

Monika NAUSCH

Institut für Ostseeforschung, Warnemünde

Bakterielle Prozesse auf *Trichodesmium*-Kolonien im Vergleich mit anderen Aggregaten

Abstract

Bacterial production and extracellular enzyme activities of adherent bacteria on *Trichodesmium* colonies were investigated during two cruises, in May/June 1994 in the Caribbean Sea and in the North Atlantic and in October 1995 in the Arabean Sea. The results were compared with those of free living bacteria and with data of marine and lake snow aggregates from the literature. The bacterial dynamics on *Trichodesmium* colonies are the same than on other aggregates. The bacterial abundances seem to be lower on the colonies than on aggregates. Cell sizes and cell shapes are similar. *Trichodesmium* colonies are a source of low molecular weight substances for free living bacteria. But, they are also a source of free living bacteria itself.

Einleitung

Makroaggregate wie "Marine Snow" und "Lake Snow" als auch Aggregate in Küstenregionen sind Orte intensiver Stoffwechselaktivität. Im Vergleich zum umgebenden Wasser kommt es hier zu einer Anreicherung von organischem Material bestehend aus organischem Detritus, lebenden Mikroorganismen (Bakterien, Algen) und anorganischen Partikeln. Verstärkte Aggregatbildung ist an das Auftreten von Planktonblüten gekoppelt. In der Ostsee dominieren in Phytoplanktonaggregaten im Frühjahr Diatomeen, während sie im Sommer überwiegend aus Cyanobakterien (*Microcystis* spp., *Nodularia*, SCHMIDT 1997) bestehen. Bezüglich Größe, Struktur und Zusammensetzung sind diese Aggregate sehr heterogen. Sie sind häufig amorph, so daß sich ihre Größe und Struktur während der Probenahme und der Bearbeitung verändert. Aus diesen Gründen ist es für viele untersuchte Parameter sehr schwer, eine reale Bezugsbasis für die Bewertung zu finden. *Trichodesmium*-Kolonien (Cyanobakteria) der tropischen und subtropischen Ozeane können mit einer Größe von 1-5mm zu den Makroaggregaten gezählt werden. Im Vergleich zu den oben erwähnten Aggregaten sind *Trichodesmium*-Kolonien weniger heterogen und wegen ihrer Stabilität gut zu handhaben. Aus diesen Gründen stellen sie für eine Reihe von Untersuchungen an Aggregaten eine Alternative dar.

Auf zwei Reisen, im Jahre 1994 in der Karibischen See und 1995 im Arabischen Meer, wurde die bakterielle Produktion und bakterielle extrazelluläre Enzymaktivitäten auf *Trichodesmium*-Kolonien untersucht und mit Literaturdaten von "Marine Snow" und "Lake Snow" verglichen, um festzustellen, inwiefern Parallelen oder Diskrepanzen bestehen. Ferner wurde untersucht, ob *Trichodesmium*-Kolonien Bakterien ins umgebende Wasser abgeben.

Methoden

Die Untersuchungen der bakteriellen Aktivitäten auf *Trichodesmium*-Kolonien wurden vom 20. Mai bis 19. Juni 1994 im Atlantischen Ozean (zwischen 30°-10°N und 50°-80° W) und in der Karibischen See begonnen und vom 14. 10. bis 18. 10. 1995 in der Arabischen See (Indischer Ozean) an der Station EAST (15°36'N; 68°-34'E) weitergeführt. Während auf der ersten Reise der Schwerpunkt auf der Bestimmung der bakteriellen Produktion und der Bestimmung der hydrolytischen Aktivität lag, wurde auf der zweiten Reise neben diesen Parametern die Freisetzung von Bakterien von den Kolonien ins umgebende Wasser bestimmt.

Trichodesmium-Kolonien wurden mit einem Planktonnetz mit einer Maschenweite von 243µm im Oberflächenwasser bis zu einer Tiefe von 30 m gesammelt und für die verschiedenen Experimente einzeln mit einer Öse in steril (0,2µm) filtriertes Seewasser überführt.

Die Bestimmung der Bakterienzahlen, der bakteriellen Produktion und der hydrolytischen Aktivität sind in NAUSCH (1996) ausführlich beschrieben.

Zur Untersuchung der Bakterienfreisetzung wurden 30 *Trichodesmium*-Kolonien 2h, 4h, 8h und 12h in 10 ml sterilem Seewasser bei in situ Temperaturen und im Dunklen inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurden die Kolonien vom Inkubationswasser getrennt und erneut in steriles Seewasser überführt. Zur späteren Bestimmung der Bakterienzahlen und Zellvolumina wurden die Proben mit Formaldehyd (Endkonzentration 0,5%) fixiert.

Ergebnisse und Diskussion

Trichodesmium-Kolonien können in zwei Formen vorkommen:

den kugelförmigen "Puffs" (Abb.1a) und den langgestreckten "Tufts" (Abb.1b). Jede Kolonie besteht aus einigen zehn bis einigen hundert Trichomen (CAPONE et al. 1997). Demzufolge sind die einzelnen Kolonien unterschiedlich dicht gepackt und die Räume zwischen den Trichomen sind unterschiedlich groß.

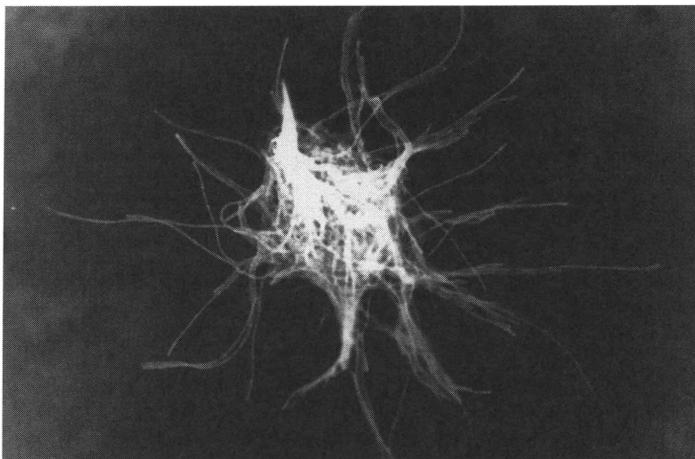


Abb. 1a Formen von *Trichodesmium*-Kolonien, kugelförmige „Puffs“

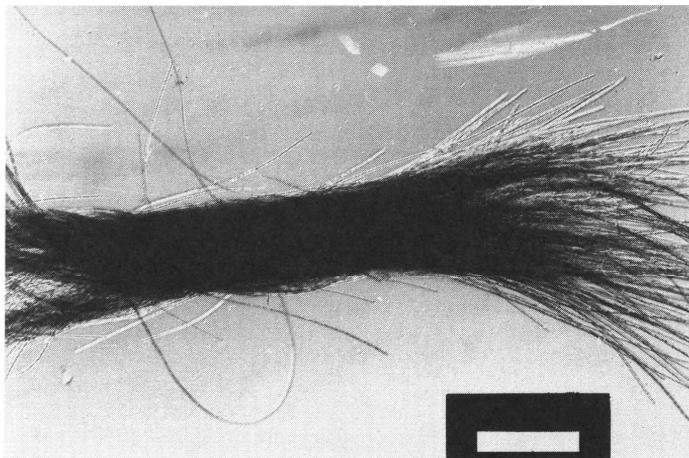


Abb. 1b Formen von *Trichodesmium*-Kolonien, langgestreckte „Tuffs“

Bakterien besiedeln die Schleime zwischen den Trichomen (Abb.2a) als auch die Trichome selbst (Abb.2b).

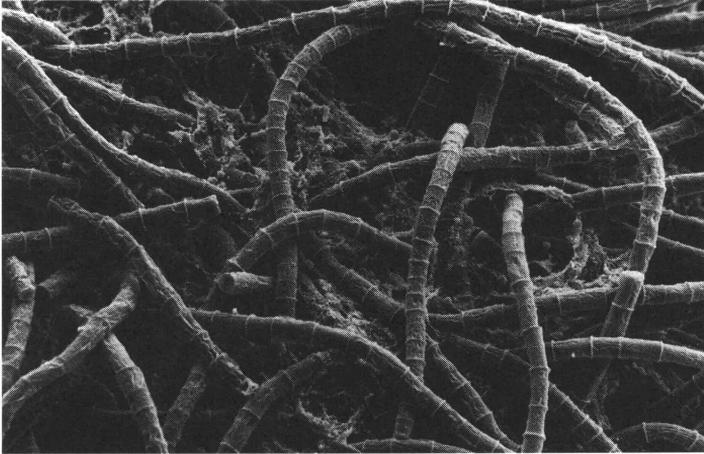


Abb. 2a Mit *Trichodesmium*-Kolonien assoziierte Bakterien, auf dem Schleim zwischen den Trichomen

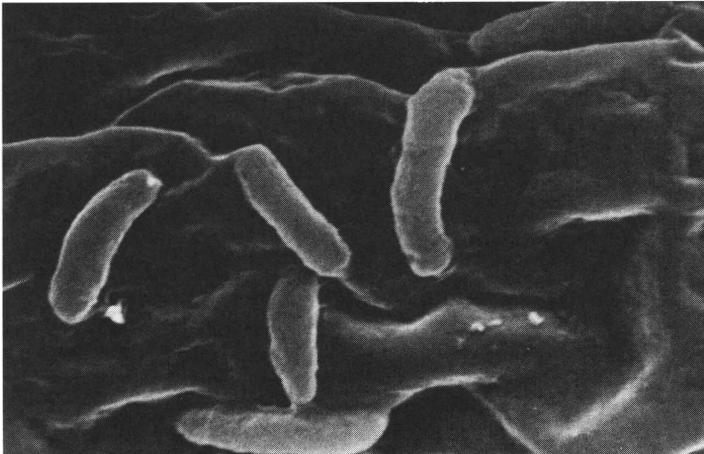


Abb. 2b Mit *Trichodesmium*-Kolonien assoziierte Bakterien, auf den Trichomen selbst

Es wurden sowohl kokkale als auch stäbchenförmige Bakterien beobachtet, während im freien Wasser mehr kokkale Formen dominieren. ZEHR (1995) charakterisierte die meisten der adherenten Bakterien als Flavobakterien. Auf frisch gesammelten Kolonien wurden von uns zwischen 11000 und 90 000 Bakterien pro Kolonie gezählt. Für Marine Snow-Aggregate werden zwischen $0,06 - 1,71 \times 10^6$ Zellen pro Aggregat im Pazifik (SIMON et al. 1990), zwischen $1,1 - 9,1 \times 10^6$ Zellen pro Aggregat im Nordatlantik (TURLEY & MACKIE 1994) und zwischen $1,2 - 22,6 \times 10^6$ Zellen pro Aggregat für Lake Snow-Aggregate (GROSSART & SIMON 1993) angegeben. Die Angabe der Bakterienabundanz pro ml Aggregat (GROSSART & SIMON 1993, TURLEY & MACKIE 1994) ist ein Versuch einer größenunabhängigen Beurteilung der Aggregatbesiedlung. Danach beträgt die Besiedlungsdichte zwischen 1×10^9 und $2,5 \times 10^9$ Bakterien pro ml Aggregat. Bei einer gleichartigen Umrechnung für sphaerische Kolonien (Puffs) mit einem Durchmesser von 2mm und Bakterienabundanz von 11000 - 90000 Zellen pro Kolonie bedeutet das eine Besiedlungsdichte von $2,5 \times 10^6$ bis $1,2 \times 10^7$ Zellen pro ml Kolonie. Danach würden *Trichodesmium*-Kolonien weniger dicht besiedelt werden als Snow-Aggregate. Die Zellvolumina der Bakterien auf *Trichodesmium*-Kolonien liegen in der Größenordnung wie sie von ALLDREDGE & GOTTSCHALK (1990) für Marine Snow-Aggregate angegeben werden. Die Zellvolumina als auch das Verhältnis Länge/Breite ist bei Bakterien auf *Trichodesmium*-Kolonien etwa doppelt so hoch wie die der freien Bakterien im Oberflächenwasser (Tab.1).

Tabelle 1 Zellvolumina von freien Bakterien, Bakterien an *Trichodesmium*-Kolonien und Bakterien, die von *Trichodesmium*-Kolonien abgeben wurden

	adherente Bakterien	freigesetzte Bakterien	freie Bakterien im Wasser
Zellvolumen(μm^3):			
Median	0,12	0,15	0,06
Min	0,001	0,001	0,002
Max	0,97	0,95	0,87
Verhältnis Länge/Breite			
Median	2,20	1,97	1,38
Min	1,00	1,00	1,00
Max	10,5	15,1	7,52

Aggregate wie auch *Trichodesmium*-Kolonien bedeuten lokal eine Konzentration von Mikroorganismen, doch aufgrund der geringen Abundanz der Aggregate ma-

chen die adherenten Bakterien nur zwischen 0,1 und 20% (ALLDREDGE et al 1986, DELILLE 1993, GROSSART & SIMON 1993, GRIFFITS et al. 1994) der gesamten Bakterien im Wasser aus. Bei einer *Trichodesmium*-Kolonie in 1 Liter Wasser betragen die adherenten Bakterien weniger als 0,02% der Bakterien in freien Wasser.

Die von uns gemessene bakterielle Produktion auf *Trichodesmium*-Kolonien liegt in der gleichen Größenordnung wie sie für "Marine Snow" (Tab.2) angegeben werden. Es konnten keine Unterschiede zwischen "Tufts" und "Puffs" beobachtet werden.

Tabelle 2 Thymidinaufnahme von Bakterien auf Marinem Snow und auf *Trichodemium* -Kolonien

Marine Snow		<i>Trichodesmium</i> -Kolonien	
mol Agg ⁻¹ d ⁻¹	mol Zelle ⁻¹ d ⁻¹	mol Kolonie ⁻¹ d ⁻¹	mol Zelle ⁻¹ d ⁻¹
10 ⁻¹³ - 10 ⁻¹²	10 ⁻²¹ -10 ⁻¹⁸	6,7 x 10 ⁻¹³ 8,6 x 10 ⁻¹³	18,6 x 10 ⁻¹⁸ -
offener Ozean Küstenregionen		Arabisches Meer Karibische See/Atlantik	
Allredge(1993)			

Der Vergleich von Bakterien auf *Trichodesmium*-Kolonien mit frei lebenden Bakterien zeigt die gleichen Charakteristika bezogen auf die bakterielle Produktion und die hydrolytische Aktivität wie der Vergleich von Bakterien auf "Marine Snow" und frei lebenden Bakterien:

-Die bakterielle Produktion der mit *Trichodesmium*-Kolonien assoziierten Bakterien ist aufgrund der geringen Anzahl der Kolonien niedrig. Sie betrug 1% bis 2% der Produktion frei lebender Bakterien. Dagegen war die Thymidinaufnahme pro Zelle (3,5 mal) und die Leucinaufnahme pro Zelle (6mal) auf den *Trichodesmium*-Kolonien höher als bei den frei lebenden Bakterien (Tab.3).

Tabelle 3 Thymidin- und Leucinaufnahme von freien Bakterien im Wasser und Bakterien auf *Trichodesmium*-Kolonien

	Bakterien auf <i>Trichodesmium</i> Kolonien	freie Bakterien im Wasser
Thymidinaufnahme mol Zelle ⁻¹ h ⁻¹	7,7 x 10 ⁻¹⁹	2,2x 10 ⁻¹⁹
Leucinaufnahme mol Zelle ⁻¹ h ⁻¹	315,0 x 10 ⁻¹⁹	51,4 x 10 ⁻¹⁹

In der Karibischen See und im südlichen Nordatlantik (zwischen 10° und 30°N) wurden häufig zwischen 1 und 5 Kolonien in einem Liter Wasser gezählt (CARPENTER & PRICE 1977, CARPENTER and ROMANS 1991). Sieben Kolonien in einem Liter Wasser, wie sie während unserer Reise im Jahre 1994 gefunden wurden, stellen eine relativ hohe Kolonie-Abundanz dar. Bei dieser Abundanz macht die bakterielle Produktion auf den Kolonien nur etwa 1/50 der im freien Wasser aus. ALLDREDGE & GOTSCHALK (1990) zeigten, daß die zelluläre bakterielle Produktion von Aggregat-assoziierten Bakterien niedriger, gleich oder höher sein kann als die der freilebenden Bakterien.

-Das hydrolytische Potential der an *Trichodesmium*-Kolonien adherenten Bakterien ist um ein Vielfaches höher (bis zu 1000fach) als das der freilebenden Bakterien (Abb.3).

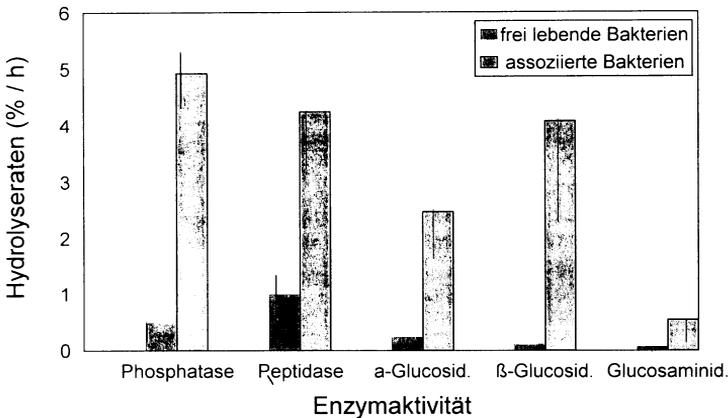


Abb. 3 Hydrolyseraten extrazellulärer Enzyme von adherenten Bakterien je *Trichodesmium*-Kolonie und frei lebender Bakterien je Liter Wasser

Besonders deutlich wird dies bei den spezifischen extrazellulären Enzymaktivitäten, mit Unterschieden um den Faktor 100 bis 1000 (Tab.4).

Tabelle 4 Extrazelluläre Enzymaktivitäten (nmol Zelle⁻¹h⁻¹) von freien Bakterien und assoziierten Bakterien

	Bakterien auf <i>Trichodesmium</i> Kolonien	freie Bakterien im Wasser
alk.Phosphatase	1,3 x 10 ⁻³	5,1 x 10 ⁻⁶
Peptidase	24,3 x 10 ⁻³	27,9 x 10 ⁻⁶
α-Glukosidase	0,1 x 10 ⁻³	0,2 x 10 ⁻⁶
β-Glukosidase	0,2 x 10 ⁻³	1,2 x 10 ⁻⁶
Stearase	0,3 x 10 ⁻³	9,8 x 10 ⁻⁶

Die großen Differenzen zwischen bakterieller Produktion bzw. bakteriellem Substratturnover (NAUSCH 1996) und hydrolytischer Aktivität unterstützen die Hypothese (KARNER & HERNDL 1992, SMITH et al. 1992), daß von adherenten Bakterien gelöste organische Substanzen ins umgebende Wasser abgegeben werden. Eine von den enzymatischen Hydrolyseaktivitäten abgeleitete theoretische C- und N-Freisetzung ergab, daß durch bakterielle Aktivität pro Kolonie zwischen 30 und 1100 ng C h⁻¹ und zwischen 32 und 1500 ng N h⁻¹ ins umgebende Wasser abgegeben werden können (NAUSCH 1996).

POMEROY & WIEBE(1993) nehmen an, daß von Aggregaten nicht nur gelöste organische Substanzen sondern auch Bakterien abgegeben werden. Unsere Untersuchungen zeigen, daß dies der Fall ist. Während der Inkubation von *Trichodesmium*-Kolonien in steril filtriertem Seewasser vermehrten sich die Bakterien auf den Kolonien. Die höchsten Bakterienzahlen pro Kolonie wurden nach 12 h beobachtet (Abb.4). Nach der jeweiligen Inkubationszeit wurden im Inkubationswasser freie Bakterien nachgewiesen, die von den Kolonien stammen müssen. Die Menge der von den Kolonien abgegebenen Bakterien war über einen Inkubationszeitraum von 8h relativ konstant und betrug etwa 15% der Bakterien auf den *Trichodesmium*-Kolonien. Nach 12 h stieg der Anteil auf 30% an (Abb.4).

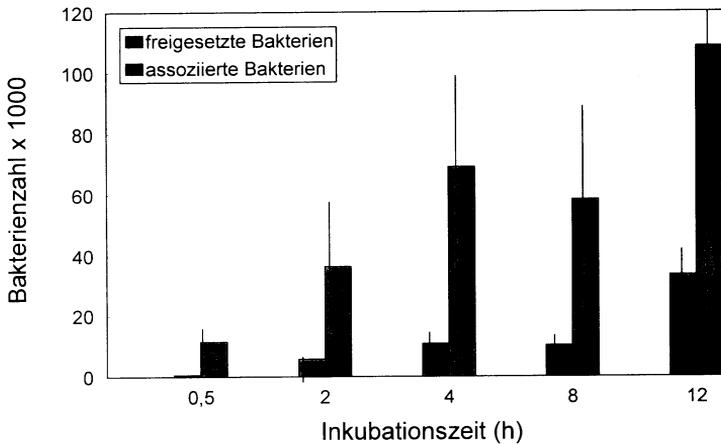


Abb. 4 Entwicklung der Abundanzen adherenter und freigesetzter Bakterien in Inkubationsversuchen

Es konnte jedoch kein genereller Zusammenhang zwischen der Anzahl der freigesetzten Bakterien und der Anzahl der Bakterien auf den Kolonien nach der jeweiligen Inkubationszeit oder zur Anzahl der Bakterien auf den Kolonien vor Beginn der Inkubation hergestellt werden.

Bisher ist noch unklar, welche Bedeutung von Aggregaten abgegebene Bakterien für ein Ökosystem haben. Sind Aggregate wirklich eine echte Quelle für Bakterien oder sterben sie nach der Freisetzung? Ändert sich der physiologische Zustand, wenn adherente Bakterien in den Pool freier Bakterien eingehen?

Von *Trichodesmium*-Kolonien ins umgebende Wasser abgegebene Bakterien können lokal dann eine große Bedeutung für den Stoffkreislauf haben, wenn die Kolonien in hohen Abundanzen und dichten Matten vorkommen.

Zusammenfassung

Aus den Daten der bakteriellen Produktion und der extrazellulären Enzymaktivitäten kann geschlossen werden, daß die bakterielle Dynamik auf *Trichodesmium*-Kolonien mit der auf "Marine Snow" und "Lake Snow" vergleichbar ist. Die Besiedlungsdichte scheint auf *Trichodesmium*-Kolonien niedriger zu sein als auf "Snow"-Aggregaten, Zellgrößen und -formen sind ähnlich. *Trichodesmium*-Kolonien sind eine Quelle für niedermolekulare organische Substanzen. Darüber hinaus sind sie aber auch eine Quelle für freie Bakterien.

Danksagung

Die Arbeiten im Jahr 1994 im Nordatlantik und in der Karibischen See wurden durch die DFG (DFG-Nr.: Na 285/1-1) unterstützt. Prof. E. Carpenter danke ich dafür, daß er die Reise mit RF"GYRE" ermöglichte. Bei D. Setzorn bedanke ich mich für die technische Assistenz und bei R.Bahlo für die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen. Die Arbeit ist IOW-Publikations-Nr.:xxx

Literatur

- ALLDREDGE AL, J COLE, JA CARON (1986). Production of heterotrophic bacteria inhabiting organic aggregates (marine snow) from surface waters. *Limnol Oceanogr* 31: 68-78.
- ALLDREDGE AL, CC GOTTSCHALK (1990). The relative contribution of marine snow of different origins to biological process in coastal waters. *Cont Shelf Res* 10: 41-58.
- ALLDREDGE AL (1993). Production of heterotrophic bacteria inhabiting marine snow. In: Kemp PF, PF Sherr, EB Sherr, JJ Cole (eds) *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publ, 531-536.
- CAPONE DG, JP ZEHR, HW PAERL, B BERGMAN, EJ CARPENTER (1997). *Trichodesmium*, a globally significant marine cyanobacterium. *Science* 276:1221-1229.
- CARPENTER EJ, EJ PRICE (1977). Nitrogen fixation, distribution, and production of *Oscillatoria* (*Trichodesmium*) spp. in the western Sargasso and Caribbean Seas. *Limnol Oceanogr* 22: 60-72.
- CARPENTER EJ, K ROMANS K (1991). Major role of the cyanobacterium *Trichodesium* in nutrient cycling in the North Atlantic Ocean. *Science* 254: 1356-1358.
- DELILLE D (1993) Seasonal changes in the abundance and composition of marine heterotrophic bacterial communities in Antarctic coastal areas. *Polar Biol* 13: 463-470.
- GRIFFITH P, FK SHIAH, K GLOERSON, HW DUCKLOW, M FLETSCHER (1994). Activity and distribution of attached bacteria in Chesapeake Bay. *Mar Ecol Prog Ser*: 108:1-10
- GROSSART HP, M SIMON (1993). Limnetic macroscopic organic aggregates (lake snow): occurrence, characteristics, and microbial dynamics in Lake Constance. *Limnol Oceanogr* 38:532-546.
- KARNER M, G.J HERNDL (1992). Extracellular enzyme activity and secondary production in free-living and marine-snow-associated bacteria. *Mar Biol* 113:341-347.
- NAUSCH M (1996). Microbial activities on *Trichodesmium*-colonies. *Mar Ecol Prog Ser* 141:173-181.
- POMEROY LR, WJ WIEBE (1993). Energy sources for Microbial Food Webs. *Mar Microb Food Webs* 7:101-118.
- SIMON M, AL ALLDREDGE, F AZAM (1990). Bacterial carbon dynamics on marine snow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 65:205-211.
- SCHMIDT I (1997). Aggregat bildende Phytoplankter in der Boddenkette Ost -Taxa und Biomassen. Vortrag, 5. Wissenschaftlicher Workshop "Ökosystem Boddengewässer - Partikel und Aggregate" Kloster/Hiddensee 18.-19.-Sept.1997.
- SMITH D.C., M SIMON, AL ALLDREDGE, F AZAM (1992). Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution. *Nature* 359:139-142.
- TURLEY CM, PJ MACKIE (1994). Biogeochemical significance of attached and free-living bacteria and the flux of particles in the NE Atlantic Ocean. *Mar Ecol Prog Ser.* 115: 191-203.
- ZEHR JP (1995). Nitrogen fixation in the Sea: Why only *Trichodesmium*? In: JOINT I (ed) *Molecular Ecology of Aquatic Microbes*, NATO ASI Ser.38: 335-365.

Verfasser

Monika Nausch
Biologische Meereskunde
Institut für Ostseeforschung
Seestrasse 15
18119 Rostock-Warnemünde