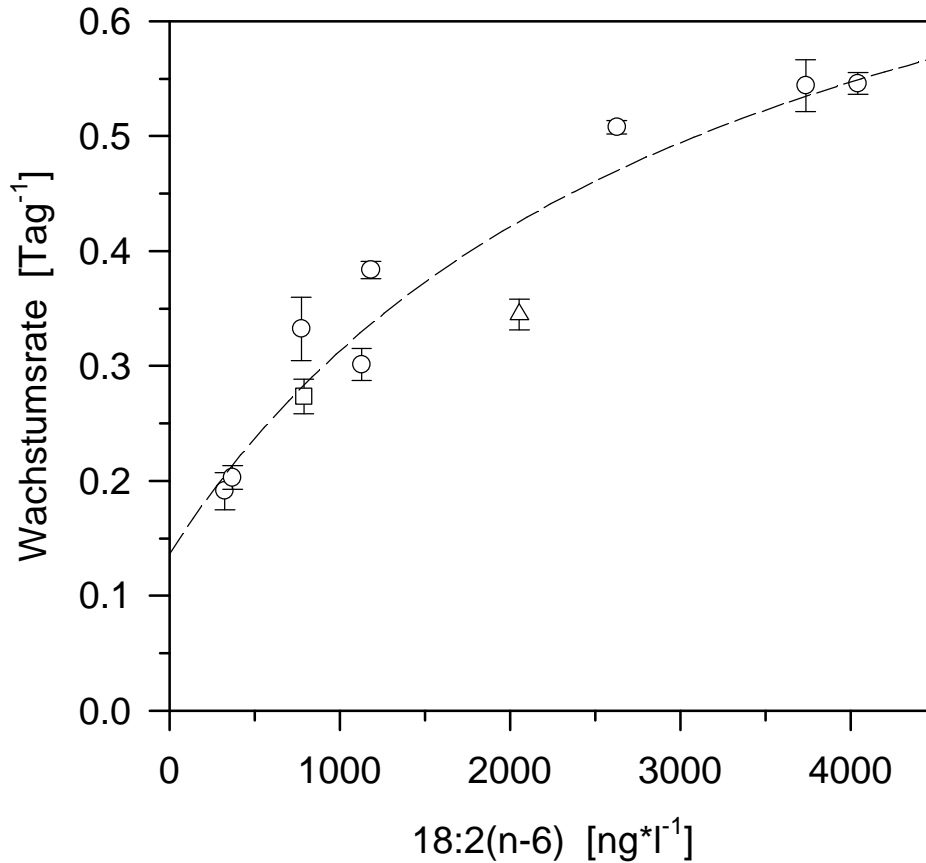
**Tabelle 3-4** Regression der Wachstumsraten von *D. galeata* mit einzelnen Meßgrößen des natürlichen Sestons < 30µm nach dem Monodmodell (n=27):  $g = g_{\max} \cdot (c - S_0) / (c - S_0 + K_S)$ .  $S_0$  und  $K_S$  bei POC und PON in [ $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ], bei  $P_{\text{part}}$  in [ $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ] und bei den Fettsäuren in [ $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ] (n.s.= nicht signifikant). Die Daten aus dem Untersee wurden nicht berücksichtigt.

	$r^2$	$g_{\max}$ [ $\text{Tag}^{-1}$ ]	$S_0$	$K_S$	p ( $K_S$ )
POC	0.60	0.547	0.167	0.089	n.s. 0.20
PON	0.71	(665000)	0	(219000)	n.s.
PP	0.86	0.86	1.5	5.6	n.s.
C14:0	0.57	0.536	-110	1031	n.s. 0.14
C15:0	0.52	0.538	47	81	n.s. 0.20
C16:0	0.75	0.676	270	4242	n.s. 0.24
C16:1	0.44	0.477	154	518	n.s. 0.14
C18:0	0.66	0.712	182	735	n.s. 0.49
C18:1(n-12)(n-9)	0.64	0.503	270	441	n.s. 0.07
C18:1(n-7)	0.80	0.846	-18	877	n.s. 0.37
C18:2(n-6)	0.89	0.857	-484	2555	n.s. 0.70
C18:3(n-6)	0.33	0.454	4	15	n.s. 0.27
C18:3(n-3)	0.95	0.642	245	1465	<b>&lt;0,001</b>
C18:4(n-3)	0.91	0.745	34	2157	<b>&lt;0,05</b>
C20:0	0.43	0.497	14	18	n.s. 0.20
C20:1(n-9)	0.03	0.436	30	20	n.s. 0.8
C20:1(n-7)	0				
C20:2(n-6)	0				
C20:3(n-6)	0				
C20:4(n-6)	0.70	0.833	-216	799	n.s. 0.2
C20:5(n-3)	0.77	0.726	-388	2450	n.s. 0.18
C22:0	0.49	0.440	32	5	n.s. 0.10
C22:1(n-9)	0				
C22:2(n-6)	0				
C22:6(n-3)	0.59	0.613	-350	1142	n.s.
C24:0	0.28	0.373	40	-2	n.s. 0.14
Gesamtfettsäuren	0.70	0.665	-1650	22330	n.s. 0.29
Summe aller (n-3)	0.86	0.757	-1100	10110	n.s. 0.12
Summe aller (n-6)	0.86	1.01	-945	5550	n.s. 0.13

Betrachtet man die mit der Monodsättigungsfunktion korrelierten Wachstumsraten bezüglich der Fettsäuren, so findet man die beste Korrelation mit der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)), gefolgt von Stearidonsäure (C18:4(n-3)) und der Linolsäure (C18:2(n-6)) mit Bestimmtheitsmaßen von  $r^2=0.95$ ,  $r^2=0.91$  bzw.  $r^2=0.89$  (Tabelle 3-4).

Allerdings waren bei der Linolsäure (C18:2(n-6)) weder die Halbsättigungskonstante noch die maximale Wachstumsrate signifikant durch die nichtlineare Regression bestimmt. Außerdem besitzt die Regressionslinie einen positiven Y-Achsenabschnitt, der ein positives Wachstum bei abwesender Ressource vorhersagen würde (Abbildung 3-13), was für eine limitierende Ressource biologisch irrelevant ist. Von allen anderen Meßgrößen des

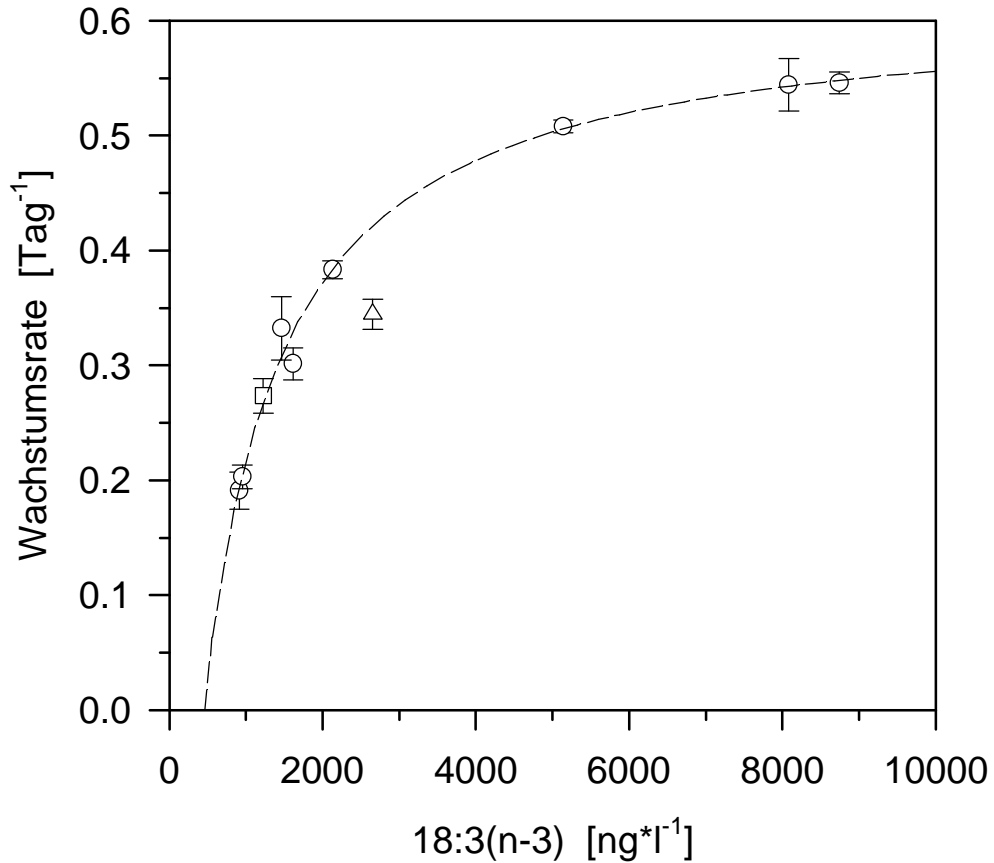
analysierten Sestons waren zumindest die Halbsättigungskonstanten nicht signifikant bestimmbar (Tabelle 3-4).



**Abbildung 3-13** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) bei verschiedenen Konzentrationen der Linolsäure (C18:2(n-6)) im verfütterten Seston während der Versuchsperiode (o); besonders gekennzeichnet sind die Werte für die Hochsommersituation ( $\Delta$ ) und den Untersee ( $\square$ ). Nichtlineare Regression nach dem Monodmodell (---):  $g = g_{\max} \cdot (c_{18:2(n-6)} - S_0) / (c_{18:2(n-6)} - S_0 + K_S)$  mit  $g_{\max} = 0,857 \text{ Tag}^{-1}$ ;  $S_0 = -484 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $K_S = 2555 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $r^2 = 0,89$ ;  $n = 27$ ; die Daten aus dem Untersee sind in der Regression nicht berücksichtigt.

Die  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) fügt sich dagegen bestens in den Verlauf einer Wachstumsfunktion nach dem Monodmodell ein (Abbildung 3-14). Je höher die Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure in der freißbaren Fraktion des Sestons war, um so besser wuchs *D. galeata*. Dabei stiegen die somatischen Wachstumsraten bis zu einer Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure von  $2000 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$  annähernd linear an und näherten sich bei noch größeren Konzentrationen langsam einer maximalen Wachstumsrate von  $0,64 \text{ Tag}^{-1}$ . Die Halbsättigungskonstante  $K_S$  betrug  $1465 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ . Sowohl  $g_{\max}$  als auch  $K_S$  konnten hochsignifikant bestimmt werden ( $p < 0,001$ ). Die Abschätzung der Schwellenkonzentration ( $S_0$ )

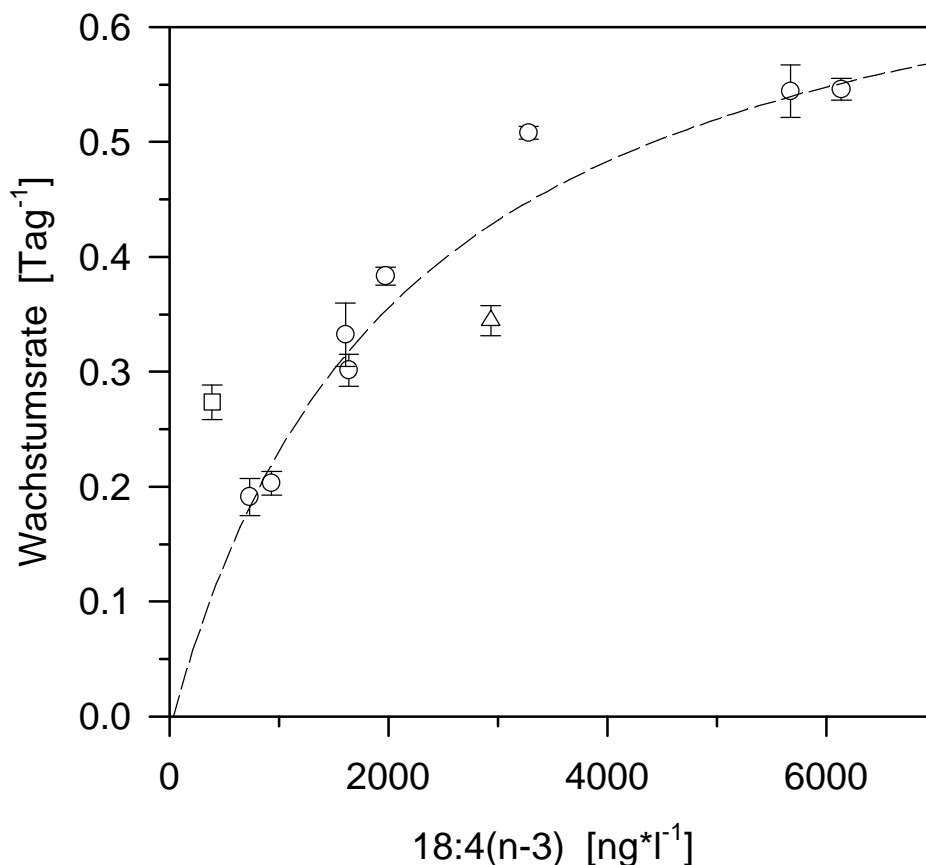
konnte bei allen bestimmten Meßgrößen leider nur ungenau erfolgen, da sehr geringe Konzentrationen im Bereich von  $S_0$  nicht vorkamen.



**Abbildung 3-14** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) bei verschiedenen Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) im verfütterten Seston während der Versuchsperiode (o); besonders gekennzeichnet sind der Wert für die Hochsommersituation ( $\Delta$ ) und den Untersee ( $\square$ ). Nichtlineare Regression nach dem Monodmodell (---):  $g = g_{\max} \cdot (c_{18:3(n-3)} - S_0) / (c_{18:3(n-3)} - S_0 + K_S)$  mit  $g_{\max} = 0,642 \text{ Tag}^{-1}$ ;  $S_0 = 245 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $K_S = 1465 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $r^2 = 0,95$ ;  $n = 27$ ; die Daten aus dem Untersee sind in der Regression nicht berücksichtigt.

In der Hochsommersituation lag die Wachstumsrate der Daphnien deutlich unter der Regressionslinie (Abbildung 3-14). Diese Wachstumsrate liegt mit  $0,344 \pm 0,013 \text{ Tag}^{-1}$  über vier Standardabweichungen unter dem aus der Regression vorhergesagten Wert von  $0,400 \text{ Tag}^{-1}$  und könnte daher als Ausreißer angesehen werden. Dieses Experiment wurde Mitte August ausgeführt. Zu diesem Zeitpunkt waren die C:P-Verhältnisse in der Größenfraktion  $< 30 \mu\text{m}$  mit 300:1 sehr hoch, so daß die Daphnien durch Phosphor limitiert gewesen sein könnten. Wird dieser Punkt in der Korrelation nicht berücksichtigt, so werden 98 % der Varianz der Daten erklärt.

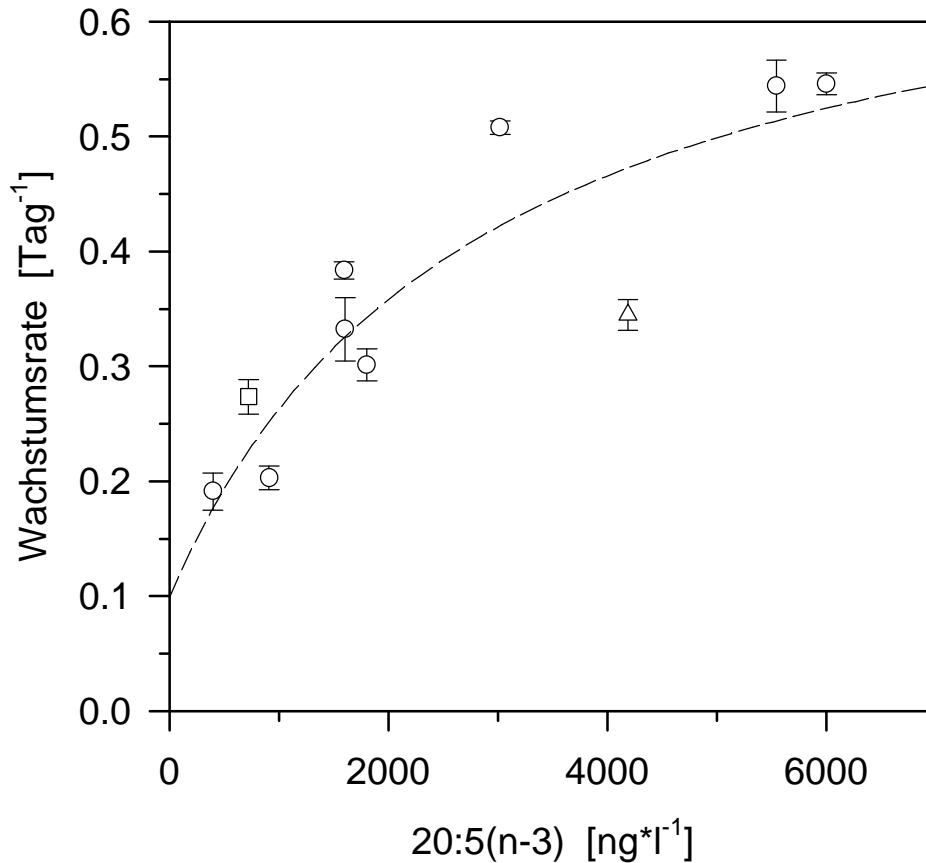
Die Stearidonsäure (C18:4(n-3)) lieferte eine etwas schlechtere Korrelation zu den Wachstumsraten der Daphnien als die  $\alpha$ -Linolensäure. Auch hier fiel besonders die Hochsommersituation Mitte August mit schlechteren Wachstumsraten als erwartet auf (Abbildung 3-15). Die durch die nichtlineare Regression berechnete maximale Wachstumsrate  $g_{\max}$  mit  $0,745 \text{ Tag}^{-1}$  und die Halbsättigungskonstante  $K_S$  mit  $1572 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  waren mit  $p < 0,05$  signifikant.



**Abbildung 3-15** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) bei verschiedenen Konzentrationen der Stearidonsäure (C18:4(n-3)) im verfütterten Seston während der Versuchsperiode (o); besonders gekennzeichnet sind die Werte für die Hochsommersituation ( $\Delta$ ) und den Untersee ( $\square$ ). Nichtlineare Regression nach dem Monodmodell (---):  $g = g_{\max} \cdot (c_{18:4(n-3)} - S_0) / (c_{18:4(n-3)} - S_0 + K_S)$  mit  $g_{\max} = 0,745 \text{ Tag}^{-1}$ ;  $S_0 = 34 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ;  $K_S = 2157 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ;  $r^2 = 0,91$ ;  $n = 27$ ; die Daten aus dem Untersee sind in der Regression nicht berücksichtigt.

Die Arachidonsäure (C20:4(n-6)) (ohne Abbildung) und die in der Literatur häufiger als für *Daphnia* möglicherweise limitierend genannte Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) (Abbildung

3-16) erklärten die Varianz der Wachstumsraten nur zu 70 % bzw. 77 %, also deutlich schlechter als die  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)).



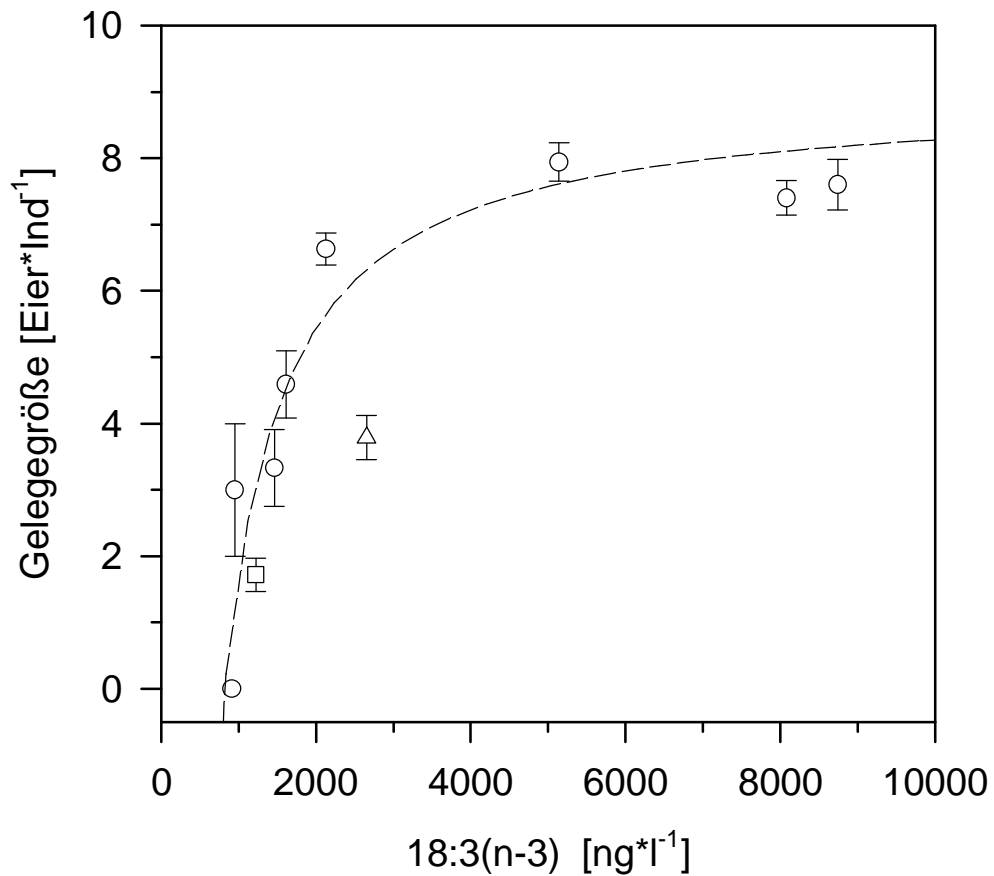
**Abbildung 3-16** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) bei verschiedenen Konzentrationen der Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) im verfütterten Seston während der Versuchsperiode (o); Hochsommersituation ( $\Delta$ ); Untersee ( $\square$ ). Nichtlineare Regression nach dem Monodmodell (---):  $g = g_{\max} * (c_{20:5(n-3)} - S_0) / (c_{20:5(n-3)} - S_0 + K_S)$  mit  $g_{\max} = 0,726 \text{ Tag}^{-1}$ ;  $S_0 = -388 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $K_S = 2450 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $r^2 = 0,77$ ;  $n = 27$ ; die Daten aus dem Untersee sind in der Regression nicht berücksichtigt.



Die Docosahexaensäure (C22:6(n-6)), eine für das Wachstum von marinen Invertebraten bedeutende Fettsäure (Langdon & Waldock 1981), korrelierte nur mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,59 (Tabelle 3-4); der Summenparameter Gesamtfettsäuren erreichte ein Bestimmtheitsmaß von  $r^2=0,70$ ; alle (n-3)- und alle (n-6)-Fettsäuren korrelierten mit einem  $r^2$  von jeweils 0,86. Jedoch gab es bei allen Summenparametern wie auch bei der Arachidon-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure positive Y-Achsenabschnitte, was positivem Wachstum in der Abwesenheit der limitierenden Ressource entsprechen würde.

### 3.6.2.3 Gelegegröße

Auch die von *Daphnia galeata* entwickelten Gelege zeigten in ihren Größen eine durch das Monodmodell gut beschriebene Abhängigkeit von der Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) mit einem  $r^2$  von 0,86. Wie bei den Wachstumsraten ist der Anstieg mit zunehmender Konzentration bis  $2000 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$  annähernd linear und nähert sich dann deutlich einer maximalen Größe des ersten Geleges  $E_{\text{max}}$  von 8,7 Eiern pro Individuum an (Abbildung 3-17). Der Halbsättigungswert läßt sich auf  $770 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$  und die Schwellenkonzentration auf  $820 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$  bestimmen. Alle Parameter sind hochsignifikant. Die Schwellenkonzentration wird hier gut bestimmt, da innerhalb der Klarwasserphase keine Gelege angelegt wurden, obwohl positive somatische Wachstumsraten möglich waren.



**Abbildung 3-17** Gelegegrößen von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) bei verschiedenen Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) im natürlichen Seston  $<30 \mu\text{m}$ , das während der Versuchsperiode an die Daphnien verfüttert wurde (o); Hochsommersituation ( $\Delta$ ); Untersee ( $\square$ ). Nichtlineare Regression nach dem Monodmodell (---):  $\text{Gelegegröße} = E_{\text{max}} * (c_{20:5(n-3)} - S_0) / (c_{20:5(n-3)} - S_0 + K_S)$  mit  $E_{\text{max}} = 8,7 \text{ Eier} * \text{Ind}^{-1}$ ;  $S_0 = 820 \text{ ng} * \text{l}^{-1}$ ;  $K_S = 770 \text{ ng} * \text{l}^{-1}$ ;  $r^2 = 0,86$ ;  $n = 27$ .

Für die Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) und die Lignoserinsäure (C24:0) des Sestons wurden ebenfalls signifikante, aber deutlich schwächere korrelative Zusammenhänge mit den Gelegegrößen der Daphnien gefunden als dies bei der  $\alpha$ -Linolensäure und der Stearidonsäure (C18:4(n-3)) der Fall war (Tabelle 3-5). Auch der Summenparameter der (n-3)-Fettsäuren korrelierte signifikant, aber schlechter als mit der  $\alpha$ -Linolensäure.

**Tabelle 3-5** Regression der Gelegegrößen von *D. galeata* mit einzelnen Meßgrößen des natürlichen Sestons <30 µm nach dem Monodmodell (n=27):  $E = E_{\max} * (c - S_0) / (c - S_0 + K_S)$ .  $S_0$  und  $K_S$  bei POC und PON in [mg\*l<sup>-1</sup>], bei  $P_{\text{part}}$  in [µg\*l<sup>-1</sup>] und bei den Fettsäuren in [ng\*l<sup>-1</sup>] (n.s.= nicht signifikant). Die Daten aus dem Untersee sind nicht berücksichtigt.

	r <sup>2</sup>	E <sub>max</sub> [Eier*Ind <sup>-1</sup> ]	S <sub>0</sub>	K <sub>S</sub>	p (K <sub>S</sub> )
POC	0.61	6.2	0.211	0.01	n.s. 0.22
PON	0	(830000)	-1	(166000)	n.s.
PP	0.74	8.7	3	1.5	n.s. 0.73
C14:0	0.70	7.4	382	746	n.s. 0.10
C15:0	0.56	6.9	80	30	n.s. 0.42
C16:0	0.66	7.3	1820	1046	n.s. 0.22
C16:1	0.52	6.3	475	270	n.s. 0.23
C18:0	0.59	6.2	450	39	n.s. 0.19
C18:1(n-12)(n-9)	0.60	6.3	508	118	n.s. 0.14
C18:1(n-7)	0.65	7.7	240	150	n.s. 0.31
C18:2(n-6)	0.73	8.7	213	713	n.s. 0.11
C18:3(n-6)	0.49	6.1	14	9	n.s. 0.38
C18:3(n-3)	0.86	8.7	820	770	<0,02
C18:4(n-3)	0.76	8.4	686	790	<0,05
C20:0	0.51	6.2	23	7	n.s. 0.26
C20:1(n-9)	0.08	9.2	71	145	n.s. 0.8
C20:1(n-7)	0				
C20:2(n-6)	0.46	(420000)	13	(9180000)	n.s. 0.65
C20:3(n-6)	0				
C20:4(n-6)	0.67	7.7	5	160	n.s. 0.16
C20:5(n-3)	0.68	7.9	400	771	<0.05
C22:0	0.44	6.5	32	12	n.s. 0.23
C22:1(n-9)	0				
C22:2(n-6)	0				
C22:6(n-3)	0.60	7.2	80	450	n.s. 0.11
C24:0	0.53	4.9	39	-3	<0.05
Gesamtfettsäuren	0.67	7.3	6625	6291	n.s. 0.10
Summe aller (n-3)	0.73	8.1	2035	3005	<0.05
Summe aller (n-6)	0.72	8.6	308	1020	n.s. 0.17

#### 3.6.2.4 Konzentriertes und verdünntes Seston

Zusätzlich zum natürlichen Seston wurde parallel konzentriertes Seston (1,5- bis 2,0-fach konzentriert) an die Daphnien verfüttert. Dadurch sollte festgestellt werden, ob eine Wachstumssteigerung aufgrund der größeren Nahrungskonzentration möglich war, und die Versuche mit natürlichem Seston noch unterhalb des ILL (Incipient-limiting-level) durchgeführt wurden. Mit Ausnahme der drei Versuche vor der Klarwasserphase, waren die Wachstumsraten bei der Verfütterung des konzentrierten Sestons größer als bei der Verfütterung des natürlichen Sestons. Daher kann davon ausgegangen werden, daß alle weiteren Versuche unterhalb des ILL durchgeführt wurden.

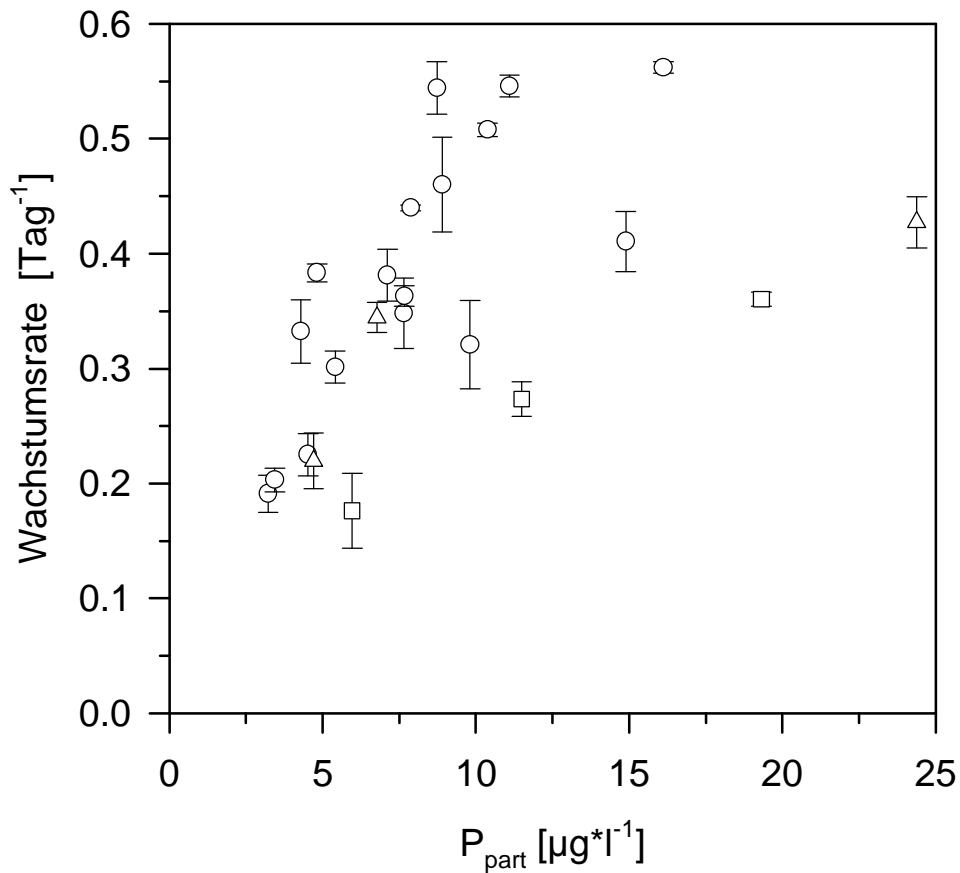
Da sich zu Beginn der Versuchsperiode abzeichnete, daß die Konzentrationen an partikulärem organischen Kohlenstoff der Größenfraktion  $<30 \mu\text{m}$  des Sestons sehr groß waren und deshalb keine Limitierung der Daphnien durch Futterinhaltsstoffe erkennbar werden könnte, wurde das Seston in einem weiteren Parallelansatz 1:2 verdünnt. Dies wäre allerdings nicht nötig gewesen, da sich eine durch korrelative Analyse erkennbare Limitierung durch die  $\alpha$ -Linolensäure einstellte.

Faßt man die Daten der aus den durch Verfütterung des natürlichen, konzentrierten und verdünnten Sestons an *D. galeata* beobachteten Wachstumsraten zusammen und korreliert die Wachstumsraten mit den Konzentrationen der Futterinhaltsstoffe, so findet man die beste Korrelation mit der  $\alpha$ -Linolensäure (Tabelle 3-6). Die zusammengefaßten Daten ermöglichten eine Erweiterung des Konzentrationsbereiches der verschiedenen Meßgrößen in beide Richtungen und stellten einen größeren Datensatz für die statistischen Analysen dar. Dies verbesserte die statistische Signifikanz der Daten; die Bestimmtheitsmaße verringerten sich jedoch durch die größere Streuung gegenüber den durch das natürliche Seston gewonnen Daten.

**Tabelle 3-6** Regression der Wachstumsraten von *D. galeata* mit einzelnen Meßgrößen des natürlichen Sestons, inklusive des verdünnten und konzentrierten Sestons <30 µm nach dem Monodmodell (n=60):  $g = g_{\max} * (c - S_0) / (c - S_0 + K_S)$ .  $S_0$  und  $K_S$  bei POC und PON in [mg\*l<sup>-1</sup>], bei  $P_{\text{part}}$  in [µg\*l<sup>-1</sup>] und bei den Fettsäuren in [ng\*l<sup>-1</sup>] (n.s.= nicht signifikant). Die Daten aus dem Untersee sind nicht berücksichtigt.

	r <sup>2</sup>	$g_{\max}$ [Tag <sup>-1</sup> ]	$S_0$	$K_S$	p ( $K_S$ )
POC	0.48	0.515	0.162	0.088	n.s. 0.06
PON	0.67	0.603	0.027	0.024	<0.01
PP	0.63	0.557	2.2	2.1	<0.01
C14:0	0.45	0.518	-255	1070	n.s. 0.08
C15:0	0.42	0.549	36	81	n.s. 0.11
C16:0	0.65	0.620	404	3600	<0.05
C16:1	0.25	0.440	187	374	n.s. 0.11
C18:0	0.56	0.605	198	525	n.s. 0.10
C18:1(n-12)(n-9)	0.44	0.466	314	344	<0.05
C18:1(n-7)	0.75	0.689	59	528	<0.05
C18:2(n-6)	0.78	0.754	472	2005	n.s. 0.12
C18:3(n-6)	0.20	0.424	6	10	n.s. 0.18
C18:3(n-3)	0.91	0.642	122	1680	<0,001
C18:4(n-3)	0.85	0.695	60	1915	<0,001
C20:0	0.33	0.485	12	19	n.s. 0.08
C20:1(n-9)	0.08	0.553	-152	125	n.s. 0.8
C20:1(n-7)	0				
C20:2(n-6)	0.38	0.633	-18	74	n.s. 0.59
C20:3(n-6)	0				
C20:4(n-6)	0.53	0.865	-463	1240	n.s. 0.30
C20:5(n-3)	0.65	0.665	-470	2165	n.s. 0.08
C22:0	0.30	0.429	30	7	n.s. 0.17
C22:1(n-9)	0				
C22:2(n-6)	0.46	1983	-79	470460	n.s.
C22:6(n-3)	0.43	0.601	-785	1470	n.s. 0.20
C24:0	0.03	0.407	-3	8	n.s. 0.62
Gesamtfettsäuren	0.58	0.612	-1940	19600	n.s. 0.08
Summe aller (n-3)	0.78	0.685	-920	8283	<0.05
Summe aller (n-6)	0.73	0.791	-854	3477	n.s. 0.39

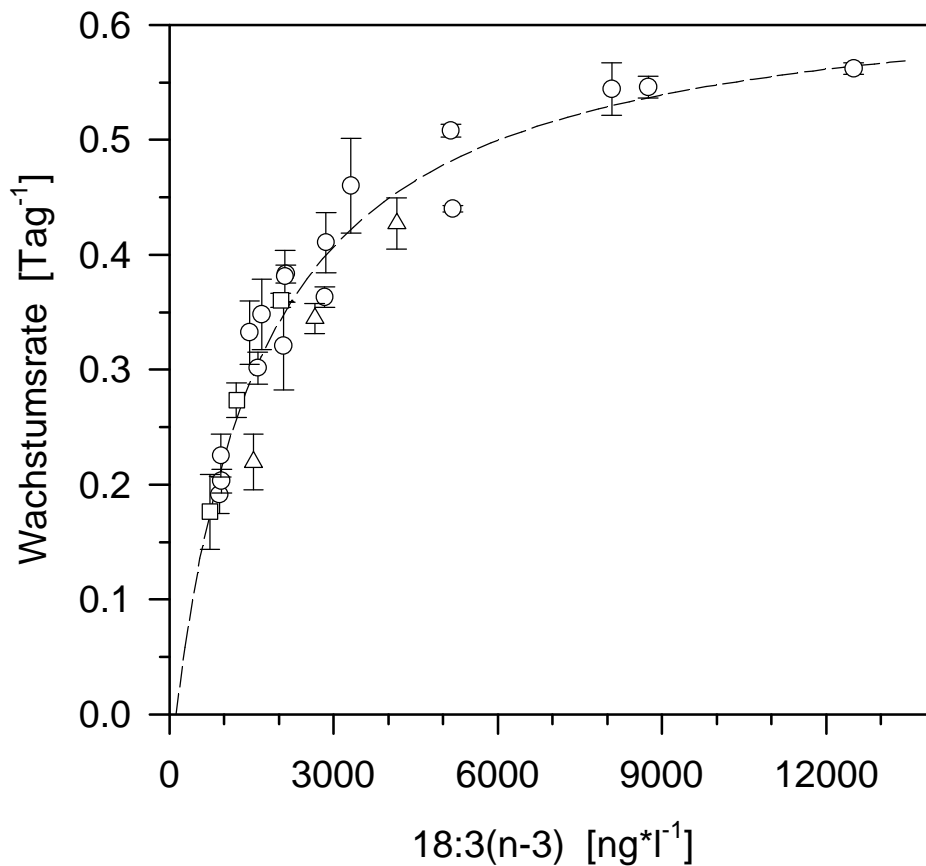
Stellt man die Wachstumsraten in Abhängigkeit von der partikulären Phosphorkonzentration dar, so erkennt man eine sehr starke Streuung der Daten (Abbildung 3-18).



**Abbildung 3-18** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) bei verschiedenen Konzentrationen des partikulären Phosphors im natürlichen, konzentrierten und verdünnten Seston  $<30 \mu\text{m}$  (o), das während der Versuchsperiode an die Daphnien verfüttert wurde ; Hochsommersituation ( $\Delta$ ); Untersee ( $\square$ ).

Werden die Wachstumsraten jedoch mit der Konzentration an  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) korreliert, so ergibt sich eine hochsignifikante Korrelation mit einem Bestimmtheitsmaß von  $r^2=0,91$  ( $p<0,001$ ) (Abbildung 3-19). Die Wachstumsraten aus dem Wachstumsexperiment mit Seston aus dem Untersee werden gut durch die Regressionslinie beschrieben (siehe Kapitel 3.6.4). Klammert man die Hochsommersituation in dieser Regression aus, so wird sogar ein  $r^2$  von 0,94 erreicht.

Auch hier lieferte die Korrelation der Wachstumsraten mit der  $\alpha$ -Linolensäure die geringste Summe der Fehlerquadrate in der Regression nach dem Monodmodell wie dies schon bei den Korrelationen mit dem natürlichen Seston der Fall war.



**Abbildung 3-19** Wachstumsraten von *Daphnia galeata* ( $\pm$ SD) bei verschiedenen Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) im natürlichen, konzentrierten und verdünnten Seston  $<30 \mu\text{m}$  (o), das an die Daphnien während der Versuchsperiode verfüttert wurde ; Hochsommersituation ( $\Delta$ ); Untersee ( $\square$ ). Nichtlineare Regression nach dem Monodmodell (---):  $g = g_{\text{max}} * (c_{18:3(n-3)} - S_0) / (c_{18:3(n-3)} - S_0 + K_S)$  mit  $g_{\text{max}} = 0,642 \text{ Tag}^{-1}$ ;  $S_0 = 122 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $K_S = 1680 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ ;  $r^2 = 0,91$ ;  $n = 60$ . Die Daten aus dem Untersee sind in der Regression nicht berücksichtigt.

### 3.6.2.5 Interkorrelationen

Ein Problem, die Güte der einzelnen Korrelationen zwischen den vielen Meßgrößen und den Wachstumsraten zu unterscheiden, könnten starke Abhängigkeiten zwischen den einzelnen Meßvariablen sein. Die Abhängigkeit der Konzentration der partikulär gebundenen  $\alpha$ -Linolensäure von POC und PON ist vergleichbar gering (Tabelle 3-7). Da das Bestimmtheitsmaß der Korrelation zu  $P_{\text{part}}$  mit 0,41 nur eine schwache Korrelation anzeigt, sollte man zwischen einer Limitation durch Phosphor und einer durch  $\alpha$ -Linolensäure unterscheiden können.

Zu anderen Fettsäuren wie Linolsäure (C18:2(n-6)) und Stearidonsäure (C18:4(n-3)) sind die Interkorrelationen mit 0,96 und 0,95 jedoch sehr stark ausgeprägt. Eine Diskriminierung zwischen den Korrelationen dieser Fettsäuren zu den Wachstumsraten wird dadurch unmöglich. Auch zu den Summenparametern der (n-3)- und (n-6)-Fettsäuren gab es starke Interkorrelationen mit  $r^2= 0,93$  bzw. 0,91.

Die Interkorrelationen änderten sich bei Einbeziehung der Daten aus den Parallelansätzen mit konzentriertem und verdünntem Seston nur unwesentlich (Tabelle 3-8). Daher ist auch hier eine Diskriminierung zwischen den Korrelationen der  $\alpha$ -Linolensäure und der Stearidonsäure (C18:4(n-3)) nicht möglich.

**Tabelle 3-7** Lineare Interkorrelationen der Konzentration der partikulär gebundenen  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) zu anderen entscheidenden Faktoren des natürlichen Sestons: Achsenabschnitte von POC, PON und  $P_{\text{part}}$  in [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ] und die der Fettsäuren in [ $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ].

	$r^2$	p	Y-Achsen- abschnitt	Steigung
POC	0.29	<0.01	-820	9046
PON	0.56	<0.001	-3048	85392
$P_{\text{part}}$	0.41	<0.01	-0,844	594
C16:0	0.76	<0.001	-924	0.65
C16:1	0.15	<0.05	1723	0.36
C18:0	0.58	<0.001	-2113	4.86
C18:1(n-12)/(n-9)	0.16	<0.05	2176	0.35
C18:2(n-6)	0.96	<0.001	-364	2.15
C18:4(n-3)	0.95	<0.001	-380	1.45
C20:4(n-6)	0.68	<0.001	-94	7.06
C20:5(n-3)	0.85	<0.001	-200	1.35
C22:6(n-3)	0.50	<0.001	607	1.53
Gesamtfettsäuren	0.72	<0.001	-589	0.12
Summe aller (n-3)	0.93	<0.001	-325	0.36
Summe aller (n-6)	0.91	<0.001	-560	1.59



**Tabelle 3-8** Lineare Interkorrelationen der Konzentration der partikulär gebundenen  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) zu anderen entscheidenden Faktoren des natürlichen, konzentrierten und verdünnten Sestons: Achsenabschnitte von POC, PON und  $P_{\text{part}}$  in [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ] und die der Fettsäuren in [ $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ].

	$r^2$	p	Y-Achsen- abschnitt	Steigung
POC	0.23	<0.001	514	5954
PON	0.36	<0.001	-443	50334
$P_{\text{part}}$	0.29	<0.001	791	321
C16:0	0.64	<0.001	-452	0.54
C16:1	0.13	<0.01	2309	0.25
C18:0	0.45	<0.001	-637	3.32
C18:1(n-7)	0.84	<0.001	-989	5.43
C18:1(n-12)/(n-9)	0.11	<0.01	2624	0.24
C18:2(n-6)	0.93	<0.001	-326	2.08
C18:4(n-3)	0.95	<0.001	-701	1.46
C20:4(n-6)	0.56	<0.001	415	5.65
C20:5(n-3)	0.79	<0.001	-149	1.24
C22:6(n-3)	0.40	<0.001	977	1.21
Gesamtfettsäuren	0.60	<0.001	-76	0.10
Summe aller (n-3)	0.90	<0.001	-428	0.34
Summe aller (n-6)	0.86	<0.001	-434	1.47

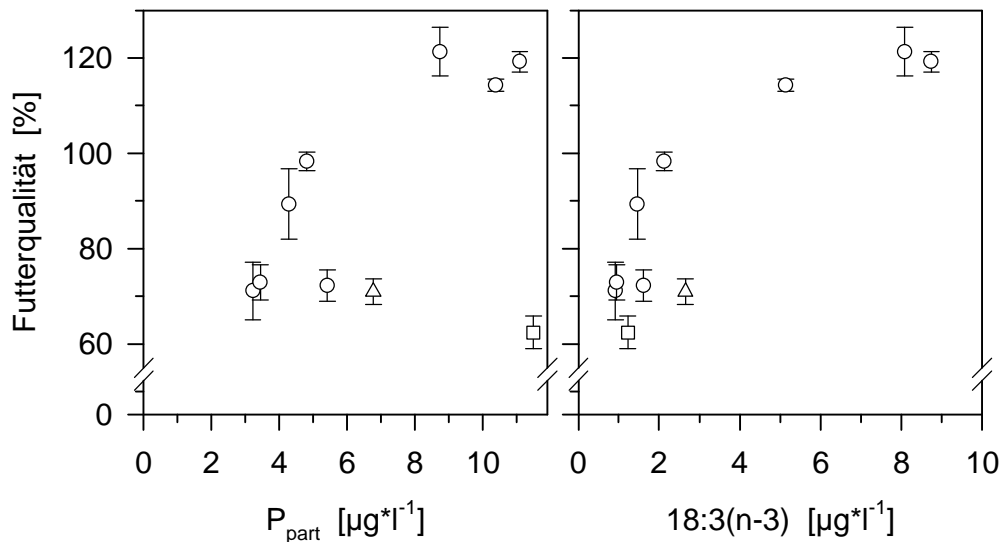
### 3.6.2.6 Futterqualität als abhängige Größe

Die somatischen Wachstumsraten der Daphnien sind außer von der Qualität auch von der Quantität des jeweils vorhandenen Sestons abhängig. Um diese Abhängigkeit von der Futterkonzentration zu eliminieren, wurden die ermittelten Wachstumsraten auf das Wachstum bezogen, das bei gleicher Futterkonzentration mit einer Referenzfutteralge (*S. acutus*) aus einer Laborkultur erzielt wurde. Der Quotient aus diesen beiden Wachstumsraten beschreibt die Futterqualität als relatives Maß.

Ein Zusammenhang zwischen der Futterqualität und der Konzentration an partikulärem Phosphor des Sestons ließ sich mit der Monodsättigungsfunktion nicht feststellen; eine lineare Regression ergab ein Bestimmtheitsmaß von  $r^2=0,63$  (Abbildung 3-20).

Die  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) korrelierte nach dem Monodmodell am besten mit der Futterqualität ( $r^2=0,78$ ) mit einer maximalen Futterqualität von 175 %, einer Schwellenkonzentration von  $S_0=-2190 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  und einer Halbsättigungskonstante von  $K_S=4660 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$  (Abbildung 3-20). Allerdings würde die Futterqualität erst bei einer negativen Konzentration zu Null werden. Eine lineare Regression lieferte ein  $r^2$  von 0,75.

Auch hier fällt die Hochsommersituation deutlich aus der Kurve heraus. Ohne diese zu diesem Zeitpunkt vermutlich phosphorlimitierte Wachstumsrate von *D. galeata* ließen sich durch die nichtlineare Regression 87 % der Varianz der Daten erklären (maximale Futterqualität=140 %;  $S_0=-340 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ;  $K_S=1330 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ ).

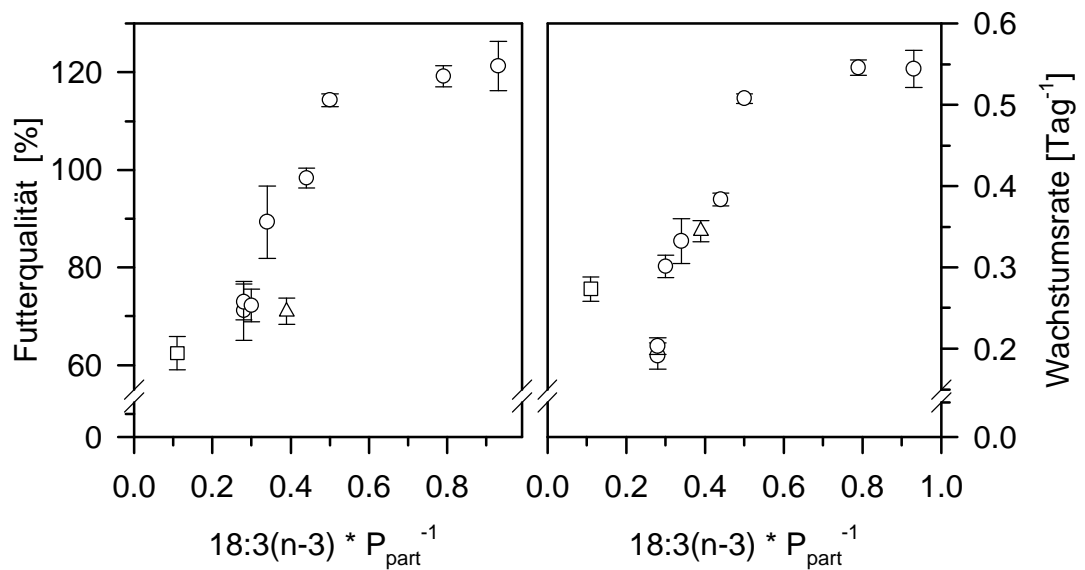


**Abbildung 3-20** Abhängigkeit der Futterqualität ( $\pm$ SD) von der Konzentration an partikulärem Phosphor (links) und der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) (rechts) im natürlichen Seston (o); Untersee (□); Hochsommersituation (Δ).

Da die Tiere die beiden essentiellen Ressourcen Phosphor und  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) in einem durch das Futter vorgegebenen Verhältnis aufnehmen, könnte es durchaus sein, daß das stöchiometrische Verhältnis der beiden die Futterqualität bestimmend beeinflusste. Dazu wurde der Quotient aus der Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure ( $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) und der Konzentration des partikulären Phosphors ( $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) im natürlichen Seston gebildet und mit der Futterqualität korreliert. Ist dieser Quotient klein, so sollte es an der  $\alpha$ -Linolensäure liegen, das Wachstum zu begrenzen, ist der Quotient dagegen groß, so sollte der Phosphor der limitierende Faktor sein. Daraus ergibt sich, daß die Futterqualität bei geringen Werten des Quotients gering, bei moderaten Werten groß und bei hohen Werten des Quotients wieder gering sein sollte.

Beobachtet wurde, daß bei geringem Quotient aus den beiden Größen die Futterqualität schlecht war. Nahm die  $\alpha$ -Linolensäure im Vergleich zum partikulären Phosphor zu, so verbesserte sich die Futterqualität annähernd mit linearem Anstieg (Abbildung 3-21). Steigt der Quotient über 0,5, dann bleibt die Futterqualität bei 120 %. Eine Abnahme bei größerem Quotient wurde nicht beobachtet.

Die Futterqualität des Untersees fügt sich in den Kurvenverlauf der Futterqualität, die im Obersee gefunden wurde, ein. Da sich die Hochsommersituation in der Funktion der Futterqualität aber nicht integriert (Abbildung 3-21), ist dieses Modell nicht zufriedenstellend. Deshalb wurde statt der abgeleiteten Größe der Futterqualität die somatische Wachstumsrate mit dem Quotienten aus der  $\alpha$ -Linolensäure und dem partikulären Phosphor korreliert (Abbildung 3-21). Hier fügt sich die Wachstumsrate der Hochsommersituation in den Kurvenverlauf der Wachstumsraten ein, die Situation des Untersees jedoch nicht. Daher lassen sich weder die Futterqualitäten des Sestons noch die Wachstumsraten der Daphnien ausreichend durch diesen Quotienten beschreiben. Die absoluten Konzentrationen der potentiell limitierenden Ressourcen scheinen dies besser zu erfüllen.

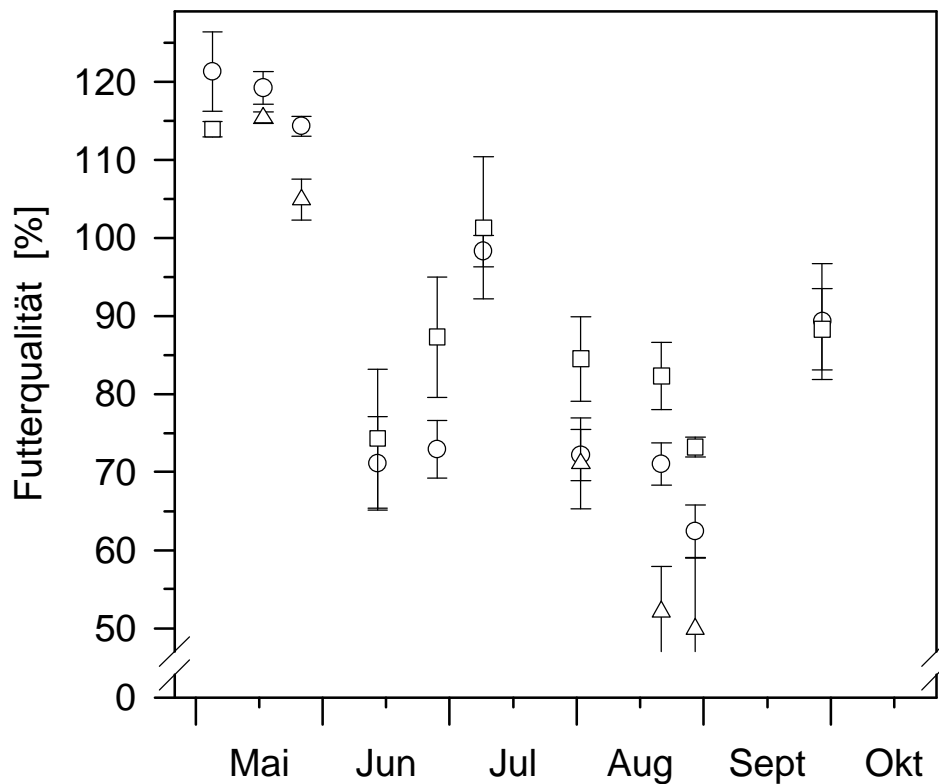


**Abbildung 3-21** Links: Abhängigkeit der Futterqualität ( $\pm$ SD) von dem Quotienten der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) und dem partikulärem Phosphor. Rechts: Abhängigkeit der somatischen Wachstumsrate von dem Quotienten im natürlichen Seston (○) ; Untersee (□) ; Hochsommersituation (Δ).

### 3.6.2.7 Auswirkungen von Konzentrierung und Verdünnung des Sestons auf die Futterqualität

Durch eine Konzentrierung oder Verdünnung des Sestons sollten die Wachstumsraten, da sie von der Nahrungskonzentration abhängen, größer bzw. geringer werden. Da bei der Berechnung der Futterqualität über die Wachstumsfunktion der Daphnien auf *S. acutus* der Einfluß der Kohlenstoffkonzentration herausgerechnet wurde, sollte die Futterqualität, anders als die somatischen Wachstumsraten, bei Konzentrationsänderungen des Sestons konstant bleiben.

Es zeigte sich jedoch, daß sich die Futterqualität in den Experimenten zwischen dem natürlichen, dem konzentrierten und dem verdünnten Seston unterschied. Außer bei den sehr hohen Futterqualitäten in der Frühjahrsblüte lag die jeweilige Futterqualität des konzentrierten Sestons über und die des verdünnten Sestons unter der des natürlichen Sestons  $<30 \mu\text{m}$  (Abbildung 3-22). Auch wenn diese Unterschiede nicht immer signifikant waren, konnte man zumindest eine solche Tendenz erkennen.



**Abbildung 3-22** Futterqualitäten ( $\pm$ SD) des an *Daphnia galeata* verfütterten natürlichen (o), konzentrierten (□) und verdünnten Sestons ( $\Delta$ )  $<30 \mu\text{m}$  im Probenahmezeitraum. Nicht an allen Zeitpunkten wurden alle drei Ansätze ausgeführt.

### 3.6.2.8 Übertragbarkeit der korrelativen Ergebnisse des Sestons auf die Kulturalgen

Die aus den Versuchen der Verfütterung natürlichen Sestons an die Daphnien gewonnenen Korrelationen zu der Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) im Seston wurden herangezogen, um die somatischen Wachstumsraten von Daphnien vorherzusagen, denen *Scenedesmus acutus*, *Stephanodiscus hantzschii* oder *Synechococcus elongatus* verfüttert wurden. Dazu wurden die Gehalte von  $\alpha$ -Linolensäure und Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) der Algen pro mg Kohlenstoff bestimmt. Diese sind dem des Sestons in der Tabelle 3-9 gegenübergestellt.

*S. acutus* besitzt 15 mal mehr der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) pro mg Kohlenstoff als das Seston <30  $\mu\text{m}$  im zeitlichen Mittel der Probenahmen. Das könnte auch die exzellente Futterqualität dieser allgemein verwendeten Futteralge für *D. galeata* erklären. *S. elongatus* dagegen enthält nur sehr geringe Mengen der  $\alpha$ -Linolensäure; *S. hantzschii* liegt in dem Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure in der gleichen Größenordnung wie das Seston.

**Tabelle 3-9** Gehalte an  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) und Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) in den Kulturalgen und im natürlichen Seston.

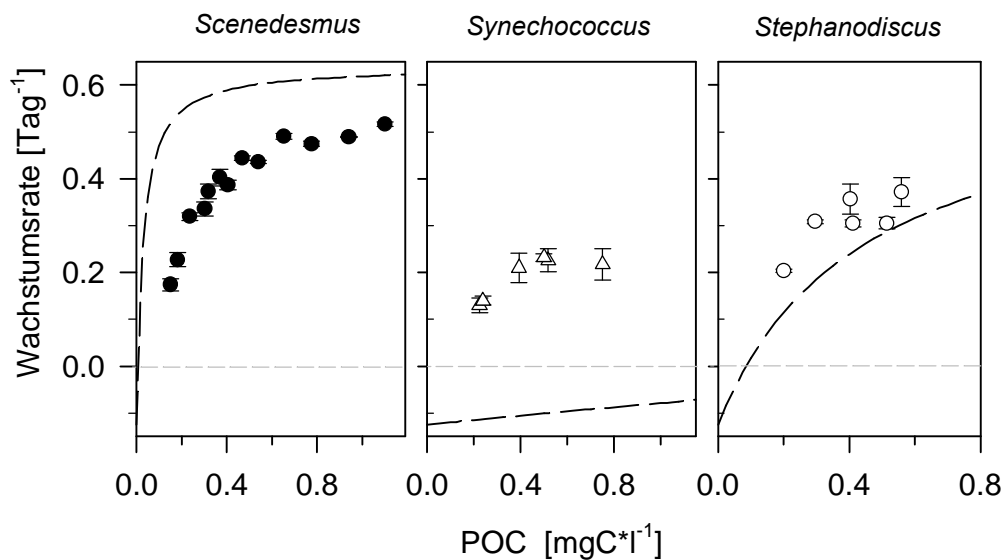
	C18:3(n-3) [ $\mu\text{g} \cdot \text{mgC}^{-1}$ ]	C20:5(n-3) [ $\mu\text{g} \cdot \text{mgC}^{-1}$ ]
<i>Scenedesmus acutus</i>	42	0,042
<i>Synechococcus elongatus</i>	0,08	n.d.
<i>Stephanodiscus hantzschii</i>	2,7	45
Minimum und Maximum im Seston <30 $\mu\text{m}$	0,91 - 8,7	0,4 - 6,0
zeitliches Mittel im Seston	2,95 $\pm$ 2,71	2,44 $\pm$ 1,87

Benutzt man die für das Seston ermittelte Korrelationsgleichung für die  $\alpha$ -Linolensäure, so müßte sich bei *S. acutus* ein viel höheres als das beobachtete Wachstum einstellen (Abbildung 3-23). Das geringere beobachtete Wachstum als das vorausgesagte, kann als Limitierung der Daphnien durch eine andere Ressource als durch die  $\alpha$ -Linolensäure gedeutet werden. In Frage käme z.B. die Eicosapentaensäure. Wäre allerdings das Wachstum von der Eicosapentaensäure limitiert gewesen, so hätte *D. galeata* aufgrund des geringen Gehaltes dieser Fettsäure im Algenfutter kein Wachstum zeigen dürfen.

Bei Fütterung mit *S. elongatus* dürften die Daphnien überhaupt kein Wachstum zeigen, da die  $\alpha$ -Linolensäure nur in minimalen Konzentrationen vorhanden war, und die Eicosapentaensäure völlig fehlte. Berechnet man auf der Grundlage des  $\alpha$ -Linolensäuregehaltes und des in den Wachstumsexperimenten eingesetzten Kohlenstoffs die effektiv mit *S. elongatus* verfütterte Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure, so müßten die Daphnien negative Wachstumsraten zeigen (Abbildung 3-23). Allerdings konnten die Tiere außer den mütterlich mitgegebenen Reserven noch die während der zweitägigen Vorhälterung angelegten Speicherstoffe für das Wachstum nutzen.

Sowohl die mit *S. acutus* als auch die mit *S. elongatus* an die Daphnien verfütterten Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolensäure lagen mindestens eine Zehnerpotenz außerhalb des Konzentrationsbereichs des natürlichen Sestons, aus dem die Korrelationen zu den Wachstumsraten ermittelt worden waren (Tabelle 3-9). Dies könnte die schlechte Vorhersagekraft der  $\alpha$ -Linolensäure für das Wachstum von *D. galeata* mit Kulturalgen erklären. Ebenso war das Verhältnis des Gehaltes der  $\alpha$ -Linolensäure zu dem der Eicosapentaensäure bei *S. acutus* und auch bei *S. elongatus* um Vielfaches höher als in dem untersuchten Bereich des Sestons (Tabelle 3-9). Daher ergab sich eine kaum vergleichbare Situation dieser beiden Kulturalgen mit dem natürlichen Seston.

Ein schöneres Beispiel ist die *S. hantzschii*, denn hier lag der Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure im Bereich dessen, was auch im natürlichen Seston vorkam. Die mit *S. hantzschii* erreichten Wachstumsraten lagen über denen, die man nach der Regression der Modellrechnung aus dem Seston erwartete (Abbildung 3-23). Auch hier könnte der Grund für ein besseres Wachstum als das vorhergesagte darin begründet sein, daß die Daphnien interne Reserven nutzten.



**Abbildung 3-23** Wachstumsraten von *D. galeata* ( $\pm$ SD; n=3) bei Verfütterung von *Scenedesmus acutus* (●), *Synechococcus elongatus* (Δ), *Stephanodiscus hantzschii* (o) und die jeweils durch den  $\alpha$ -Linolensäuregehalt (C18:3(n-3)) der Algen vorhergesagten Wachstumsraten (—).

### 3.6.3 Supplementierungen

Um über die bisher nur korrelativen Betrachtungen hinaus zu gehen, wurden parallel zu den einzelnen Wachstumsexperimenten mit natürlichem Seston weitere Wachstumsexperimente durchgeführt:

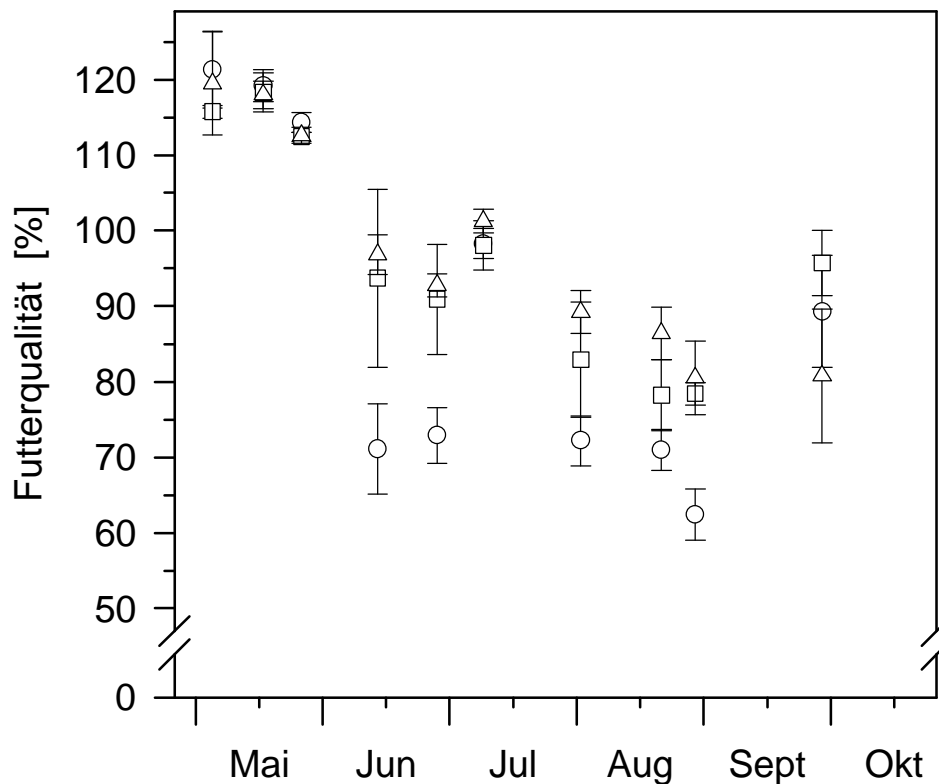
1. Dem natürlichen Seston wurden  $125 \mu\text{gC} \cdot \text{l}^{-1}$  der phosphorlimitiert kultivierten *S. hantzschii* zugesetzt, die große Mengen der Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) enthält.
2. Dem natürlichen Seston wurden  $125 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  der phosphorgesättigt kultivierten *S. elongatus* zugesetzt, bei welcher sich keine Eicosapentaensäure nachweisen ließ.

Verbesserte die Zugabe der *S. hantzschii* die Futterqualität und damit das Wachstum der Versuchstiere, so wäre dies ein Hinweis auf eine Limitation der Daphnien durch den Eicosapentaensäuregehalt des Sestons gewesen. Verbesserte sich die Futterqualität durch die Supplementierung mit *S. elongatus*, so wäre dies ein Hinweis auf eine Limitation der Daphnien durch den Phosphorgehalt des Sestons.

Allerdings korrelierten die somatischen Wachstumsraten von *D. galeata* bei der Verfütterung von natürlichem Seston am besten mit der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)). Diese wurde aber sowohl bei der Supplementierung durch *S. hantzschii* als auch bei der Zugabe von *S. elongatus* zugesetzt. Folglich war immer mit einer Verbesserung der Futterqualität bei beiden Supplementierungen zu rechnen, solange die Daphnien durch die  $\alpha$ -Linolensäure limitiert waren. Sollte das molare C:P-Verhältnis so groß werden, daß die Limitierung durch die  $\alpha$ -Linolensäure in eine Limitierung durch Phosphor übergeht, dürfte nur die Supplementierung mit *S. elongatus* eine Verbesserung des Wachstums der Daphnien bewirken.

Während der Frühjahrsblüte waren die partikulären Konzentrationen der potentiell limitierenden Ressourcen  $\alpha$ -Linolensäure und Phosphor sehr hoch. Eine Verbesserung der Futterqualität durch die Supplementierungen wurde nicht beobachtet, war aber schon deshalb unwahrscheinlich, da die Daphnien bereits ohne Supplementierung maximales Wachstum zeigten (Abbildung 3-24).





**Abbildung 3-24** Futterqualitäten ( $\pm$ SD;  $n=3$ ) des mit *S. hantzschii* supplementierten ( $\square$ ), des mit *S. elongatus* supplementierten ( $\Delta$ ) und des natürlichen Sestons  $<30 \mu\text{m}$  ( $\circ$ ) im zeitlichen Verlauf.

In der Klarwasserphase erreichte die Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure ihre minimalsten Werte mit  $900\text{-}950 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ . Hier wurde die Futterqualität durch den Zusatz beider Algen im Vergleich zu dem Ansatz mit natürlichem Seston signifikant verbessert (ANOVA  $F(2,6)=9.78$ ,  $p<0.05$ , SCHEFFE post hoc Test  $p_{S. hantzschii}<0.05$ ;  $p_{S. elongatus}<0.05$ ). Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Futterqualitäten der beiden Supplementierungen. Dabei führte *S. hantzschii* nur minimalste Mengen an Phosphor zu, so daß das molare C:P-Verhältnis von 170:1 des natürlichen Sestons sogar auf 185:1 anstieg. *S. elongatus* steuerte dagegen viel Phosphor zu und senkte das C:P-Verhältnis auf 150:1. Die Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure stieg in beiden Supplementierungsansätzen deutlich an. Der Anstieg des  $\alpha$ -Linolensäuregehalts bei der Zugabe von *S. elongatus* war größer als

erwartet, denn in der Fettsäureanalyse der Reinkultur von *S. elongatus* wurde nur wenig  $\alpha$ -Linolensäure festgestellt (Tabelle 3-9). Eine Ursache für das Einbringen von größeren Mengen der  $\alpha$ -Linolensäure in die Supplementierung könnte gewesen sein, daß *S. elongatus* hier anders als bei der Analyse der Reinkultur, abzentrifugiert und anschließend in filtriertem Seewasser ( $<0,45 \mu\text{m}$ ) resuspendiert wurde. Dabei könnte das später dem Seston zugesetzte Cyanobakterium über seine große Zelloberfläche  $\alpha$ -Linolensäure aufgenommen haben, die als Filtrationsartefakt aus zerstörten Organismen freigesetzt wurde.

In den folgenden Experimenten bis Mitte August waren bei den Supplementierungen mit *S. hantzschii* und *S. elongatus* die gleichen Effekte zu erkennen, mit der Ausnahme eines Wachstumsexperimentes am 07.07.97 bei welchem die Futterqualität annähernd 100 % betrug und keine signifikante Verbesserungen erkennbar waren.

In dem Wachstumsexperiment am 29.07.97 wurden dann wieder signifikante Verbesserungen des Wachstums der Daphnien sowohl durch Zusetzen von *S. hantzschii* als auch von *S. elongatus* zum natürlichen Seston erzielt (ANOVA  $F(2,6)=32.6$   $p<0.05$ ; SCHEFFE post hoc Test  $p_{S. hantzschii}<0.01$  ;  $p_{S. elongatus}<0.01$ ). Die Futterqualitäten der beiden Supplementierungsansätze unterschieden sich nicht signifikant. Durch den Zusatz von *S. hantzschii* wurde das C:P-Verhältnis des natürlichen Sestons von 210:1 nicht beeinflußt, durch den Zusatz von *S. elongatus* aber auf 125:1 abgesenkt. Der gleichgerichtete Effekt der Verbesserung der Futterqualität durch beide Supplementierungen spricht wieder für eine Limitierung durch die  $\alpha$ -Linolensäure.

In dem Experiment am 20.08.97 wurde in der Größenfraktion  $<30 \mu\text{m}$  des Sestons ein molares C:P-Verhältnis von 300:1 gemessen. Hier war nur die Futterqualität der Supplementierung mit *S. elongatus* signifikant von der des natürlichen Sestons verschieden (ANOVA  $F(2,6)=12.8$ ;  $p<0.01$ ; SCHEFFE post hoc Test  $p_{S. hantzschii}=n.s.$ ;  $p_{S. elongatus}<0.01$ ). Die beiden Supplementierungsansätze unterschieden sich nicht signifikant in ihrer Futterqualität. In diesem Experiment wurde mit *S. hantzschii* ausnahmsweise viel Phosphor zugegeben, da diese Chemostatkultur zu Versuchsbeginn zusammenbrach und eine erst kurz zuvor gestartete Chemostatkultur verwendet werden mußte. Diese befand sich noch nicht im Fließgleichgewicht und war noch nicht durch Phosphor limitiert. Die Limitierung nahm während des Versuches aber zu, so daß zu Ende des Versuches eine limitierte *S. hantzschii* eingesetzt wurde.

Somit wurde das C:P-Verhältnis zu Versuchsbeginn durch den Zusatz von *S. hantzschii* von 300:1 des natürlichen Sestons auf 266:1 gesenkt, bei Zusatz von *S. elongatus* auf 255:1. Der relative Phosphorgehalt und die Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure in diesem

Experiment wurden gleichzeitig verbessert. Daher ist eine Unterscheidung zwischen einem Effekt durch den Phosphor oder die  $\alpha$ -Linolensäure leider schwierig. In den letzten Tagen des Experiments geriet die Chemostatkultur der *S. hantzschii* aber zunehmend in Phosphorlimitierung. Daher blieb das C:P-Verhältnis des Sestons bei der Zugabe von *S. hantzschii* im Gegensatz zu Versuchsbeginn unverändert. Da die Daphnien in den ersten beiden Versuchstagen vermutlich von internen Reserven zehren (Kapitel 3.2, Abbildung 3-1), könnte das bedeuten, daß das Futter in den letzten Versuchstagen einen größeren Einfluß auf das Wachstum der Daphnien ausübte als zu Versuchsbeginn. Dann waren die Tiere in ihrer sensibleren Phase in der zweiten Versuchshälfte nicht durch eine Senkung des C:P-Verhältnisses durch die Zugabe von *S. hantzschii* betroffen. Bei der Zugabe von *S. elongatus* jedoch waren die Tiere während des gesamten Versuchs von der Senkung des C:P-Verhältnisses ausgesetzt. Grundsätzlich kann die nur bei der Supplementierung mit *S. elongatus* gefundene signifikante Verbesserung der Futterqualität nicht durch die Zugabe der  $\alpha$ -Linolensäure erklärt werden, da diese auch mit *S. hantzschii* zugegeben wurde. Die stärkere und länger andauernde Erniedrigung des C:P-Verhältnisses könnte die alleinige Verbesserung der Futterqualität durch die Zugabe von *S. elongatus* erklären. Daraus läßt sich die Schlußfolgerung ziehen, daß die Daphnien am 20.08.97 durch den Phosphorgehalt des Sestons limitiert waren.

#### 3.6.4 Futterqualität im Untersee-Gnadensee

Seen unterschiedlicher Trophie unterscheiden sich in ihren Nährstoffgehalten und der Zusammensetzung des Phytoplanktons. Da die geringste verfügbare Ressource entsprechend der unterschiedlichen Nährstoffgehalte eine andere sein kann, sollte sich auch die Limitierung der Daphnien entsprechend der Nutzbarkeit dieser Ressource ändern. Deshalb sollte untersucht werden, ob die für den Obersee potentiell als limitierende Ressource gefundene  $\alpha$ -Linolensäure auch in einem eutrophen See eine Rolle spielt.

Exakt eine Woche nach dem Wachstumsexperiment während der Hochsommersituation am 20.08.97 wurde daher ein Wachstumsexperiment mit Seston der Größenfraktion  $<30 \mu\text{m}$  aus dem Untersee-Gnadensee bei Oberzell (Insel Reichenau) durchgeführt. In dem flachen eutrophen See wurde eine geringere partikuläre Kohlenstoffkonzentration, aber eine größere Konzentration an partikulärem Phosphor als im Obersee gemessen (Tabelle 3-10). Der Gehalt an Gesamtfettsäuren, wie auch der Gehalt der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) waren geringer. Das C:P-Verhältnis im Untersee war im Vergleich zum Obersee um den

Faktor 2,6 und das der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) zum partikulären Phosphor um den Faktor 3,7 geringer.

Der gegenüber dem Obersee geringere Gehalt des verfütterten Sestons an  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) könnte die geringere Futterqualität des Sestons aus dem Untersee gegenüber dem aus dem Obersee erklären, der höhere Phosphorgehalt des Unterseesestons jedoch nicht (Tabelle 3-10).

**Tabelle 3-10** Vergleich der erfaßten Meßwerte bei Verfütterung von Seston aus dem Untersee (26.08.1997) bzw. Obersee (20.08.1997).

	Untersee (Gnadensee)	Obersee	Faktor Ober- zu Untersee
POC [mgC*l <sup>-1</sup> ]	0,51	0,78	1,53
PON [mgN*l <sup>-1</sup> ]	0,087	0,096	1,1
P <sub>part</sub> [ $\mu$ gP*l <sup>-1</sup> ]	11,5	6,8	0,59
Gesamtfettsäuren [ $\mu$ g*l <sup>-1</sup> ]	189	56,6	3,1
C18:3(n-3) [ $\mu$ g*l <sup>-1</sup> ]	1,22	2,65	2,17
Wachstumsrate [Tag <sup>-1</sup> ]	0,273	0,345	1,26
Gelegegröße [Eier*Ind. <sup>-1</sup> ]	1,72	3,79	2,2
Futterqualität [%]	62	71	1,1
molares C : P	115	300	2,6
C18:3(n-3) : P <sub>part</sub> [m/m]	0,106	0,392	3,7

Die aus der Verfütterung des Sestons aus dem Untersee gewonnenen Wachstumsraten wurden mit denen des Obersees verglichen, indem sie in die Korrelationen der verschiedenen Meßgrößen mit den beobachteten Wachstumsraten einbezogen wurden.

Die Wachstumsrate lag deutlich unter den Wachstumsfunktionen der Versuche mit Seston aus dem Obersee, die in Abbildung 3-12 gegen POC, PON und P<sub>part</sub> aufgetragen sind.

Vor allem war die Phosphorkonzentration im Untersee sehr hoch, die Wachstumsraten jedoch gering. Dagegen war die Wachstumsrate mit Seston aus dem Untersee in den Wachstumsfunktionen mit Seston aus dem Obersee bei der  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) integriert (Abbildung 3-14); das heißt die Konzentration der  $\alpha$ -Linolensäure des Sestons aus dem Untersee konnte die Wachstumsrate von *D. galeata* durch die mit Seston aus dem Obersee ermittelten Regressionsgleichung gut vorhersagen.

Bezieht man die Wachstumsrate bei Verfütterung des Sestons aus dem Untersee mit in die aus den Oberseedaten gewonnene Korrelationsgleichung zur Vorhersage des Wachstums von *D. galeata* durch die  $\alpha$ -Linolensäure mit ein, so bleibt die Regressionsgleichung und das Bestimmtheitsmaß unverändert (Tabelle 3-11). Dies ist als weiterer Hinweis für eine

Limitierung der Daphnien durch die  $\alpha$ -Linolensäure zu sehen, die bei Kenntnis der entsprechenden Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolensäure auf andere Seen übertragen werden könnte.

**Tabelle 3-11** Vergleich der Regressionsgleichung für die somatische Wachstumsrate  $g$  [ $\text{Tag}^{-1}$ ] von *D. galeata* mit und ohne Berücksichtigung der Wachstumsrate aus dem Versuch mit Seston aus dem Untersee.

Obersee mit den Daten aus dem Untersee	$g = 0.640 [\text{Tag}^{-1}] * \frac{c_{18:3(n-3)} - 235 [ng * l^{-1}]}{c_{18:3(n-3)} - 235 [ng * l^{-1}] + 1444 [ng * l^{-1}]}$	$r^2=0,95$ $p<0,001$
Obersee	$g = 0.642 [\text{Tag}^{-1}] * \frac{c_{18:3(n-3)} - 245 [ng * l^{-1}]}{c_{18:3(n-3)} - 245 [ng * l^{-1}] + 1465 [ng * l^{-1}]}$	$r^2=0,95$ $p<0,001$

Werden die Daten aus dem Untersee in den Regressionen mitberücksichtigt, so ändern sich die Regressionsgleichungen der Wachstumsraten von *D. galeata* bezüglich der anderen Fettsäurekonzentrationen des Sestons meist nur unwesentlich. Die Gleichungen für die partikulären Konzentrationen von organischem Stickstoff und Phosphor ändern sich dagegen gravierend und die Bestimmtheitsmaße werden schlechter (Tabelle 3-12). Die Regressionsgleichung und das Bestimmtheitsmaß der Wachstumsraten zu der Konzentration des partikulären organischen Kohlenstoffs im Seston wird bei der Berücksichtigung des Unterseeversuchs weniger beeinflusst als bei  $\text{PON}$  und  $\text{P}_{\text{part}}$ , was daran liegen könnte, daß die gut korrelierenden Fettsäuren in erster Linie aus Kohlenstoffatomen aufgebaut sind.

Die Futterqualität des Sestons für *D. galeata* wurde im Unterseeversuch sowohl bei der Supplementierung des Sestons mit der Diatomee als auch bei der Supplementierung mit dem Cyanobakterium signifikant verbessert (ANOVA  $F(2,6)=23.3$   $p<0.01$ ; SCHEFFE post hoc Test  $p_{\text{S.hantzschii}}<0.01$ ;  $p_{\text{S.elongatus}}<0.01$ ). Der nur durch den Zusatz des Cyanobakteriums veränderte Phosphorgehalt des Sestons kann die Futterqualitätsverbesserung durch beide Supplementierungen nicht erklären. Die  $\alpha$ -Linolensäure war in beiden Zusätzen enthalten und kann daher für die Verbesserung der Futterqualität durch beide Supplementierungen verantwortlich gemacht werden.

**Tabelle 3-12** Vergleich zwischen Regressionen mit und ohne Beachtung der Wachstumsraten und Meßgrößen des Sestons aus dem Untersee. Den Bestimmtheitsmaßen liegen nichtlineare Regressionen nach dem Monodmodell zwischen den Wachstumsraten und einzelnen Meßgrößen des Sestons zugrunde.

---

	r <sup>2</sup> (ohne Untersee)	r <sup>2</sup> (mit Untersee)
POC	0.60	0.51
PON	0.71	0.57
PP	0.86	0.56
C14:0	0.57	0.58
C15:0	0.52	0.50
C16:0	0.75	0.76
C16:1	0.44	0.33
C18:0	0.66	0.63
C18:1(n-12)/(n-9)	0.64	0.63
C18:1(n-7)	0.80	0.70
C18:2(n-6)	0.89	0.90
C18:3(n-6)	0.33	0.31
C18:3(n-3)	0.95	0.95
C18:4(n-3)	0.91	0.85
C20:0	0.43	0.36
C20:1(n-9)	0.03	0.01
C20:1(n-7)	0	0.0
C20:2(n-6)	0	0.45
C20:3(n-6)	0	0.05
C20:4(n-6)	0.70	0.72
C20:5(n-3)	0.77	0.77
C22:0	0.49	0.39
C22:1(n-9)	0	0
C22:6(n-3)	0.59	0.60
C24:0	0.28	0.27
Gesamtfettsäuren	0.70	0.71
Summe aller (n-3)	0.86	0.84
Summe aller (n-6)	0.86	0.86

---

## 4 Diskussion

### 4.1 Futterqualität

Es ist allgemein bekannt, daß in limnischen und marinen Nahrungsnetzen die Produktion der Phytoplanktonbiomasse durch die Verfügbarkeit von anorganischen Nährstoffen wie Phosphor, Stickstoff, Silikat und Eisen begrenzt sein kann (Tilman 1982). Phytoplankton und Bakterien können unsubstituierbare und substituierbare Ressourcen direkt aufnehmen.

Die Ressourcen des Zooplanktons sind dagegen in Nahrungspartikel verpackt und deren Aufnahme ist von der Abundanz der ingestierbaren Partikel abhängig. Die Ingestierbarkeit kann durch die Form, die Größe oder durch Verteidigungsstrukturen der Futterpartikel herabgesetzt sein. De Bernardi et al. (1981) machten für die schlechte Freßbarkeit die Größe von *Microcystis* spp. verantwortlich. Außer Unterschieden in der Ingestierbarkeit hängt die Effizienz mit der das Zooplankton Biomasse produzieren kann, von der Verdaubarkeit der Nahrung ab. So fanden G-Toth et al. (1987) unverdaute Cyanobakterien in Darminhalten von *Daphnia galeata* und *D. cucullata*, die daher schlecht assimilierbar waren. Auch sind Cyanobakterien als wenig geeignetes Futter für Zooplankter beschrieben (Lampert 1987), und auch für die Produktion von toxischen Metaboliten bekannt (Infante & Abella 1985), so daß das Wachstum des Zooplanktons gehemmt sein kann.

Da das Zooplankton phagotroph ist, werden die Futterinhaltsstoffe durch den Paketcharakter der Nahrung in einem je nach Nahrungstyp vorgegebenen Verhältnis von den Zooplanktern aufgenommen. Einzelne Gruppen des Zooplanktons wie Copepoden selektieren die Futterpartikel nach Geschmack (Demott 1986) und können daher minderwertiges Futter diskriminieren. Daphnien allerdings filtrieren unselektiv, d.h., die in der durch die Daphnien filtrierte Größenfraktion des Sestons vorhandenen Ressourcen und die ingestierten Ressourcen-Pakete besitzen die gleiche Zusammensetzung. Daher können die Daphnien durch Futterinhaltsstoffe der von ihnen filtrierte Größenfraktion limitiert sein. Eine solche Limitation führt zu einer geringeren Verwertbarkeit des Kohlenstoffs und damit zu einer schlechteren Futterqualität bezüglich des Kohlenstoffgehaltes, wobei der Kohlenstoff in der Regel als Energiesurrogat für die Verfügbarkeit des Futters verwendet wird (Lampert 1977).

Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Cyanobakterium *Synechococcus elongatus* zeigte keine toxischen Effekte auf Daphnien, da das Wachstum von *D. galeata* sowohl bei der Verfütterung von *Scenedesmus acutus* als auch von natürlichem Seston durch den Zusatz von *S. elongatus* verbessert wurde. Da die Supplementierung mit *S. elongatus* die Futterqualität des Futters für die Daphnien verbesserte, kann man auch davon ausgehen, daß das Cyanobakterium von *D. galeata* inkorporiert und die Inhaltsstoffe assimiliert wurden. Das eingeschränkte Wachstum der Daphnien könnte an dem Fehlen eines Nahrungsbestandteils bei dem kokkalen Cyanobakterium gelegen haben. So machten Ahlgren et al. (1990) die Zusammensetzung der Futterinhaltsstoffe von Cyanobakterien für die schlechte Futterqualität für Zooplankter verantwortlich.

Neben verschiedenen Arten, die hohe Wachstumsraten (z.B. Bacillariophyceae und Cryptophyceae) und welche, die nur geringe Wachstumsraten (z.B. Cyanophyceae) des Zooplanktons ermöglichen, kann es auch innerhalb der gleichen Algenart Futterqualitätsunterschiede für das Zooplankton geben; denn die Futterqualität einer Alge variiert mit ihren Wachstumsbedingungen. Eine stationäre Grünalge (*Chlorella vulgaris*) war für *D. magna* von geringerer Futterqualität als eine schnell wachsende (McMahon & Rigler 1965). Die Futterqualität hängt außer von der Algenart also auch von deren Nährstofflimitierung ab.

Während das Phytoplankton in seiner Nährstoffzusammensetzung stark variieren kann, scheinen Daphnien im Gegensatz dazu in ihren spezifischen Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorgehalten homöostatisch zu sein (Hessen 1990), denn *D. magna* zeigte in diesen Meßgrößen nur geringe Schwankungen, auch dann wenn sich die Phosphorgehalte im Futter stark unterschieden. Innerhalb der gleichen Zooplanktonarten wurden nur geringe Unterschiede, zwischen verschiedenen Arten jedoch große Unterschiede der trockengewichtsspezifischen Phosphorgehalte gefunden (Hessen & Lyche 1991). Da sich die Stöchiometrie zwischen den Zooplanktonarten unterscheidet, kann man erwarten, daß es auch unterschiedliche Bedürfnisse an die mineralischen Ressourcen gibt. Da Daphnien größere Gehalte an Phosphor aufweisen als andere Zooplanktonarten, sollte deren Population infolge des erhöhten Bedarfs an Phosphor schneller durch die Ressource Phosphor limitiert werden als andere Zooplankter (Hessen & Andersen 1992).

Urabe und Watanabe (1992) leiteten aus spezifischen Stickstoff- und Phosphorgehalten von *D. galeata* und *Bosmina longirostris* und deren Ingestions- und Nettoproduktionsraten ab, daß bei Unterschreitung einer bestimmten N:C- bzw. P:C-Stöchiometrie im Futter der Tiere eine Limitation durch Stickstoff bzw. Phosphor zu erwarten wäre.



Auf diese Weise könnte man den Ausgang von interspezifischer Konkurrenz beim Zooplankton vorhersagen (Sternner 1990), die über unterschiedliche Nährstoffrecyclingraten der Zooplanktonarten wiederum einen Einfluß des Zooplanktons auf die Phytoplanktonkonkurrenz erwarten läßt (Sternner 1990; Hessen & Andersen 1992; Urabe 1995).

Sternner (1993) konnte die direkte Abhängigkeit des Wachstums von *D. obtusa* von der Stöchiometrie der Futteralgen demonstrieren. Die Futterqualität nahm mit stärker werdender Limitation der Algen (zuerst Stickstoff-, dann Phosphorlimitation) ab (Sternner 1993; Sternner et al. 1993). Bei diesen Versuchen wurden einzelne Kulturalgen benutzt, die je nach Limitierungsgrad sehr hohe C:P-Stöchiometrie (über 300:1) besaßen. Da in natürlichen Systemen aber mehrere Algenarten gleichzeitig als Nahrung für *Daphnia* dienen und das Seston nicht immer extrem hohe C:P-Verhältnisse aufweist, ist die Übertragbarkeit der Ergebnisse mit Kulturalgen auf freilandökologische Untersuchungen nur begrenzt möglich.

In der vorliegenden Studie mit Seston aus dem Bodensee konnte keine saisonale Abhängigkeit der Wachstumsraten von *D. galeata* von der Phosphorkonzentration des Sestons gefunden werden. Müller-Navarra (1995b) fand ebenfalls keine Abhängigkeit der Wachstumsraten von *D. galeata* von mineralischen Komponenten des an die Daphnien verfütterten Sestons. Beim Versuch, die Zooplanktonbiomasse mit der partikulären Phosphorkonzentration des Sestons zu korrelieren, fand Hessen (1992) keine starke Abhängigkeit. Daher scheint der Phosphorgehalt des Futters nicht immer eine entscheidende Rolle zu spielen.

Dies wird auch in der vorliegenden Untersuchung mit *D. galeata* deutlich. Da *S. elongatus* für *D. galeata* trotz des hohen Phosphorgehaltes nur schlechte Futterqualität darstellte und die unter Phosphorlimitation kultivierte *Stephanodiscus hantzschii* dagegen von besserer Futterqualität war, müßte das Wachstum also von anderen Bestandteilen des Futters als dem Phosphor abhängen. Die Mischung von *S. elongatus* mit *S. acutus* verbesserte die Futterqualität, also muß die Grünalge einen anderen Nahrungsbestandteil als den Phosphor in die Futtermischung eingebracht haben, der es den Daphnien ermöglichte, den Kohlenstoff des Cyanobakteriums besser zu nutzen als ohne die Zugabe der Grünalge. Andere Studien zeigten ähnliche Effekte mit besserem Wachstum mit Mischalgenfutter (Lundstedt & Brett 1991; Boersma & Vijverberg 1995).

Potentielle Limitationen des Zooplanktons durch Phosphor oder andere Ressourcen müssen sich nicht gegenseitig ausschließen. So ist es durchaus möglich, daß bei der Überschreitung eines Schwellenwertes der C:P-Stöchiometrie des Futters von 300:1 das Zooplankton durch Phosphor (Urabe & Watanabe 1992; Urabe & Sterner 1996), unterhalb der Schwelle aber durch andere Futterinhaltsstoffe limitiert ist (Sundbom & Vrede 1997).

Bei Müller-Navarra (1995b), die nur eine schlechte Korrelation der Wachstumsrate von *D. galeata* zu dem Phosphorgehalt im Seston des Schöhsees (Schleswig-Holstein) fand, lagen die beobachteten C:P-Verhältnisse während der ganzen Versuchsperiode unter 300:1. In der vorliegenden Untersuchung wurde fast während der ganzen Schichtungsperiode in der Größenfraktion <30 µm ein molares C:P-Verhältnis unter 300:1 beobachtet. Da Daphnien unterhalb dieses Verhältnisses nicht durch den Phosphorgehalt limitiert sind (Urabe & Sterner 1996), kann man die geringe Abhängigkeit des Wachstums der Daphnien vom Phosphorgehalt des Sestons sowohl für den Bodensee als auch für den Schöhsee erklären. An einem Zeitpunkt im Hochsommer erreichte die C:P-Stöchiometrie im Seston des Bodensees jedoch den Schwellenwert von 300:1. Da sich die zu diesem Zeitpunkt ermittelte Wachstumsrate von *D. galeata* mit dem  $\alpha$ -Linolensäuregehalt des Sestons nicht erklären ließ, und eine signifikante Verbesserung der Futterqualität nur bei der Supplementierung des Sestons mit dem phosphorgesättigten Cyanobakterium beobachtet wurde, kann man davon ausgehen, daß *D. galeata* im Bodensee zu diesem Zeitpunkt kurzzeitig durch den Phosphor limitiert war.

Dafür, daß bei Unterschreitung der C:P-Stöchiometrie von 300:1 andere Substanzen als der Phosphor für die Futterqualität bestimmend sein können, gibt es mehrere Hinweise. Dabei kommen als limitierende Nahrungsbestandteile außer mineralische auch biochemische Komponenten in Frage. Die geringe Futterqualität von Cyanobakterien und die gute Futterqualität von Cryptophyceae und Bacillariophyceae wurden von Ahlgren et al. (1990) auf unterschiedliche Fettsäurezusammensetzungen der Algenarten zurückgeführt. Cryptophyceae und Dinophyceae enthalten deutliche Mengen an hoch ungesättigten Fettsäuren (Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure), *Rhodomonas* sp. und *Cryptomonas* sp. vor allem  $\alpha$ -Linolensäure (Ahlgren et al. 1992).

Interspezifisch kann sich die Fettsäurezusammensetzung unterscheiden, aber auch innerhalb einer Algenart sind die Konzentrationen biochemischer Inhaltsstoffe nicht konstant, da sie sich mit unterschiedlicher Nährstofflimitation der Algen verändern (Harrison et al. 1990). Unter Stickstoff- bzw. Silikatmangel zeigten Grün- bzw. Kieselalgen einen relativen Anstieg

der Gesamtlipidfraktion (Shifrin & Chisholm 1981). Die Futteralgen veränderten unter verstärkter phosphorlimitierter Kultivierung ihre Fettsäurezusammensetzung; dabei stieg der relative Anteil an gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren, während der relative Anteil der mehrfach ungesättigten Fettsäuren abnahm (Ahlgren et al. 1992; Reitan et al. 1994; Weers & Gulati 1997b). Bei Nährstofflimitierung wurde der Anteil der polaren Lipide im Vergleich zu dem der neutralen Lipide geringer, und der Gehalt der  $\alpha$ -Linolensäure nahm ab, der Linolsäure (C18:2(n-2)) aber zu (Weers & Gulati 1997b).

Es ist bekannt, daß auch die Lichtintensität eine Rolle bei der Synthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Thylakoidmembranen des Photosyntheseapparates der Algen spielt (Cobelas & Lechardo 1988). Wurde die Lichtintensität bei der Kultivierung der Futteralge *S. acutus* erhöht, so verbesserte sich die Futterqualität der Alge für *Daphnia*, obwohl die C:P-Stöchiometrie der Alge unverändert blieb (Urabe & Sterner 1996). Weitere Hinweise für die große Bedeutung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren für die Futterqualität von Algen für das Zooplankton sind aus Laborversuchen zu erkennen, bei denen die Futterqualität verschiedener Futteralgen besser mit dem Gehalt an hoch ungesättigten Fettsäuren korrelierte als mit dem Phosphorgehalt der Algen (Ahlgren et al. 1990; Ahlgren et al. 1992; Müller-Navarra 1995a).

Die Wichtigkeit von biochemischen Komponenten wird dadurch unterstützt, daß Pflanzen elementar limitiert sind, Tiere die Elemente aber in Form von organischen Molekülen aufnehmen (Brett 1993). Wenn die Aufnahme von Elementen an die Aufnahme von Molekülen geknüpft ist, kann es zwischen den beiden zu starken Interkorrelationen kommen.

Daher ist es denkbar, daß ein Element, z.B. Phosphor, zur Beschreibung der Futterqualität herangezogen werden kann, wenn er in Verbindung mit einem die Tiere limitierenden Molekül aufgenommen wird. Da er in Wirklichkeit aber nicht die eigentliche Limitierung beschreibt, müßte er ein schlechterer Indikator für die Futterqualität sein als die wirklich limitierende Ressource.

Intraspezifisch korrelieren die Gehalte von ungesättigten Fettsäuren gut mit dem Phosphorgehalt der Algen, daher stellen beide Gehalte gute Indikatoren für die Futterqualität einzelner Algenarten für *Daphnia* dar (Müller-Navarra 1995a). Dies erklärt auch die von Sterner et al. (1993) gefundene Abhängigkeit des Wachstums von *Daphnia* von dem Phosphorgehalt der Futteralgen.

Wenn man jedoch die Algenarten untereinander vergleicht, dann korrelieren die Gehalte an mehrfach ungesättigten Fettsäuren nur wenig mit den Phosphorgehalten (Ahlgren et al.

1992). Stellen die mehrfach ungesättigten Fettsäuren die limitierende Ressource dar, so eignen sich die Fettsäuregehalte des Futters besser zur Vorhersage der Futterqualität als der Phosphorgehalt. Dies wird durch die vorliegende Arbeit gestützt, bei welcher der  $\alpha$ -Linolensäuregehalt des Sestons die bessere Vorhersagegröße für die Futterqualität für *D. galeata* war als der Phosphorgehalt, denn die Wachstumsraten von *D. galeata* korrelierten besser mit dem  $\alpha$ -Linolensäuregehalt (C18:3(n-3)) als mit dem Phosphorgehalt des an die Daphnien verfütterten natürlichen Sestons.

Müller-Navarra (1995b) fand in einer Studie am Schöhsee auch eine gute Korrelation der Wachstumsraten von *D. galeata* mit einer einzelnen mehrfach ungesättigten Fettsäure des Sestons, der Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)). Die Konzentrationen der Eicosapentaensäure im Seston des Bodensees waren während der ganzen Versuchsperiode wesentlich größer als die im Schöhsee gemessenen Konzentrationen und als der dort postulierten Sättigungskonzentration von  $0,8 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  (Müller-Navarra 1995b). Daher ist eine Limitation des Daphnienwachstums durch diese Fettsäure im Bodensee unwahrscheinlich. Im Bodensee wurde, wie im Schöhsee, auch eine gute Korrelation der Wachstumsraten zu der Stearidonsäure (C18:4(n-3))-Konzentration im Seston gefunden (Müller-Navarra 1993), was prinzipiell die Bedeutung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren unterstreicht.

Das Zooplankton kann also durch Änderungen im Nährstoffstatus seines Futters von direkter Limitation durch Elemente oder reduziertem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Futter, aber auch durch die reduzierte Verdaubarkeit des Futters betroffen sein (Van Donk & Hessen 1993; Van Donk & Hessen 1995).

Van Donk et al. (1997) zeigten, daß eine stark phosphorlimitiert kultivierte *Chlamydomonas* sp. ihr Zellvolumen vergrößerte und verdickte Zellwände ausbildete. Als Folge passierten die Algen den Darm von *D. magna* und *D. pulex* relativ intakt, während eine zellwandlose Mutante der *Chlamydomonas* gut assimiliert wurde. Diese morphologischen Veränderungen wurden bei molaren C:P-Verhältnissen von 800:1 beobachtet, die in der von den Daphnien filtrierten Fraktion des natürlichen Sestons nicht zu erwarten sind, da Daphnien in der Lage sind phosphorreiche Bakterien zu filtrieren (Hessen & Andersen 1990).

Zeitlich befristete Änderungen der Digestierbarkeit müßten deshalb zu einer schlechten Vorhersagbarkeit der Futterqualität durch Nahrungsinhaltsstoffe führen. Da jedoch in der vorliegenden Untersuchung eine sehr gute Korrelation der Wachstumsraten mit einem Futterinhaltsstoff, der  $\alpha$ -Linolensäure, gefunden wurde, scheinen Veränderungen der Digestierbarkeit im Seston für *D. galeata* keine Rolle gespielt zu haben.

## 4.2 Kausalität

Da in der vorliegenden Arbeit für den Gehalt der  $\alpha$ -Linolensäure im natürlichen Seston die beste Korrelation zu den Wachstumsraten von *D. galeata* gefunden wurde, besitzt die  $\alpha$ -Linolensäure eine große Vorhersagekraft für die Futterqualität des Sestons als Nahrung. Darüber, ob die  $\alpha$ -Linolensäure die Ursache oder lediglich ein Indikator für die Futterqualität des Sestons ist, geben die korrelativen Ergebnisse jedoch keinen Aufschluß.

Daher wurden zum verfütterten natürlichen Seston *Stephanodiscus hantzschii* bzw. *Synechococcus elongatus* zugegeben, um die Nährstoffzusammensetzung und das Fettsäuremuster des Sestons zu manipulieren. Mit *S. hantzschii* wurden deutliche Mengen der Eicosapentaensäure, aber kaum Phosphor und mit *S. elongatus* große Mengen Phosphor, aber kaum Eicosapentaensäure zugesetzt. Wären die Daphnien durch diese Fettsäure limitiert gewesen, hätte nur der Zusatz der *S. hantzschii* zu einer Verbesserung der Futterqualität geführt, bzw. bei einer Limitation durch Phosphor die *S. elongatus*.

Tatsächlich wurde eine Verbesserung der Futterqualität durch beide Zusätze beobachtet. Da das Cyanobakterium keine Eicosapentaensäure enthielt, kann diese Fettsäure nicht die Ursache der Verbesserung der Futterqualität gewesen sein. Die  $\alpha$ -Linolensäure wurde dem Seston durch beide Supplementierungen zugesetzt. Da beide Zusätze zu einer Verbesserung der Futterqualität führten, kann man die  $\alpha$ -Linolensäure als die Ursache der Limitierung der Daphnien interpretieren. Dieses Ergebnis bestätigt die gute Korrelation der Wachstumsraten von *D. galeata* zu dem  $\alpha$ -Linolensäuregehalt des Sestons.

In der Literatur sind Supplementierungsversuche bisher nur mit Kulturalgen beschrieben worden. DeMott und Müller-Navarra (1997) setzten zu *Synechococcus elongatus* sehr große Mengen Emulsionen zu, die mehrfach ungesättigte Fettsäuren enthielten, und konnten dadurch die schlechte Futterqualität des Cyanobakteriums für *Daphnia* verbessern.

Obwohl *Chlamydomonas reinhardtii* keine Eicosapentaensäure oder andere langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren enthielt, wurde sie als adäquates Futter für *D. galeata* beschrieben (Weers & Gulati 1997b). Daher kann man davon ausgehen, daß die Eicosapentaensäure nicht essentiell ist. Dennoch könnte das Wachstum der Daphnien durch die Eicosapentaensäure limitiert sein.

Da in der vorliegenden Studie *D. galeata* mit *Scenedesmus acutus* als Futter trotz deren minimalen Gehalt an der Eicosapentaensäure hohe Wachstumsraten zeigte, dürften die Tiere nur minimale Mengen der Eicosapentaensäure benötigen.

In weiteren Studien wurde die Futterqualität von *S. acutus* und einer Emulsion, die zu *S. acutus* zugesetzt wurde, untersucht, wobei die Emulsion, die Eicosapentaensäure enthielt, zu einer Verbesserung der Futterqualität führte (Weers & Gulati 1997a). Dies ist ein experimenteller Hinweis auf die tatsächliche Limitierung von *Daphnia* durch die Eicosapentaensäure. Ob die Emulsion die Futterqualität in obiger Untersuchung wirklich verbesserte, ist schwierig zu beurteilen, da die Tiere, zu deren Futter zur Kontrolle eine Emulsion ohne die Eicosapentaensäure zugesetzt wurde, zu Versuchsbeginn kleiner waren und in diesem Zusammenhang die absoluten Längen und nicht die relative Zunahme der Biomasse betrachtet wurden.

Ein weiterer experimenteller Hinweis für eine Limitation von *D. galeata* durch mehrfach ungesättigte Fettsäuren wurde von Sundbom und Vrede (1997) erbracht. Durch eine Emulsion, mit der 12 mg mehrfach ungesättigte Fettsäuren pro g einer nährstofflimitierten *Scenedesmus quadricauda* zugegeben wurden, ließ sich der Gehalt des Futters an mehrfach ungesättigten Fettsäuren fast auf den einer nichtlimitierten Alge der gleichen Art aufbessern. Wurde die  $\alpha$ -linolensäurehaltige Emulsion zu dem nährstofflimitierten Algenfutter zugesetzt, so reproduzierte *D. galeata* früher als bei Zusatz einer ölsäurehaltigen Emulsion. Das Alter der ersten Reproduktion verjüngte sich weiter, wenn die zugesetzte Emulsion eine Mischung aus  $\alpha$ -Linolensäure und Eicosapentaensäure enthielt. Da in obiger Studie der Zeitpunkt der ersten Reproduktion durch die Supplementierung mit  $\alpha$ -Linolensäure und der Mischung aus  $\alpha$ -Linolensäure mit Eicosapentaensäure verkürzt wurde, kann man von einer Limitierung durch mehrfach ungesättigte Fettsäuren ausgehen. Es ist aber nicht möglich die Ursache der Limitierung einer einzelnen Fettsäure zuzuschreiben; vielmehr ist denkbar, daß die  $\alpha$ -Linolensäure und die Eicosapentaensäure gegenseitig substituierbar sind. Gegen eine Substituierbarkeit der  $\alpha$ -Linolen- und der Eicosapentaensäure spricht allerdings, daß *D. galeata* in der vorliegenden Studie durch die  $\alpha$ -Linolensäure limitiert war, obwohl den Tieren große Mengen Eicosapentaensäure im Seston zur Verfügung standen.

Auch in anderen Studien fand man Hinweise, daß eine Substituierung nicht möglich ist. Elendt (1990) bot *D. magna* Mikrokapseln mit anderer Fettsäurezusammensetzung als *Scenedesmus subspicatus*, sowie verschiedene Futtermischungen aus *S. subspicatus* und Mikrokapseln als Futter an. Dabei enthielt *S. subspicatus* keine Eicosapentaensäure, aber

deutliche Mengen der  $\alpha$ -Linolensäure. Die Mikrokapseln besaßen dagegen weniger der  $\alpha$ -Linolensäure, aber dafür große Mengen der Eicosapentaensäure. Je größer der Anteil der Mikrokapseln wurde, um so größer war die Konzentration der Eicosapentaensäure und desto geringer die der  $\alpha$ -Linolensäure im Futter. Mit steigendem Anteil der Mikrokapseln im Futter nahmen die Größen der ersten drei Gelege ab. Da die Gelegegrößen und die somatischen Wachstumsraten eng untereinander korreliert sind, können auch die Gelegegrößen als ein Maß für die Futterqualität herangezogen werden. Diese Ergebnisse sprechen nicht für eine Limitierung der Futterqualität durch die Eicosapentaensäure, sondern dafür, daß mit dem sinkenden Anteil von *S. subspicatus* im Futter möglicherweise eine Limitierung der Daphnien durch die  $\alpha$ -Linolensäure eintritt, und die Eicosapentaensäure die  $\alpha$ -Linolensäure nicht substituieren konnte.

Neben Planktonorganismen sind auch bei Steingarnellen (*Penaeus japonicus*) Verbesserungen des Wachstum bei Zugabe von  $\alpha$ -Linolensäure zum Futter bekannt (Kanazawa et al. 1977).

Auch bei Fischen sind verändertes Wachstum bei Supplementierungen des Futters mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu beobachten: Auf mit Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure angereicherten Hefen gewachsene Rotatorien verbesserten bei der Verfütterung an Fischlarven das Wachstum der Fischlarven (Watanabe & Kiron 1994). Rotatorien jedoch, denen Futter mit geringem Gehalt an Eicosapentaensäure gefüttert wurde, wuchsen nicht wesentlich schlechter, waren dann aber nur von geringem Nährwert für Fische (Watanabe et al. 1983). Daher kann man von unterschiedlichen Ansprüchen verschiedener Tierarten an bestimmte Futterinhaltsstoffe, im speziellen an die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, ausgehen.

### **4.3 Einfluß des Metabolismus auf die Futterqualität**

Der Stoffwechsel von heterotrophen Organismen besteht aus mehreren Komponenten: Im Baustoffwechsel wird organische Substanz zum Auf- und Umbau von Biomasse benötigt. Im Grundstoffwechsel muß durch den Katabolismus der als Nahrung aufgenommenen Substanz Energie in Bewegungsvorgänge allokalisiert werden.

Der Grundstoffwechsel benötigt hauptsächlich Energie, d.h. die Tiere nutzen vor allem den in der Nahrung vorkommenden Kohlenstoff, benötigen aber die mineralischen Nährstoffe für die Allokation der Energie nicht. Daher stehen in der Nahrung enthaltene mineralische

Nährstoffe, die für den Energiestoffwechsel nicht benötigt werden, für den Baustoffwechsel zusätzlich zur Verfügung.

Geht man wie Sterner et al. (1993) von einer mineralischen Limitierung des Zooplanktons aus, dann müßte mit einer abnehmenden Futterkonzentration die Futterqualität des limitierten Futters auf die Futterqualität des nicht limitierten Futters ansteigen, da dem Baustoffwechsel pro Kohlenstoffeinheit mehr mineralische Nährstoffe zur Verfügung stehen. Die erhöhte Nährstoffverfügbarkeit läge daran, daß der Anteil des Baustoffwechsels gegenüber dem des Energiestoffwechsels am Gesamtstoffwechsel abnimmt. Damit mineralische Nährstoffe des ingestierten Futters verstärkt für den Baustoffwechsel verfügbar gemacht werden, könnte es auch dazu kommen, daß der überschüssige Kohlenstoff durch Respiration als CO<sub>2</sub> oder direkt als gelöster organischer Kohlenstoff abgegeben wird (Sterner 1997).

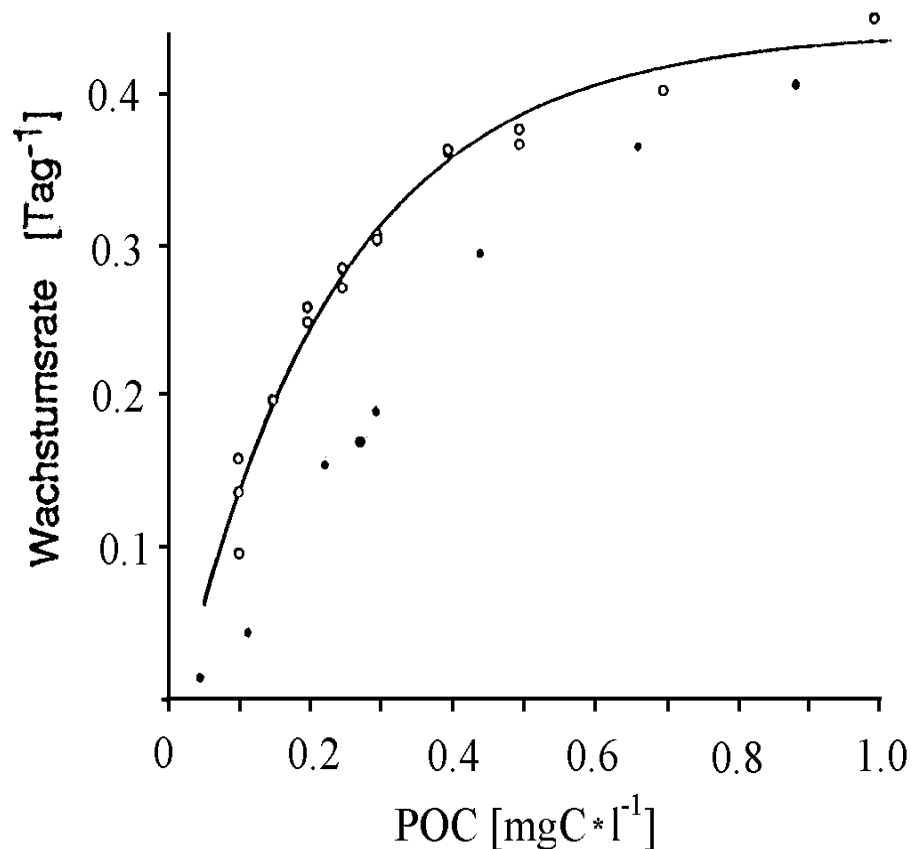
Bei einer geringen Futterkonzentration, die keine positiven Wachstumsraten von Zooplanktern ermöglicht, dürfte es bei unterschiedlich limitiertem Futter für die Tiere keine Futterqualitätsunterschiede mehr geben (Sterner & Robinson 1994), da die Tiere durch Energie (Kohlenstoff) limitiert sind (Hessen 1990).

Wäre *D. galeata* im Bodensee mineralisch limitiert gewesen (z.B. Phosphor), so hätte die Futterqualität des Sestons bei geringerer Futterkonzentration steigen müssen. In der Klarwasserphase, in der die POC-Konzentration von 0,55 auf 0,21 mgC\*l<sup>-1</sup> fiel, wurde statt dessen eine geringe Futterqualität beobachtet.

Da auch in den verdünnten Ansätzen des Sestons aus dem Bodensee die Futterqualität in der Regel geringer und in den aufkonzentrierten Ansätzen größer war, kann eine mineralische Limitierung von *D. galeata* ausgeschlossen werden.

Auch Müller-Navarra (1993) fand, daß *D. galeata* bei Fütterung mit aufkonzentriertem und anschließend auf mehrere Konzentrationen verdünntem Seston aus dem Schöhsee bei geringen Futterkonzentrationen im Vergleich zu *S. acutus* viel schlechter wuchs, bei höheren Futterkonzentrationen sich die Wachstumskurven aber näherten (Abbildung 4-1).





**Abbildung 4-1** Zunahme der Wachstumsraten von *Daphnia galeata* in Abhängigkeit von der Konzentration von *Scenedesmus acutus* (o) und Seston <30 µm (•). Aus Müller-Navarra (1993).

Geht man statt einer mineralischen Limitierung aber von einer Limitierung von *D. galeata* durch den  $\alpha$ -Linolensäuregehalt des Futters aus, so läßt sich die Verbesserung der Futterqualität mit zunehmender Futterkonzentration besser erklären. Denn es ist durchaus möglich, daß bei geringen Futterkonzentrationen die mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit zum Energiestoffwechsel herangezogen werden, und dadurch dem Baustoffwechsel als Ressource entzogen werden. So wurde bei Meeresbrassen bei Nahrungsentzug eine Abnahme von mehrfach ungesättigten Fettsäuren beobachtet, woraus die Autoren folgerten, daß mehrfach ungesättigte Fettsäuren auch als Substrate für den Katabolismus dienen (Watanabe & Kiron 1994).

Man könnte sich vorstellen, daß es zur Aufrechterhaltung der Körperfunktionen wichtig ist, daß Biomembranen und auch signalübermittelnde Komponenten, die aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren gebildet werden, regelmäßig ersetzt oder repariert werden müssen. Da dieser Bedarf auch bei geringen Futterkonzentrationen besteht, können geringe Gehalte

an Linol- oder  $\alpha$ -Linolensäure die Futterqualität auch bei geringen Futterkonzentrationen verschlechtern, wodurch sich die Verschlechterung der Futterqualität durch Verdünnen des Sestons erklären ließe.

#### 4.4 Fettsäuren: essentiell oder limitierend?

In erster Linie scheinen Daphnien auf die Aufnahme von Lipiden durch die Nahrung angewiesen zu sein, da 98 % der akkumulierten Lipide in den Cladoceren aus der Nahrung stammten und nur 1,6 % der Fettsäuren konnten unter guten Futterbedingungen *de novo* synthetisiert werden (Goulden & Place 1990). Von einer Limitierung kann jedoch nur ausgegangen werden, wenn die endogene Synthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren den Bedarf der Tiere nicht decken kann. Je nachdem, ob möglicherweise limitierende Nahrungsbestandteile durch Konvertierung aus anderen Fettsäuren hergestellt werden können, sind sie als partiell substituierbare oder als nicht substituierbare Ressourcen zu betrachten.

Da insbesondere Fettsäuren, die zwei oder drei Doppelbindungen enthalten, von Tieren nicht endogen synthetisiert werden können und in der Physiologie von Tieren wichtige Rollen spielen, müssen sie mit der Nahrung aufgenommen werden (Cook 1996). In der Regel sind dies Linolsäure (C18:2(n-6)) und  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)). Falls auch Daphnien nicht in der Lage sind zweite oder dritte Doppelbindungen in Fettsäuren einzufügen, könnten geringe Konzentrationen von Linol- oder  $\alpha$ -Linolensäure im Seston zur Limitation von Daphnien führen.

Die Linolsäure und die  $\alpha$ -Linolensäure dienen als wichtige Bestandteile in Membranphospholipiden, die wichtige strukturelle und komplexe physiologische Aufgaben in Biomembranen übernehmen (Stanley-Samuelson et al. 1988). Gleichzeitig sind sie Vorläufer für länger-kettige ungesättigte Fettsäuren, die wiederum Vorläufer für Prostaglandine, Thromboxane und Leukotriene sind (Urich 1990).

Dazu muß die  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) durch Elongation und Desaturierung weiter in die längeren, mehr ungesättigten Fettsäuren Eicosapentaensäure (C20:5(n-3)) und Docosahexaensäure (C22:6(n-6)) umgewandelt werden. Es ist aber nicht eindeutig klar, ob diese Elongation und Desaturierung in Süßwassercladoceren stattfindet (Weers et al. 1997). Inkorporationsexperimente mit markierter Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure zeigten minimale Konversion der beiden markierten Fettsäuren zu mehrfach ungesättigten Fettsäuren mit Kettenlängen von 20 Kohlenstoffatomen in *Daphnia* (Weers et al. 1997). Daher ist die

Eicosapentaensäure nicht essentiell. Dennoch könnte die endogene Synthese von Eicosapentaensäure aus Vorläuferfettsäuren so gering sein, daß es trotzdem zu einer Limitierung der Daphnien durch die Eicosapentaensäure bei sehr geringen Eicosapentaensäuregehalten im Futter kommt.

#### 4.5 Wachstum mit Kulturalgen

In der vorliegenden Arbeit zeigte das Wachstum von *D. galeata*, die mit *S. acutus*, *S. hantzschii* und *S. elongatus* gefüttert wurden, daß die Alge mit dem größten Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)), *S. acutus*, die beste Futterqualität besaß, gefolgt von *S. hantzschii* mit geringerem Gehalt und *S. elongatus* mit minimalsten Mengen dieser Fettsäure. Das stimmt zumindest qualitativ mit den Ergebnissen aus den Versuchen mit natürlichem Seston überein. Die Frage, ob sich die gefundene Korrelation der Wachstumsraten von *D. galeata* mit dem  $\alpha$ -Linolensäuregehalt des Sestons auch quantitativ auf die Kulturalgen übertragen läßt, ist schwierig zu beantworten, da bei den verfütterten Kulturalgen zum Teil ganz andere Konzentrationsverhältnisse zwischen der  $\alpha$ -Linolen- und anderen Futterinhaltsstoffen wie z.B. der Eicosapentaensäure herrschen als in der verfütterten Sestonfraktion. Daher kann es bei der Verfütterung von Kulturalgen auch zu Limitierungen durch andere Futterinhaltsstoffe von *Daphnia* kommen.

Im Vergleich zum natürlichen Seston waren die Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolensäure bei den Futteransätzen mit *S. acutus* sehr hoch. Wäre das Wachstum von *D. galeata* durch die  $\alpha$ -Linolensäure von *S. acutus* limitiert gewesen, dann hätten die Tiere aufgrund dieser hohen Konzentration größere Wachstumsraten als die beobachteten zeigen müssen. Daher müßten andere Faktoren, wie z.B. andere Fettsäuren oder Aminosäuren limitierend gewesen sein.

Bei Müller-Navarra (1993) korrelierte das Wachstum von *D. galeata* gut mit der Eicosapentaensäure des verfütterten natürlichen Sestons. Sie verwendete aber auch *S. acutus* als Futter. Diese Alge enthielt jedoch geringere Mengen als die von Müller-Navarra (1993) für *D. galeata* als limitierend postulierten Konzentration der Eicosapentaensäure, so daß sie das gute Wachstum von *D. galeata* mit *S. acutus* nicht erklären konnte.

In der vorliegenden Arbeit lagen die Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolen- und der Eicosapentaensäure in *S. hantzschii* im Gegensatz zu denen in *S. acutus* im gleichen Konzentrationsbereich wie im Seston. Berechnet man die Wachstumsraten von *D. galeata* mit Hilfe der aus den Sestonversuchen ermittelten Regressionsgleichung aufgrund des

$\alpha$ -Linolensäuregehaltes im Futter, dann sind die errechneten Wachstumsraten nur wenig geringer als die tatsächlich beobachteten (Abbildung 3-23). Das bessere Wachstum könnte eine Zehrung von internen Reserven als Ursache haben, da die Tiere endogene Reservestoffe in Form von Lipiden besitzen, die maternaler Herkunft sein können (Cowgill et al. 1984), aber vielleicht auch während der zweitägigen Vorhälterung als Vorrat angelegt werden konnten. Durch diese endogenen Reserven wären dann geringe Futtermengen (Cowgill et al. 1984), oder auch Mängel an bestimmten Futterinhaltsstoffen über eine kurze Zeit überbrückbar.

Dieser Fall scheint in der vorliegenden Studie bei der Verfütterung von *S. elongatus* verstärkt der Fall gewesen zu sein, da die Tiere positives Wachstum zeigten, obwohl die oben angewandte Regressionsgleichung aufgrund des mit der Alge verfütterten geringen  $\alpha$ -Linolensäuregehaltes negative Wachstumsraten der Tiere vorhersagte (Abbildung 3-23).

Wäre das Wachstum über einen längeren Zeitraum beobachtet worden, dann wären die beobachteten Wachstumsraten vermutlich geringer, vielleicht sogar negativ gewesen, denn bei Umstellung von adäquatem Futter (*S. acutus*) auf schlechtes Futter (*S. elongatus*) zeigte *D. galeata* erst zwei Tage später signifikante Unterschiede im Wachstum gegenüber weiterhin bei gutem Algenfutter kultivierten Tieren (Abbildung 3-1). Daraus läßt sich schließen, daß die endogenen Reserven nach zwei Tagen erschöpft waren.

DeMott und Müller-Navarra (1997) fanden ähnliche Ergebnisse: *D. pulicaria*, die mit *Scenedesmus* vorkultiviert worden waren, zeigten bei anschließender Inkubation mit *Synechococcus* erst nach zwei Tagen eine Abnahme der Wachstumsraten, was auf eine mögliche Zehrung zuvor gespeicherter mehrfach ungesättigter Fettsäuren zurückgeführt wurde.

#### 4.6 Saisonale Sukzession der Futterqualität

Im Bodensee betrug der Anteil von centralen Diatomeen am Biovolumen der von Zooplankton freißbaren Fraktion bis zur Klarwasserphase meist weit über 50 %. Weiterhin bildeten Cryptophyceen einen großen Anteil und nahmen in der Klarwasserphase sogar noch zu (Gaedke pers. Mitt.). Da Ahlgren et al. (1990) Cryptophyceen und centrale Diatomeen als gute Futterqualität für Daphnien befanden, könnte die Artenzusammensetzung im Frühjahr auch für die gute Futterqualität des Sestons für *D. galeata* verantwortlich gemacht werden. Die resultierenden hohen Abundanzen der Daphnien konnten das Phytoplankton auf geringe Konzentrationen dezimieren und damit die Klarwasserphase einleiten.

Die Ursache der beobachteten geringen Futterqualität in der Klarwasserphase könnte darin bestehen, daß während dieser Phase erstmals größere Biomassen Chlorophyceen schlechter Futterqualität auftraten und centrale Diatomeen annähernd verschwanden.

Nach der Klarwasserphase nahm der Anteil von Dinophyceen zu, die zum Teil große Mengen mehrfach ungesättigter Fettsäuren enthalten (Cobelas & Lecharo 1988), der von pennalen Diatomeen aber ab. Daher könnte man den Wiederanstieg der Futterqualität nach der Klarwasserphase durch den größeren Anteil der Dinophyceen erklären.

Ende Juli traten centrale Diatomeen, die für hohen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren bekannt sind, wieder verstärkt auf, wodurch sich die Futterqualität für fettsäurelimitierte Daphnien hätte verbessern müssen. Die Futterqualität war jedoch gering, was an dem zu diesem Zeitpunkt hohen C:P-Verhältnis liegen könnte. Denn erstens enthalten phosphorlimitierte Algen geringere Mengen mehrfach ungesättigter Fettsäuren als unlimitierte und zweitens kann es bei sehr hohen C:P-Verhältnissen zu einer direkten Limitation der Daphnien durch Phosphor kommen.

#### 4.7 Bedeutung einer Limitation planktischer Organismen durch mehrfach ungesättigte Fettsäuren

Aus Laborversuchen gibt es Hinweise darauf, daß zwischen Zooplanktonarten Unterschiede hinsichtlich des Bedarfs an mehrfach ungesättigten Fettsäuren bestehen könnten. So fanden DeMott und Müller-Navarra (1997) für *D. magna* besseres Wachstum mit *Synechococcus*, die kaum mehrfach ungesättigte Fettsäure enthielt, als für *D. galeata*.

Daß es auch für andere Zooplanktonarten wie *Chydorus*, *Daphnia* und *Eubosmina* verschiedene Ansprüche an die Nahrung gibt, wurde von Ahlgren et al. (1990) gezeigt: *Chydorus* zeigte auf Cyanobakterien positives Wachstum während *Daphnia* sich mit Cyanobakterien nicht kultivieren ließ.

Für eine niedrigere Futterschwellenkonzentration von *D. hyalina* gegenüber der im Bodensee koexistierenden *D. galeata* spricht, daß *D. hyalina* mit *Rhodomonas* als Futteralge durchweg die höheren Wachstumsraten zeigte (Giani 1991). Bei geringen Konzentrationen von *Scenedesmus* ( $0,2 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$  und  $0,1 \text{ mgC} \cdot \text{l}^{-1}$ ) reproduzierte *D. hyalina* besser als *D. galeata* (Stich & Lampert 1984). Für eine niedrigere Futterschwellenkonzentration und damit einen möglicherweise geringeren Bedarf an mehrfach ungesättigten Fettsäuren von *D. hyalina* spricht auch, daß *D. galeata* sich erst mit der Eutrophierung im Bodensee etablieren konnte. Somit könnte Konkurrenz um limitierende Mengen von mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu Verschiebungen in der Artenzusammensetzung des Zooplanktons führen.

Nimmt der Phosphorgehalt des Bodensees im Rahmen der Reoligotrophierung weiter ab, könnte es durchaus sein, daß die Vorhersagekraft der mehrfach ungesättigten Fettsäuren (im speziellen die  $\alpha$ -Linolensäure) durch eine direkte Abhängigkeit des Wachstums von *D. galeata* von dem verfügbaren Phosphor ersetzt wird.

Einen entscheidenden Einfluß auf die Konkurrenz zwischen herbivoren Organismen kann auch die Eigenschaft mancher Insekten haben, Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure *de novo* zu synthetisieren (Blomquist et al. 1982). Denn wenn die Tiere nicht auf die Aufnahme von Linol- und  $\alpha$ -Linolensäure angewiesen sind, besitzen sie entscheidende Vorteile gegenüber Arten, die durch die Fettsäuren limitiert sind. Es gibt aber auch Beispiele für das Gegenteil: So sind Moskitos sogar auf die Aufnahme eines Nachläufermoleküls der Linolsäure, der Arachidonsäure mit ihrer Nahrung angewiesen (Blomquist et al. 1991).

Der Copepode *Eudiaptomus gracilis* durchlief bei Futterangebot mit den viel Eicosapentaensäure enthaltenden *Cryptomonas* sp. und *Rhodomonas minuta* die komplette juvenile Entwicklung, während mit *Chlamydomonas* sp. , die keine Eicosapentaensäure

enthält, die Entwicklung spätestens im zweiten Copepoditstadium stoppte (Santer 1994); mit *Scenedesmus acutus* und *Cyclotella meneghiniana* starben alle Nauplien, so daß die Eicosapentaensäure für komplizierte ontogenetische Entwicklungsvorgänge möglicherweise limitierend ist.

Wenn mehrfach ungesättigte Fettsäuren für die Effektivität verantwortlich sind, mit der Phytoplankton- in Zooplanktonbiomasse umgewandelt wird, dann könnten in Zukunft Analysen der Fettsäurezusammensetzung des Sestons für die Sekundärproduktion ähnliche Parameter darstellen wie dies z.B. Nährstoff- und Chlorophyllgehalte für die Primärproduktion sind.

## 5 Zusammenfassung

Herbivores Zooplankton nimmt in pelagischen Nahrungsnetzen eine Schlüsselposition ein, da es die autotroph produzierte Biomasse für höhere trophische Ebenen verfügbar macht. In der vorliegenden Untersuchung wurde *Daphnia galeata* als Organismus gewählt, da diese Cladocere im Bodensee zusammen mit *D. hyalina* für das Zustandekommen des ausgeprägten Klarwasserstadiums verantwortlich gemacht wird und gleichzeitig als wichtige Nahrung für planktivore Fische gilt. *Daphnia*, deren Nahrung aus Seston besteht, nimmt eine wichtige Schlüsselrolle in dem Ökosystem See ein; dessen Futterqualität neben qualitativen auch quantitativen saisonalen Veränderungen unterliegt.

Daher wurde in der vorliegenden Arbeit von Mai bis Oktober 1997 die saisonale Veränderung der Futterqualität des natürlichen Sestons aus dem Bodensee für *D. galeata* untersucht. Aus dem natürlichen Futter wurden die Konzentrationen des partikulären organischen Kohlenstoffs, Stickstoffs und Phosphors bestimmt und die Fettsäuren als Fettsäuremethylester gaschromatographisch quantifiziert. Alle Meßgrößen des Futters wurden mit den Wachstumsraten der Daphnien korreliert und so die zur Beschreibung der Futterqualität von Seston für *D. galeata* geeignetste Meßgröße ermittelt.

Zur Ermittlung der Futterqualität wurde in einem Durchflußsystem in standardisierten Wachstumsexperimenten das somatische Wachstum von *D. galeata* bei Verfütterung des natürlichen Sestons bestimmt. Die mit dem Seston als Futter ermittelten Wachstumsraten wurden auf das Wachstum der Daphnien bezogen, das bei gleicher Futterkonzentration mit einer Referenzalge aus einer Laborkultur (*Scenedesmus acutus*) beobachtet wurde, und der so erhaltene relative Wert als Maß für die Futterqualität betrachtet.

Die Futterqualität des Sestons zeigte eine saisonale Entwicklung: Während des Frühjahres lag sie über 100 %, erreichte im Sommer Werte um 60-80 % und stieg im Herbst auf Werte von 90 % an.

Die bei der Verfütterung von Seston ermittelten somatischen Wachstumsraten von *D. galeata* korrelierten unterschiedlich gut mit den Meßgrößen des partikulären Sestons. Das somatische Wachstum von *Daphnia* als Funktion der Futterkonzentration zeigt Sättigungsverhalten. Deshalb wurden die bei der Verfütterung von Seston ermittelten somatischen Wachstumsraten einer nichtlinearen Regression nach dem Monodmodell unterzogen. Partikulärer organischer Kohlenstoff, Stickstoff und Phosphor erklärten die Varianz der Wachstumsraten mit Bestimmtheitsmaßen von  $r^2 = 0,48$  (n.s.) ; 0,67 bzw. 0,63 schlecht. Die Korrelation mit einzelnen der 23 quantifizierten Fettsäuren ergab für mehrfach ungesättigte Fettsäuren der Kettenlänge C20 und C22 (Arachidon-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure) Bestimmtheitsmaße von  $r^2 = 0,53$  ; 0,65 bzw. 0,43 , die dem für



Phosphor vergleichbar waren. Die beste Korrelation ergab sich für die  $\alpha$ -Linolensäure (C18:3(n-3)) und die Stearidonsäure (C18:4(n-3)) mit  $r^2=0,91$  bzw. 0,85 .

Um zu klären, inwieweit die Futterqualität des Sestons im saisonalen Verlauf vom Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren oder vom Phosphorgehalt abhängt, wurde zeitgleich zum natürlichen auch supplementiertes Seston verfüttert. In den zwei Supplementierungsansätzen wurde das Seston mit geringen Biomassen der phosphorlimitierten Diatomee *Stephanodiscus hantzschii* oder des phosphorgesättigten Cyanobakteriums *Synechococcus elongatus* versetzt.

Mit Zusatz der Diatomee wurden die relativen Anteile längerkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren im Seston erhöht, ohne daß sich der Phosphorgehalt änderte. Bei Erhöhung der Futterqualität durch die Zugabe von *S. hantzschii* wäre dies ein Hinweis auf eine Limitierung von *D. galeata* durch längerkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren und auf keine Limitierung durch den Phosphorgehalt des Sestons. Umgekehrt wurden die relativen Anteile längerkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren durch die Zugabe des Cyanobakteriums im Seston kaum verändert; der Phosphorgehalt des Sestons wurde dagegen erhöht. Eine Erhöhung der Futterqualität durch den Zusatz von *S. elongatus* wäre ein Hinweis auf eine Limitierung von *D. galeata* durch den Phosphorgehalt des Sestons und nicht durch längerkettige mehrfach ungesättigte Fettsäuren.

Fast über die ganze Versuchsperiode hinweg führte sowohl die Supplementierung mit *S. hantzschii* als auch der Zusatz von *S. elongatus* zu einer Erhöhung der Futterqualität des Sestons. Dies schließt eine Limitierung von *D. galeata* durch den Phosphorgehalt des Sestons zu diesen Zeitpunkten aus. Mit der Zugabe beider Algen wurde  $\alpha$ -Linolensäure eingebracht, wodurch sich die Verbesserung der Futterqualität in beiden Fällen erklärt.

Im Frühjahr führte weder der Zusatz von *S. hantzschii* noch der von *S. elongatus* zu einer Veränderung der Futterqualität, was sich durch die zu diesem Zeitpunkt maximalen Konzentrationen der  $\alpha$ -Linolensäure erklärt. Im Hochsommer führte nur der Zusatz des Cyanobakteriums, aber nicht der der phosphorlimitierten Diatomee zu einer Erhöhung der Futterqualität. Dies deutet auf eine hochsommerliche Limitation von *D. galeata* durch den Phosphorgehalt des Sestons hin und wird durch den zu diesem Zeitpunkt minimalen Phosphorgehalt des Sestons (molares C:P-Verhältnis 300:1) gestützt.

Im Hochsommer wurden zusätzlich die Wachstumsraten von *D. galeata* bestimmt, die mit Seston aus dem flachen eutrophen Teil des Bodensees, dem Untersee gefüttert wurden. Dort betrug das molare C:P-Verhältnis des Sestons nur 115:1 und eine Limitierung von *D. galeata* durch den Phosphorgehalt war nicht zu erkennen. Durch die  $\alpha$ -Linolensäurekonzentration im Sestons des Untersees ließ sich unter Verwendung der Regressionsgleichung, die mit Seston aus dem Obersee ermittelt worden war, die

Wachstumsrate von *D. galeata* exakt vorhersagen. Dies legt nahe, daß die im Obersee gefundene Vorhersagbarkeit der Futterqualität durch den  $\alpha$ -Linolensäuregehalt des Sestons auch auf Seen anderer Trophie übertragbar ist.

Die Futterqualität des Sestons aus dem Bodensee für *D. galeata* konnte über eine Schichtungsperiode hinweg korrelativ am besten durch den Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure bzw. Stearidonsäure beschrieben werden. Durch Supplementierungen mit *S. hantzschii* und *S. elongatus* konnte gezeigt werden, daß es nur im Hochsommer zu einer Phosphorlimitierung von *D. galeata* kam, während der übrigen Saison aber die Futterqualität durch den Gehalt von  $\alpha$ -Linolensäure bestimmt war.

## 6 Literaturverzeichnis

Ahlgren, G.; Lundstedt, L.; Brett, M.T.; Forsberg, C. (1990) Lipid composition and food quality of some freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters. *Journal of Plankton Research* 12: 809-818

Ahlgren, G.; Gustafsson, I.-B.; Boberg, M. (1992) Fatty acid content and chemical composition of freshwater phytoplankton for cladoceran zooplankters. *Journal of Phycology* 28: 37-50

Beenackers, A.M.T.; Van der Horst, D.J.; Van Marrewijk, W.J.A. (1985) Insect lipids and lipoproteins, and their physiological processes. *Progress in Lipid Research* 24: 19-67

Blomquist, G.J.; Dwyer, L.A.; Chu, A.J.; Ryan, R.O.; de Renobales, M. (1982) Biosynthesis of linoleic acid in an termite, cockroach and cricket. *Insect Biochemistry* 12: 349-353

Blomquist, G.J.; Borgeson, C.E.; Vundla, M. (1991) Polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in insects. *Insect Biochemistry* 21: 99-106

Boersma, M.; Vijverberg, J. (1995) Synergistic effects of different food species on life-history traits of *Daphnia galeata*. *Hydrobiologia* 307: 109-115

Braun, E.; Schärpf, K. (1994) Internationale Bodensee-Tiefenvermessung 1990. Landesvermessungsamt Baden-Württemberg

Brett, M.T. (1993) Comment on "Possibility of N or P limitation for planktonic cladocerans: An experimental test" (Urabe and Watanabe) and "Nutrient element limitation of zooplankton production" (Hessen). *Limnol Oceanogr* 38: 1333-1337

Cobelas, M.A.; Lechardo, J.Z. (1988) Lipids in Microalgae. A review I. *Biochemistry. Grasas y Aceites* 40: 118-145

- Cook, H.W. (1996) Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. Vance, D.E., Vance, J.E. (eds) *In Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Elsevier Science, Amsterdam, 129-152
- Cowgill, U.M.; Williams, D.M.; Esquivel, J.B. (1984) Effects of maternal nutrition on fat content and longevity of neonates of *Daphnia magna*. *Journal of Crustacean Biology* 4: 173-190
- De Bernardi, R.; Giussani, R.G.; Pedretti, E.L. (1981) The significance of blue-green algae as food for filtering zooplankton: experimental studies on *Daphnia* spp. fed by *Microcystis aeruginosa*. *Verh Internat Verein Limnol* 21: 477-483
- Demott, W.R. (1986) The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. *Oecologia* 69: 334-340
- Demott, W.R.; Müller-Navarra, D.C. (1997) The importance of highly unsaturated fatty acids in zooplankton nutrition: evidence from experiments with *Daphnia*, a cyanobacterium and lipid emulsions. *Freshwater Biology* 38: 649-664
- Elendt, B.-P. (1990) Nutritional quality of a microencapsulated diet for *Daphnia magna*. Effects on reproduction, fatty acid composition, and midgut ultrastructure. *Archives for Hydrobiology* 118: 461-475
- G-Toth, L.; Zankai, N.P.; Messner, O.M. (1987) Alga consumption of four dominant planktonic crustaceans in Lake Balaton (Hungary). *Hydrobiologia* 145: 323-332
- Geller, W.; Muller, H. (1981) The filtration apparatus of cladocera: filter mesh-sizes and their implications on food selectivity. *Oecologia* 49: 316-321
- Giani, A. (1991) Implications of phytoplankton chemical composition for zooplankton production: experimental evidence. *Oecologia* 87: 409-416
- Goldman, C.R.; McCarthy, J.J.; Peavey, D.G. (1979) Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. *Nature* 279: 210-215

- Gophen, M.; Geller, W. (1984) Filter mesh size and food particle uptake by *Daphnia*. *Oecologia* 64: 408-412
- Goulden, C.E.; Place, A.R. (1990) Fatty acid synthesis and accumulation rates in Daphniids. *Journal of Experimental Zoology* 256: 168-178
- Guillard, R.R.L. (1975) Cultures of phytoplankton for feeding of marine invertebrates. Smith, W.L., Chanley, M.H. (eds) *In Culture of marine invertebrate animals*. Plenum, New York: 29-60
- Harrison, P.J.; Thompson, P.A.; Calderwood, G.S. (1990) Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. *Journal of Applied Phycology* 2: 45-56
- Hessen, D.O. (1990) Carbon, nitrogen and phosphorus status in *Daphnia* at varying food conditions. *Journal of Plankton Research* 12: 1239-1249
- Hessen, D.O. (1992) Nutrient element limitation of zooplankton production. *American Naturalist* 140: 799-814
- Hessen, D.O.; Andersen, T. (1990) Bacteria as a source of phosphorus for zooplankton. *Hydrobiologia* 206: 217-233
- Hessen, D.O.; Andersen, T. (1992) The algal-grazer interface: feedback mechanisms linked to elemental ratios and nutrient cycling. *Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol* 35: 111-120
- Hessen, D.O.; Lyche, A. (1991) Inter- and intraspecific variations in zooplankton element composition. *Arch Hydrobiol* 121: 343-353

- Infante, A.; Abella, S.E.B. (1985) Inhibition of *Daphnia* by *Oscillatoria* in Lake Washington. *Limnol Oceanogr* 30: 1046-1052
- Jüttner, F.; Leonhardt, J.; Möhren, S. (1983) Environmental factors affecting the formation of mesityloxid, dimethylallylic alcohol and other volatile compounds excreted by *Anabaena cylindrica*. *Jo. Gen. Microbiol.* 129: 407-412
- Kanazawa, A.; Tokiwa, S.; Kayama, M.; Hirata, M. (1977) Essential fatty acids in the diet of prawn - 1. Effects of linoleic and linolenic acids on growth. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 43: 1111-1114
- Lampert, W. (1977) Studies on the carbon balance of *Daphnia pulex* as related to environmental conditions. IV. Determination of the threshold concentration as a factor controlling the abundance of zooplankton species. *Arch Hydrobiol Beih Ergebn Limnol* 48: 361-368
- Lampert, W. (1978) A field study on the dependence of the fecundity of *Daphnia* spec. of food concentration. *Oecologia* 36: 363-369
- Lampert, W. (1987) Laboratory studies on zooplankton - cyanobacteria interactions. *N Z J Mar Freshwater Res* 21: 483-490
- Lampert, W.; Schmitt, R.-D.; Muck, P. (1988) Vertikal migration of freshwater zooplankton: test of some hypothesis predicting a metabolic advantage. *Bull Mar Sci* 43: 620-640
- Lampert, W. (1993) Phenotypic plasticity of the size at first reproduction in *Daphnia*: The importance of maternal size. *Ecology* 74: 1455-1466
- Lampert, W.; Trubetskova, I. (1996) Juvenile growth rate as a measure of fitness in *Daphnia*. *Functional Ecology* 10: 631-635

Langdon, C.J.; Waldock, M.J. (1981) The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. Journal of marine biology Association U K 61: 431-448

Lundstedt, L.; Brett, M.T. (1991) Differential growth rates of 3 cladoceran species in response to mono-algal and mixed-algal cultures. Limnol Oceanogr 36: 159-165

McMahon, J.W.; Rigler, F.H. (1965) Feeding rate of *Daphnia magna* Straus in different foods labeled with radioactive phosphorus. Limnol Oceanogr 10: 105-113

Müller-Navarra, D.C. (1993) Quantifizierung von Nahrungsqualität für herbivores Zooplankton. 1-135(Dissertation, Christian-Albrechts-Universität Kiel)

Müller-Navarra, D.C. (1995a) Biochemical versus mineral limitation in daphnia. Limnology and Oceanography 40: 1209-1214

Müller-Navarra, D.C. (1995b) Evidence that a highly unsaturated fatty acid limits *Daphnia* growth in nature. Archiv fur Hydrobiologie 132: 297-307

Oksanen, L. (1988) Ecosystem organization: Mutualism and cybernetics or plain Darwinian struggle for existence. American Naturalist 131: 424-444

Reitan, K.I.; Rainuzzo, J.R.; Olsen, Y. (1994) Effect of nutrient limitation on fatty-acid and lipid-content of marine microalgae. Journal of Phycology 30: 972-979

Santer, B. (1994) Influences of food type and concentration on the development of *Eudiaptomus gracilis* and implications for interactions between calanoid and cyclopoid copepods. Arch Hydrobiol 131: 141-159

Shifrin, N.S.; Chisholm, S.W. (1981) Phytoplankton lipids: interspecific differences and effects of nitrate, silicate and light-dark cycles. Journal of Phycology 17: 374-384

Sommer, U. (1992) Phosphorus-limited *Daphnia*: Intraspecific facilitation instead of competition. Limnol Oceanogr 37: 966-973

- Stanley-Samuelson, D.W.; Jurenka, R.A.; Cripps, C.; Blomquist, G.J.; Derenobales, M. (1988) Fatty acids in Insects: Composition, metabolism, and biological significance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 9: 1-33
- Stanley-Samuelson, D.W. (1994a) Assessing the significance of prostaglandins and other eicosanoids in insect physiology. *Journal of Insect Physiology* 40: 3-11
- Stanley-Samuelson, D.W. (1994b) Prostaglandins and related eicosanoids in insects. Evans, P.D. (ed) *In Advances in Insect Physiology*. Academic Press, London, 115-212
- Sterner, R.W. (1990) The ratio of nitrogen to phosphorus resupplied by herbivores: zooplankton and the algal competitive arena. *American Naturalist* 136: 209-229
- Sterner, R.W. (1993) *Daphnia* growth on varying quality of *Scenedesmus*: mineral limitation of zooplankton. *Ecology* 74: 2351-2360
- Sterner, R.W.; Hagemeyer, D.D.; Smith, W.L.; Smith, R.F. (1993) Phytoplankton nutrient limitation and food quality for *Daphnia*. *Limnol Oceanogr* 38: 857-871
- Sterner, R.W. (1997) Modeling interactions of food quality and quantity in homeostatic consumers. *Freshwater Biology* 38: 473-482
- Sterner, R.W.; Robinson, J.L. (1994) Thresholds for growth in *Daphnia magna* with high and low phosphorus diets. *Limnol Oceanogr* 39: 1228-1232
- Stich, H.-B.; Lampert, W. (1981) Predator evasion as an explanation of diurnal vertical migration by zooplankton. *Nature* 293: 396-398
- Stich, H.-B.; Lampert, W. (1984) Growth and reproduction of migrating and non-migrating *Daphnia* species under simulated food and temperature conditions of diurnal vertical migration. *Oecologia* 61: 192-196



- Sundbom, M.; Vrede, T. (1997) Effects of fatty acid and phosphorus content of food on the growth, survival and reproduction of *Daphnia*. *Freshwater Biology* 38: 665-674
- Tilman, D. (1982) *Resource Competition and Community Structure*. University Press, Princeton N J
- Urabe, J. (1995) Direct and indirect effects of zooplankton on seston stoichiometry. *Ecoscience* 2: 286-296
- Urabe, J.; Sterner, R.W. (1996) Regulation of herbivore growth by the balance of light and nutrients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93: 8465-8469
- Urabe, J.; Watanabe, T. (1992) Possibility of N or P limitation for planktonic cladocerans: An experimental test. *Limnol Oceanogr* 37: 244-251
- Urich, K. (1990) *Vergleichende Biochemie der Tiere*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart - New York
- Van Donk, E.; Lürling, M.; Hessen, D.O.; Lokhorst, G.M. (1997) Altered cell wall morphology in nutrient-deficient phytoplankton and its impact on grazers. *Limnol Oceanogr* 42: 357-364
- Van Donk, E.; Hessen, D.O. (1993) Grazing resistance in nutrient-stressed phytoplankton. *Oecologia* 93: 508-511
- Van Donk, E.; Hessen, D.O. (1995) Reduced digestibility of UV-B stressed and nutrient-limited algae by *Daphnia magna*. *Hydrobiologia* 307: 147-151
- Watanabe, T.; Kitajima, C.; Fujita, S. (1983) Nutritional values of live organism used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34: 115-143
- Watanabe, T.; Kiron, V. (1994) Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124: 223-251

Weers, P.M.M.; Siewertsen, K.; Gulati, R.D. (1997) Is the fatty acids composition of *Daphnia galeata* determined by the fatty acid composition of the ingested diet? *Freshwater Biology* 38: 731-738

Weers, P.M.M.; Gulati, R.D. (1997a) Effect of the addition of polyunsaturated fatty acids to the diet on the growth and fecundity of *Daphnia galeata*. *Freshwater Biology* 38: 721-730

Weers, P.M.M., Gulati, R.D. (1997b) Growth and reproduction of *Daphnia galeata* in response to changes in fatty acids, phosphorus and nitrogen in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Limnol Oceanogr* (in press)

Wessels, M. (1998) Geological History of the lake Constance area. *In*: Bauerle, E. & Gaedke, U.: Lake Constance. Characterization of an ecosystem in transition. *Arch Hydrobiol Suppl* (in press)