

4 Material und Methoden

4.1 Laborexperimente

4.1.1 Kulturbedingungen Copepoden

Die verwendeten Copepoden *Mesocyclops leuckarti*, *Thermocyclops oithonoides* und *Eudiaptomus graciloides* stammten aus Planktonnetzfangen aus dem Großen Vätersee in der Schorfheide. Die aufkonzentrierten Planktonfänge wurden in einer Petrischale mit CO₂-haltigem Selterwasser leicht sediert. Unter der Stereolupe wurden adulte Männchen und eitragende Weibchen der gewünschten Spezies mit einer Pasteurpipette aussortiert. Die selektierten Copepoden wurden in 1- oder 2-L Erlenmeyerkolben in WC-Medium (Guillard & Lorenzen 1972) in einer Klimakammer bei 18 ± 1 °C und einem Hell:Dunkel-Rhythmus von 16:8 h gehältert. Diese Kulturen wurden alle 3–4 Tage mit *Cryptomonas phaseolus ad libitum* gefüttert und bei Bedarf geteilt, wenn die Abundanz durch Schlupf der Nauplien zu dicht wurde. Für die Gewinnung von Juvenilstadien wurden eitragende Weibchen unter der Stereolupe selektiert. Diese Weibchen wurden dann in einer Petrischale durch mehrmaliges Aufsaugen mit einer 5-mL-Eppendorfpipette mit erweiterter Pipettenspitze von ihren Eisäckchen getrennt. Die absedimentierten Eier wurden mit der Pipette aufgenommen und in frisches Medium in zuvor autoklavierte Erlenmeyerkolben überführt. Die geschlüpften Nauplien wurden alle zwei Tage mit *Cryptomonas phaseolus* gefüttert, bis sie das Copepodidstadium erreicht hatten und für die Experimente verwendet wurden.

Die Experimente zur Juvenilentwicklung der späten Copepodidstadien von *Eudiaptomus gracilis*, *Eudiaptomus graciloides*, *Cyclops vicinus*, *Cyclops abyssorum* (siehe Kapitel 4.1.5.2) wurden in Zusammenarbeit mit Frau Dr. Barbara Santer am Max-Planck-Institut für Limnologie durchgeführt. Die hier verwendeten Copepoden stammten aus unterschiedlichen Seen der näheren Umgebung von Plön in Holstein und wurden über mehrere Generationen im Labor in 20-L-Glasflaschen in WC-Medium nach Guillard & Lorenzen (1972) in einer Klimakammer bei 18 °C in einem 16:8-Stunden Hell:Dunkel-Zyklus gehältert. Die Tiere wurden alle zwei Tage mit *Cryptomonas* sp. und in unregelmäßigen Abständen mit gemischten Ciliatensuspensionen gefüttert. Die im Experiment verwendeten Copepodide wurden bei leichter Sedierung mit CO₂-haltigem Selterwasser unter der Stereolupe aussortiert.

4.1.2 Beuteorganismen (Kulturbedingungen / Ökologie / Zellvolumen)

Für die Zellvolumenberechnung der Ciliaten und Cryptomonaden wurden einfache oder zusammengesetzte geometrische Formen wie Kugel, Halbkugel, Zylinder und Ellipsoid für jeden Protisten zugrundegelegt und die entsprechenden Maße bestimmt. Dafür wurden aus den Erhaltungskulturen, die sich in der *log*-Phase ihrer Populationsentwicklung befanden Proben entnommen, mit 2 % Formol fixiert, auf schwarz eingefärbt Polycarbonatmembranfilter (Nucleopor® 0,2µm) filtriert und mit DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindol) (Porter & Feig, 1980) angefärbt. Auf diesen Filtern wurden jeweils 50 Zellen der jeweiligen Protisten unter dem Epifluoreszenzmikroskop (Anregungswellenlänge von 450–490 nm kombiniert mit einem FT 510 Strahlungsteiler und einem LP 520 Suppressionsfilter) bei 40–100-facher Vergrößerung vermessen. Für die Berechnung des Kohlenstoffgehaltes der Ciliaten wurde ein Konversionsfaktor von 190 fg C µm⁻³ (Putt & Stoecker 1989), für den der Cryptomonaden von 100 fg C µm⁻³ (Montagnes *et al.* 1994) angenommen.

Urotricha farcta war nach eigenen Messungen in den Kulturen 18 ± 3 µm lang und wies ein Zellvolumen von 2.778 ± 1.707 µm³ auf, was einem Kohlenstoffgehalt von 528 pg C Ciliat⁻¹ entspricht. Der Ciliat hat eine schlingende Ernährungsform und kann Beuteorganismen verschlingen, die nur unwesentlich kleiner sind als er selber. Obwohl bekannt ist, dass er sich auch von Bakterien ernährt (Foissner *et al.* 1999), wird er hier als algivor bezeichnet, da er in den Erhaltungskulturen ausschließlich mit *Cryptomonas phaseolus* gefüttert wurde. Kultiviert wurde er in WC-Medium nach Guillard und Lorenzen (1972). Die Ciliatenkulturen wie auch die Algen wurden im Klimaschrank bei 18 ± 1 °C mit einem 16:8 h Hell:Dunkel-Rhythmus gehalten und wöchentlich mit frischem Medium versorgt. Für alle Protisten wurden als Kulturgefäße entweder im einmaligen Gebrauch gamma-bestrahlte Kunststoff-Zellkulturflaschen oder zuvor autoklavierte Erlenmeyer-Kolben verwendet.

Der ebenfalls zu den Prostomatida zählende *Coleps sp.* Nitzsch (1817) hat eine tonnenförmige Gestalt. Er besitzt einen Panzer aus ektoplasmatischen Kalkplättchen (Foissner *et al.* 1999). Nach eigenen Messungen hatte der Ciliat in den Kulturen eine durchschnittliche Länge von $47 \pm 3,5$ und eine Breite von $39 \pm 4,4$ µm, was einem Körpervolumen von 39.240 ± 10.743 µm³ sowie einem Kohlenstoffgehalt von 7.455 pg C Ciliat⁻¹ entspricht. Der hier verwendete Ciliat wurde aus dem Müggelsee in Berlin isoliert. Der Ciliat wurde wie der zuvor beschriebene *Urotricha farcta* in WC-Medium gehältert und im wöchentlichen Rhythmus mit *Cryptomonas phaseolus* gefüttert.

Cyclidium sp. O. F. Müller (1773) hat eine leicht abgeflachte ovale Zellform und hatte nach eigenen Messungen eine Länge von $19 \pm 2 \mu\text{m}$ sowie eine Breite von $11 \pm 2 \mu\text{m}$, was einem Zellvolumen von $1.315 \pm 617 \mu\text{m}^3$ bzw. einem Kohlenstoffgehalt von $250 \text{ pg C Ciliat}^{-1}$ entspricht. *Cyclidium sp.* wurde in einer gemischten Bakterienkultur gehältert, die zuvor auf autoklavierten polierten Reiskörnern in Volvic Mineralwasser (Quellwasser, mineralienarm, weltweiter Verkauf durch Société des Eaux de Volvic, Puy-de-Dôme, Frankreich) in autoklavierten Erlenmeyer-Kolben kultiviert wurden. Die Kulturen wurden wöchentlich in frisches Medium überführt. *Cyclidium sp.* wurde ursprünglich aus dem Bodensee isoliert.

Colpidium campylum Stokes (1886) hat eine leicht nierenförmige, nicht abgeflachte Gestalt. Nach eigenen Messungen hatte der Ciliat in den Kulturen eine Länge von $154 \pm 20 \mu\text{m}$ und eine Breite von $56 \pm 9 \mu\text{m}$, was einem Zellvolumen von $47.484 \pm 21.891 \mu\text{m}^3$ und einem Kohlenstoffgehalt von $9.022 \text{ pg Zelle}^{-1}$ entsprach. Der Ciliat gilt als vorwiegend bakterivor (siehe Foissner *et al.* 1999 und darin angegebene Quellen) und wurde in einem aus Hefeextrakt und Bakterien bestehenden Medium kultiviert. Dafür wurde eine Tablette Hefeextrakt (Tartex[®]) und ein kleines Stück getrockneter Bananenschale ($0,5 \text{ cm}^2$) in 300 ml natürlichem Mineralwasser (Volvic) suspendiert. Nach einer Stunde wurde ein Inokulum der alten Stammkultur angeimpft.

Die Gestalt von **Tetrahymena pyriformes** Furgason (1940) ist ausgeprägter eiförmig als bei *Colpidium campylum*. Der Ciliat hatte in den Kulturen eine Länge von $76 \pm 11 \mu\text{m}$ und eine Breite von $27 \pm 9 \mu\text{m}$, was einem durchschnittlichen Zellvolumen von $29.009 \mu\text{m}^3$ und einem Kohlenstoffgehalt von $5.512 \text{ pg Zelle}^{-1}$ entsprach. Der Ciliat kann ein Makrostom bilden und sich räuberisch ernähren. Für diese Arbeit wurde er genau wie *Colpidium campylum* auf einer Mischung von Bakterien und Hefeextrakt kultiviert (s. o.).

Cryptomonas phaseolus Ehrenberg, (1832) ($392 \pm 125 \mu\text{m}^3$ entspr. $39,2 \text{ pg C Zelle}^{-1}$), stammt aus der Algensammlung der Universität Göttingen und wurde in WC-Medium modifiziert für Cryptomonaden nach Guillard & Lorenzen (1972) in Batchkulturen gehalten und wie die Ciliatenkulturen wöchentlich in neues Medium überführt.

Cryptomonas sp. ($896 \pm 256 \mu\text{m}^3$ entspr. $89,6 \text{ pg C Zelle}^{-1}$) wurde in den Experimenten zur Copepodidentwicklung von *E. gracilis*, *E. graciloides*, *C. vicinus* und *C. abyssorum* verwendet (siehe Kapitel 4.1.5.2). Der Phytoflagellat ist schon seit langer Zeit in Kultur am Max-

Plank-Institut für Limnologie in Plön und wurde zur Hälterung von verschiedenen Copepodenkulturen verwendet. Die Kultivierung erfolgte wie für *Cryptomonas phaseolus* beschrieben.

4.1.3 Herstellung der Beutesuspensionen

Für die Herstellung der Beutesuspensionen in den verschiedenen benötigten Konzentrationen wurden für die unterschiedlichen Beuteprotisten in Abhängigkeit ihrer Futterorganismen unterschiedliche Techniken angewendet.

Urotricha farcta konnte nur in Mischkultur mit seiner Beutealge *Cryptomonas phaseolus* an die Copepodide verfüttert werden. *Urotricha* ($18 \times 16 \mu\text{m}$) und *Cryptomonas* ($18 \times 12 \mu\text{m}$) liegen im gleichen Größenspektrum, deshalb war es weder durch Zentrifugation noch durch Filtration möglich, den Ciliaten von seiner Futteralge zu trennen. Für die Fütterung der Copepoden wurden Ciliatenkulturen verwendet, in denen der Ciliat das Ende seiner *log*-Phase erreicht hatte und die Algen auf ein Minimum von 4–30 % des Kohlenstoffgehaltes reduziert waren.

Coleps sp. wurde durch Filtration über $10 \mu\text{m}$ Gaze weitgehend von seiner Futteralge *Cryptomonas phaseolus* separiert. Dabei verblieb die aufkonzentrierte Ciliatensuspension im Netzbecher, wobei sichergestellt werden musste, dass dieser Überstand nicht trockenfiel.

Vor jedem Fütterungsansatz wurden die filtrierte Kulturen noch etwa eine Stunde stehen gelassen, um verbliebene Algen weitgehend durch Fraß dezimieren zu lassen.

Cyclidium sp. wurde über $10 \mu\text{m}$ Gaze filtrierte, um gröbere Flocken des Reissubstrates zu entfernen. Eine Zentrifugation wie untenstehend beschrieben erbrachte nicht den gewünschten aufkonzentrierenden Effekt wie es bei den größeren bakterivoren Ciliaten der Fall war (s. u.).

Colpidium campylum wie auch *Tetrahymena pyriformes* wurden durch Zentrifugation aus den Batchkulturen angereichert und von suspendierten Flocken gereinigt. Dafür wurden jeweils etwa 10 mL Aliquots der Kultur in einer kleinen Laborzentrifuge bei 2000 Umdrehungen min^{-1} für 15 Minuten zentrifugiert. Danach wurde ein Baumwollwattebällchen im oberen Drittel des Zentrifugenröhrchens in den Flüssigkeitsüberstand plaziert und die Probe für etwa 15 Minuten stehen gelassen. Die Ciliaten schwammen aus dem Sediment durch die Watte in die sauerstoffreiche Region des Zentrifugenröhrchens und konnten von dort mit einer Pipette entnommen werden.

Cryptomonas phaseolus bzw. *Cryptomonas sp.* erreichte in den Batchkulturen Dichten von bis zu $350.000 \text{ Zellen mL}^{-1}$ und wurde für die Experimente direkt aus den Erhaltungskulturen entnommen und mit WC-Medium auf die benötigte Versuchskonzentration verdünnt.

Für die Einstellung der benötigten Versuchskonzentration wurde – wenn nicht anders angegeben – ein mit Lugolscher Lösung fixiertes Aliquot der gewonnenen Anreicherungskultur unter einer Stereolupe bei 20- bis 60-facher Vergrößerung in einer 1-ml-Sedgwick-Sedimentations-Kammer ausgezählt. Für die Experimentalansätze wurden die Kulturen mit dem jeweiligen Versuchsmedium (WC-Medium bzw. Volvic) auf die benötigte Experimentalkonzentration verdünnt.

Die Experimente zur Copepodidentwicklung von *Eudiaptomus gracilis*, *Eudiaptomus graciloides*, *Cyclops vicinus* und *Cyclops abyssorum* (Kapitel 4.1.5.2) wurden am Max-Planck-Institut für Limnologie in Plön durchgeführt. Hier stand ein Partikelzählgerät (Casy 1[®], Schärfe-Systeme) zur Verfügung, welches die Partikelkonzentration und das Volumen der gemessenen Partikel bestimmt. Die Beutesuspensionen wurden hier nach Messung des Partikelzählgerätes nach einer zuvor von Jamieson (unveröffentlichte Daten) etablierten Korrelation von Biovolumen (μm^3) zu Kohlenstoffgehalt C (pg) eingestellt (Gleichung 1).

$$C = -0,0876 + 0,03438 \times \text{Biovolumen} \qquad \text{Gleichung 1}$$

Damit die Versuche zur Juvenilentwicklung (4.1.5) und zur Reproduktion (4.1.6) der Copepoden bei sättigenden Nahrungsbedingungen durchgeführt werden konnten, wurde in Vorversuchen für Copepodide (Stadien C3–C5) sowie adulte Weibchen der verschiedenen Copepodenarten der *incipient limiting level* (ILL) – also die Nahrungskonzentration, ab der es zu keiner weiteren Steigerung der Ingestionsraten kommt – für die unterschiedlichen Ciliatenspezies ermittelt (Ergebnisse nicht dargestellt). In Kurzzeitfraßexperimenten (4–24 Stunden) wurden die Filtrier- und Ingestionsraten der Copepoden bei unterschiedlichen Beutekonzentrationen nach Frost (1972) bestimmt (vgl. Gleichung 2 und 3). Als Kontrollen dienten Beuteansätze ohne Räuberzugabe. Dafür wurden jeweils 5 Copepoden bzw. Copepodide in ein 35-mL-Rollranddeckelgläschen mit einer definierten Beutekonzentration gegeben und auf einem Planktonrad bei 0,5 Umdrehungen min^{-1} in einer Klimakammer bei 18 ± 1 °C für 4–24 Stunden in Dunkelheit inkubiert. Für die Bestimmung der Beutekonzentration wurden Unterproben von 1–2 mL zu Beginn und zum Ende der Inkubationszeit mit einer Pipette abgenommen, mit saurer Lugolscher Lösung fixiert und in einer Sedgwickkammer[®] unter einer Stereolupe bei 20–40-facher Vergrößerung ausgezählt. Für jede Beutekonzentration wurden 5 Parallelen mit Räuberzugabe sowie je 5 Parallelansätze ohne Räuberzugabe als Kontrollen angesetzt.

4.1.4 Ingestion in Abhängigkeit von O₂-Konzentration

Der Einfluss der Sauerstoffkonzentration auf die Ingestionsraten der Copepoden wurde im Labor in Fraßexperimenten bei gleichen Räuber- und Beuteabundanz, aber unterschiedlicher Sauerstoffkonzentration getestet. Diese Experimente wurden exemplarisch nur mit *E. graciloides* und dem algivoren Ciliaten *Coleps* sp. bei fünf verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen (2, 5, 40, 50, 105 %) durchgeführt. Als Versuchsgefäße wurden 100-mL-Glasflaschen mit Schliffkolben verwendet. Diese waren luftdicht verschließbar und hatten eine Öffnungsweite, durch die eine WTW[®]-Sauerstoffsonde mit Magnetrühraufsatz eingeführt werden konnte. Nach Befüllung mit der Beutesuspension (300 Zellen mL⁻¹) wurde der Sauerstoff bei kontinuierlicher Messung der O₂-Konzentration aus den Versuchsgefäßen mit Hilfe von N₂-Begasung über einen Sprudelstein bis zur gewünschten O₂-Konzentration ausgetrieben. Als Versuchsmedium wurde Volvic-Wasser verwendet, dem zur pH-Abpufferung TES (0,115 g L⁻¹) zugefügt worden war. Mit der Zugabe von 10 adulten Weibchen von *E. graciloides* wurde der Versuch gestartet. Die Versuchsgefäße wurden für 4 Stunden in einer Klimakammer bei 18 ± 1 °C in Dunkelheit inkubiert. Die Sauerstoffkonzentration wurde am Ende der Inkubationszeit noch einmal mit der WTW[®]-Sonde kontrolliert. Die Clearance- und Ingestionsraten wurden nach Frost (1972) bestimmt. Die Clearance-Rate CR (ml Cop⁻¹ h⁻¹) wurde berechnet als spezifische Wachstumsrate der Protisten im Kontrollansatz abzüglich der spezifischen Wachstumsrate der Protisten im Versuchsansatz pro Zeiteinheit und Räuberabundanz:

$$CR = \frac{\ln(K_1 / K_0) - \ln(B_1 / B_0)}{\Delta t * Cop} \quad \text{Gleichung 2}$$

K_1 und K_0 : Abundanz der Beuteorganismen am Ende und Anfang des Zeitintervalls in den Kontrollansätzen ohne Copepoden

B_1 und B_0 : Abundanz der Beuteorganismen am Ende und Anfang des Zeitintervalls in den Versuchsansätzen mit Copepoden

Δt : Inkubationszeit

Cop : Abundanz der Räuber

Die Ingestionsrate IR (Zellen h⁻¹Cop⁻¹) berechnete sich nach Gleichung 2:

$$IR = CR * \frac{(B_0 + B_1)}{2} \quad \text{Gleichung 3}$$

Dabei wurde vorausgesetzt, dass die Wachstumsraten der Protisten in den Ansätzen mit den Räubern und den Kontrollansätzen identisch waren. Für die Bestimmung der Beutekonzentration wurden Unterproben von 1–2 mL zu Beginn und zum Ende der Inkubationszeit mit einer Pipette abgenommen, mit saurer Lugolscher Lösung fixiert und in einer Sedgwickkammer[®] unter einer Stereolupe bei 20–40-facher Vergrößerung ausgezählt.

In einer weiteren Versuchsreihe im Vorfeld dieser Ingestionsexperimente wurde die Überlebensfähigkeit von *E. graciloides* über den Zeitraum von 4 Stunden bei einer relativen Sauerstoffkonzentration von 5 % ohne Futterzugabe getestet.

4.1.5 Copepodidentwicklung

Um die Qualität von Ciliaten als Nahrungsgrundlage für die Juvenilentwicklung von Copepoden zu testen, wurde in mehreren Versuchserien die Copepodidentwicklung von verschiedenen calanoiden und cyclopoiden Arten untersucht, denen verschiedene Ciliatenspezies als einzige Nahrung oder in Kombination mit *Cryptomonas* sp. angeboten wurden.

4.1.5.1 Copepodidentwicklung *Mesocyclops* / *Thermocyclops*

Die Experimente zur Copepodidentwicklung der beiden kleineren cyclopoiden Copepoden *Mesocyclops leuckarti* und *Thermocyclops oithonoides* wurden mit dem algivoren Ciliaten *Urotricha farcta*, dem bakterivoren Ciliaten *Cyclidium* sp. sowie der Alge *Cryptomonas phaseolus* als Beutearten im Vergleich zu Hungeransätzen ohne Futterzugabe getestet. Als Wachstumsparameter wurden die stadienspezifische Entwicklungsgeschwindigkeit der Copepodide sowie die durchschnittliche Größenzunahme in den konsekutiven Copepodidstadien erfasst. Außerdem wurde eine durchschnittliche Wachstumsrate pro Tag für jedes Stadium in allen getesteten Beuteansätzen berechnet. Ab dem C5-Stadium wurde dabei zwischen den Geschlechtern unterschieden. Diese Parameter wurden auf intraspezifische Unterschiede bei unterschiedlichen Futterangeboten statistisch getestet.

4.1.5.1.1 Versuchsansätze

Je fünf Copepodide der Stadien C1–C3 wurden in 35 mL der jeweiligen Beutesuspension von $1,6 \mu\text{g C mL}^{-1}$ in ein 38 mL Rollrandgläschen gesetzt. Der in Vorversuchen ermittelte ILL für *Urotricha* und *Cyclidium* lag bei ca. $1 \mu\text{g C mL}^{-1}$. In 5 Parallelansätzen wurden insgesamt 25 Copepodide in jeder Räuber-Beute-Kombination angesetzt. *Urotricha* ließ sich nicht vollständig von seiner Futteralge trennen und wurde aus Kulturen entnommen, in denen *Cryptomonas*

schon weitgehend dezimiert wurde. Das Verhältnis von *Urotricha:Cryptomonas* betrug $1,1 (\pm 0,2):0,5 (\pm 0,2) \mu\text{g C mL}^{-1}$. Die Versuchsgefäße wurden auf einem Planktonrad bei einer Umdrehungszahl von $0,5 \text{ Umdrehungen Min}^{-1}$ in einer verdunkelten Klimakammer bei $18 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubiert. Alle 24 Stunden wurden die Tiere in frische Beutesuspension überführt. Dabei wurden die Stadien der Copepodide anhand der Exuvien bestimmt. Die entfernten Exuvien sowie tote Tiere wurden unter einem Mikroskop (Zeiss®, Axioskop) mit Objektmikrometer bei 40–60-facher Vergrößerung bestimmt und vermessen. Die Entwicklung der Copepodide wurde über bis zu 32 Tage bzw. bis zum Erreichen des Adultstadiums eines Großteils der eingesetzten Tiere verfolgt.

4.1.5.1.2 Berechnung der Stadiendauer

Die Dauer der Copepodidstadien wird in Tagen angegeben, da 24 Stunden die kleinste Beobachtungseinheit für Exuvienfunde darstellte. Die Dauer der Copepodidstadien wurde als Differenz zwischen dem Zeitpunkt eines Exuvienfundes und dem Zeitpunkt des ersten Auftretens des jeweiligen Copepodidstadiums im Versuchsgefäß berechnet. In den Versuchsgefäßen mit mehr als einem Tier des gleichen Copepodidstadiums konnte nicht ermittelt werden, welchem Tier eine gefundene Exuvie zuzuordnen war. Deshalb wurde davon ausgegangen, dass das jeweils älteste Tier eines Stadiums sich gehäutet habe. Ab dem Copepodidstadium 5 wurden männliche und weibliche Tiere unterschieden und bei der Berechnung von Stadiendauer und Größe getrennt erfasst. Aus den beobachteten Zeiten wurde die mittlere stadienspezifische Dauer eines Copepodidstadiums als arithmetisches Mittel errechnet. Minimale und maximale Entwicklungszeiten sowie mittlere Entwicklungszeiten wurden als Summe der stadienspezifischen Entwicklungszeiten für Männchen und Weibchen getrennt berechnet.

4.1.5.1.3 Wachstumsraten

Die mittleren stadienspezifischen Wachstumsraten (μ) wurden als Größenzunahme (ΔG) in μm von einem Copepodidstadium zum nächsten dividiert durch die durchschnittliche Stadiendauer (CSD) berechnet.

$$\mu = \frac{\Delta G}{\text{CSD}} \quad \text{Gleichung 4}$$

4.1.5.1.4 Mortalität

Für die Berechnung der Mortalitätsraten (M) wurden die Mittelwerte der Anzahl der gestorbenen Copepoden ($\overline{Cop_{\text{tot}}}$) aus jeweils 5 Parallelen eines Beuteansatzes zu dem Zeitpunkt

berechnet, an dem die Copepoden in den Ansätzen mit der schnellsten Entwicklungsgeschwindigkeit das Adultstadium erreicht hatten. Um eine Mortalitätsrate zu erhalten, wurde dieser Mittelwert durch die Anzahl der Versuchstage (T) dividiert (Gleichung 5).

$$M = \frac{\overline{Cop_{tot}}}{T} \quad \text{Gleichung 5}$$

Als gestorbene Tiere wurden hier nur jene gerechnet, deren Leichen nachweislich gefunden wurden. In den Versuchen mit *M. leuckarti* sind darüber hinaus 8 Copepodide von 100 eingesetzt durch das Handling verloren gegangen. In den Versuchen mit *T. oithonoides* sind insgesamt 6 Copepodide durch das Handling verlorengegangen. In den Abbildungen zur Copepodidentwicklung sind diese verloren gegangenen Tiere als gestorben erfasst worden.

4.1.5.2 Copepodidentwicklung *Eudiaptomus* / *Cyclops*

Die Copepodidentwicklung der beiden calanoiden Arten *Eudiaptomus gracilis* und *Eudiaptomus graciloides* sowie der beiden cyclopoiden *Cyclops vicinus* und *Cyclops abyssorum* wurde in Zusammenarbeit mit Dr. Barbara Santer am Max-Planck-Institut für Limnologie in Plön durchgeführt. Als Beuteorganismen wurden der bakterivore Ciliat *Colpidium campylum* und der algivore Ciliat *Urotricha farcta* im Vergleich zu dem Phytoplankter *Cryptomonas* sp. getestet. Verschiedene *Cryptomonas*arten sind als gute Nahrungsressource für verschiedene Copepoden bekannt. Die hier verwendete *Cryptomonas* sp. wurde schon in Arbeiten von Santer (1994) und Hansen & Santer (1995) für die Juvenilentwicklung von *E. gracilis* and *C. vicinus* verwendet und als adäquate Nahrungsressource für diese beiden Copepodenspezies charakterisiert. Die Copepoden, die in diesen Experimenten die Geschlechtsreife erreichten, wurden weiterhin mit den genannten Beutesuspensionen versorgt und auf ihre Eiproduktionsraten hin untersucht (siehe Kapitel 4.1.7).

4.1.5.2.1 Beutekombinationen

Colpidium versus *Colpidium* + *Cryptomonas*:

Der hymenostomate Ciliat *Colpidium* wurde sowohl als einzige Nahrung als auch in Kombination mit *Cryptomonas* angeboten. In beiden Versuchsansätzen wurde *Colpidium* in einer Konzentration von 1.000 Zellen mL⁻¹ angeboten, was einem Kohlenstoffgehalt von 9,0 µg C mL⁻¹ und damit dem *incipient limiting level* (ILL) entsprach, der in Vorversuchen zur funktionellen Reaktion bestimmt wurde (Ergebnisse nicht dargestellt).

Für die Untersuchung eines nahrungsergänzenden Effektes durch die Alge *Cryptomonas* wurde in den entsprechenden Copepodenansätzen zusätzlich zu den 1.000 Zellen mL⁻¹ *Colpidium* eine Konzentration von 0,2 µg mL⁻¹ Kohlenstoff an *Cryptomonas* sp. hinzugefügt. Diese Konzentration an *Cryptomonas* sp. liegt unterhalb des bekannten ILL für die Copepodidentwicklung von *E. gracilis* (Santer 1994a).

Cryptomonas versus *Urotricha* + *Cryptomonas*:

Urotricha konnte nur in Mischkultur mit seiner Beutealge *Cryptomonas* an die Copepodide verfüttert werden (siehe Kapitel 4.1.3). Während der ersten 6 Tage der Versuchsperiode wurde den Copepodiden eine Konzentration von 1 µg C mL⁻¹ angeboten, was dem ILL von *E. gracilis* bei Fütterung mit *Cryptomonas* entsprach (Santer 1994a). Dieses Nahrungsangebot wurde von Tag 6 an auf 2 µg C mL⁻¹ und von Tag 12 an auf 3 µg C mL⁻¹ erhöht. Diese Erhöhung erschien notwendig, um Nahrungslimitierung über die Fütterungsintervalle von 2 Tagen (s. u.) zu verhindern, bevor die Copepoden in neue Füttersuspension überführt wurden.

Das Verhältnis von *Urotricha* zu *Cryptomonas* in den gemischten Beuteansätzen konnte nicht über den gesamten Versuchszeitraum konstant gehalten werden. In bezug auf Zellzahlen schwankte das Verhältnis von *Urotricha* zu *Cryptomonas* zwischen einem Minimum von 1:1 und einem Maximum von 5:1. Dies entsprach einem Verhältnis in Volumen oder Kohlenstoffeinheiten von 3:1 bis 15:1.

4.1.5.2.2 Versuchsansatz

Copepodide der Stadien C3–C5 wurden aus den Erhaltungskulturen mit Hilfe eines Binokulars unter 40-facher Vergrößerung aussortiert. Je fünf Copepodide wurden in 23 mL der jeweiligen Beutesuspension in ein 25-mL-Rollrandgläschen gesetzt. Die Experimente liefen über 20–26 Tage in einer verdunkelten Klimakammer bei 18 ± 1 °C. In 5 Replikaten wurden so insgesamt 25 Copepodide in jeder Räuber-Beute-Kombination angesetzt. Die Versuchsgefäße wurden auf einem Planktonrad bei einer Umdrehungszahl von 0,5 Umdrehungen min⁻¹ inkubiert. Jeden zweiten Tag wurden die Tiere in frische Beutesuspension überführt. Dabei wurden Exuvien sowie tote Tiere entfernt und gezählt.

4.1.5.2.3 Berechnungen der Häutungsraten

Am Ende der Experimente wurde das Entwicklungsstadium jedes einzelnen Individuums bestimmt und das Durchschnittscoepodidstadium als arithmetisches Mittel pro Ansatz ($CS_{(end)}$) berechnet, dieses war C6, wenn alle Individuen das Adultstadium erreicht hatten. Um den

zeitlichen Verlauf der Häutungen darzustellen, wurde eine Durchschnittshäutungsrate ($HR_{(int)}$) für jedes aufeinanderfolgende 48-h-Probeintervall berechnet:

$$HR_{(int)} = Exuv / Cop \quad \text{Gleichung 6}$$

wobei $Exuv$ die Anzahl der Exuvien, die am Ende jedes 48-h Zeitintervalls gefunden wurden, und Cop die Anzahl der Copepodide am Beginn jeden Zeitintervalls bedeutet. Hieraus ließ sich das arithmetische mittlere Copepodidstadium für jeden Versuchsansatz zu Beginn des Experimentes ($CS_{(start)}$) als Differenz zwischen dem durchschnittlichen Copepodidstadium am Ende des Versuchszeitraumes ($CS_{(end)}$) und den aufsummierten durchschnittlichen Häutungsraten ($\sum HR_{(int)}$) errechnen:

$$CS_{(start)} = CS_{(end)} - \sum HR_{(int)} \quad \text{Gleichung 7}$$

Die Exuvienfunde pro Tier ($Exuv \text{ Cop}^{-1} \text{ d}^{-1}$) wurden für jede Räuber-Beute-Kombination kumulativ graphisch über den gesamten Versuchszeitraum aufgetragen und lineare Regressionen nach der Methode der kleinsten Abweichungsquadrate berechnet. Aus der Steigung der Regressionsgeraden ergab sich die durchschnittliche Häutungsrate über den Zeitraum eines ganzen durchschnittlichen Copepodidstadiums. Die Regression wurde nur über den Zeitraum berechnet, in dem es zu keiner Verzögerung der kumulativen Häutungen kam. Zu einer Verzögerung der Entwicklung kam es vermutlich durch eine aktive Ruhephase bei den beiden *Cyclops*-Arten.

4.1.5.2.4 Mortalität

Die Mortalität wurde als prozentualer Anteil der toten an der eingesetzten Gesamtzahl von Copepodiden in allen Replikaten einer Räuber-Beute-Kombination berechnet. Für eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den sich stark unterschiedlich schnell entwickelnden Versuchsansätzen wurde die Mortalität für den Zeitpunkt, an dem mindestens 50 % der Tiere das Adultstadium erreicht hatten, sowie zum Ende des Gesamtversuchszeitraumes berechnet.

4.1.6 Reproduktion

Die Verwertbarkeit von verschiedenen Protisten für die Reproduktion von Copepoden wurde in zwei leicht unterschiedlichen Versuchsserien für den calanoiden *Eudiaptomus gracilis* (Ka-

pitel 4.1.6.1) und den cyclopoiden *Mesocyclops leuckarti* 4.1.6.2) getestet. Dafür wurden die Copepoden in semikontinuierlicher Kultur mit verschiedenen Ciliaten und Cryptomonaden im Vergleich zu Hungeransätzen über mehrere Tage kultiviert und die Eibildungsraten, die Geleggrößen sowie die Schlupfraten der Nauplien bestimmt. Außerdem wurden die Überlebenszeiten der Copepoden in den unterschiedlichen Beuteansätzen bestimmt und verglichen.

In einem weiteren Versuchsansatz wurden im Anschluss an die Experimente zur Copepodidentwicklung von *E. gracilis*, *E. graciloides* und *C. vicinus* (siehe Kapitel 4.1.5.2) der Reproduktionserfolg Eibildungsrate bzw. Schlupferfolg der Nauplien der dort gewonnenen adulten Copepoden in den gleichen Beutesuspensionen (*Urotricha*, *Cryptomonas*, *Colpidium* sowie *Colpidium* + *Cryptomonas*) beobachtet.

4.1.6.1 Eiproduktion *Eudiaptomus graciloides*

Die Reproduktion von *Eudiaptomus graciloides* wurde im Experiment bei Fütterung mit dem algivoren prostomatiden Ciliaten *Coleps* sp., dem bakterivorem Ciliaten *Tetrahymena pyriformes* sowie mit der autotrophen *Cryptomonas phaseolus* untersucht. Als Kontrollansatz dienten Hungerkulturen, in denen die Copepoden gar nicht gefüttert wurden, ansonsten aber die gleichen Behandlungsprozeduren – wie z. B. Überführung in neues Versuchsmedium – durchliefen.

Für das Experiment wurden eitrage Weibchen und adulte Männchen unter dem Binokular bei etwa 40-facher Vergrößerung mit einer Pasteurpipette aus der aufkonzentrierten Stammkultur selektiert und in die Versuchsgefäße überführt. Dazu wurden die Tiere mit CO₂-haltigem Selterwasser leicht sediert. Die Eisäcke wurden durch vorsichtiges mehrmaliges Aufsaugen der Tiere mit der Pipette vom Tier getrennt. Je 1 Weibchen wurde mit 2 Männchen in ein Loch einer 6-Loch-Zellkulturplatte überführt und mit der jeweiligen Beutesuspension und Medium auf 13 ml Füllvolumen mit einer Beutedichte von 2 µg C mL⁻¹ aufgefüllt. Vor Versuchsbeginn wurde sichergestellt, dass die eingesetzten Copepoden sich von der Sedierung durch Selterwasser wieder erholt hatten und unbeeinträchtigt in ihren Bewegungen waren. Die Kulturplatten wurden in einem Klimaschrank bei 18 °C in Dunkelheit inkubiert. Alle 12 Stunden wurden die Tiere mit Hilfe einer Eppendorfpipette aufgenommen und in neue Futtersuspension überführt. Für die Überführung der Copepoden in eine frische Beutesuspension wurde eine Pipette mit erweiterter Pipettenspitze verwendet, um die Tiere nicht zu verletzen. Für jeden Beuteansatz wurde so die individuelle Reproduktionsrate von 6 weiblichen Tieren bestimmt. Für die Herstellung der Beutesuspension siehe Kapitel 4.1.3.

Vor jeder Überführung in frische Beutesuspension wurden die Anzahl der gebildeten Eier (AE) sowie die Anzahl der Gelege (AG) gezählt. Dabei wurde die Gelegegröße (GG) als Anzahl der Eier für jedes Gelege registriert. Außerdem wurde die Anzahl der geschlüpften Nauplien ($Naup$) gezählt. Die Entwicklung der geschlüpften Nauplien wurde in diesen Versuchen nicht weiter verfolgt, sie wurden nicht in die neue Futtersuspension mit überführt. Die Eier, aus denen nach Versuchsende (nach zehn Tagen) noch keine Nauplien geschlüpft waren, wurden noch vier Tage lang bis zum Schlupf verfolgt, wobei die eiträgenden Weibchen in diesem Zeitraum *ad libitum* gefüttert wurden.

Für jedes Fütterungsintervall (Int) wurde die durchschnittliche Anzahl der gebildeten Eier (E_{int}) pro lebenden Weibchen (W_{leb}) für jeden der 4 Beuteansätze berechnet:

$$E_{int} = AE / W_{leb} \quad \text{Gleichung 8}$$

Analog dazu wurde für jedes Fütterungsintervall die durchschnittliche Anzahl der gebildeten Eigelege pro lebenden Weibchen berechnet:

$$G_{int} = AG / W_{leb} \quad \text{Gleichung 9}$$

Der Schlupferfolg (SE) wurde berechnet als:

$$SE = Naup / GG \quad \text{Gleichung 10}$$

Die durchschnittlichen Eizahlen (E_{int}) sowie analog dazu die durchschnittliche Anzahl der Gelege pro Weibchen (G_{int}) wurden über den gesamten Versuchszeitraum aufsummiert:

$$E_{kum} = \sum_{end}^{start} E_{(Int)} \quad \text{Gleichung 11}$$

$$G_{kum} = \sum_{end}^{start} G_{int} \quad \text{Gleichung 12}$$

Die kumulativen Eizahlen pro Weibchen (E_{kum}) sowie die kumulative Anzahl der Gelege pro Weibchen über den Versuchszeitraum wurden mit Hilfe einer einfaktoriellen Varianzanalyse auf Unterschiede in den vier unterschiedlichen Beuteansätzen getestet. Die durchschnittliche Gelegegröße (GG_{Mittel}) sowie der durchschnittliche Schlupferfolg (SE_{Mittel}) wurden als Mittelwert aus den über den gesamten Versuchszeitraum gebildeten Gelegen sowie den dazugehörigen Schlupferfolgen berechnet und ebenfalls in einer einfaktoriellen Varianzanalyse zwischen den vier unterschiedlichen Beuteansätzen auf Unterschiede getestet. Die Überlebenszeiten der Versuchstiere wurden für Weibchen und Männchen getrennt bestimmt und als mittlere Überlebensdauer im Vergleich der vier verschiedenen Beuteansätze dargestellt. In einigen Fällen wurden Männchen während des Versuches aus den Stammkulturen ersetzt, wenn diese vor

den Weibchen gestorben waren, um die Möglichkeit einer weiteren Befruchtung zu gewährleisten. Weibchen, die gestorben waren, wurden nicht ersetzt.

4.1.6.2 Eiproduktion *Mesocyclops leuckarti*

In dem Reproduktionsexperiment mit *Mesocyclops leuckarti* wurden einige Veränderungen in der Versuchsdurchführung im Vergleich zu den zuvor beschriebenen Experimenten mit *E. graciloides* vorgenommen. Es wurde eine größere Menge an Copepoden eingesetzt, um den statistischen Fehler zu minimieren. Außerdem wurden andere Beuteorganismen (*Urotricha farcta*, *Cyclidium* sp.) ausgewählt, die in den Freilandhabitaten eine größere Relevanz haben, und sich trotzdem im Labor gut kultivieren ließen. Das Fütterungsintervall wurde von 12 auf 24 Stunden erhöht und der Versuchszeitraum mehr als verdoppelt. Die Reproduktionsparameter von *M. leuckarti* wurden bei Fütterung mit den Beuteorganismen *U. farcta* als algivorem und *Cyclidium* sp. als bakterivorem Ciliaten getestet. Als phytoplanktische Beute wurde *C. phaseolus* ausgewählt, als Kontrollansätze wurden Hungerkulturen ohne Beutezugabe getestet.

Die Copepoden wurden ebenfalls aus Planktonnetzproben aus dem Großen Vätersee isoliert und über mehrere Tage in der Klimakammer bei 18 °C gehältert, um sie an die Versuchstemperaturen zu adaptieren. Für die Experimente wurden eitragende Weibchen aus aufkonzentrierten Kulturen unter der Stereolupe selektiert. Die Eisäckchen der selektierten Tiere wurden in einem Netzbecher durch vorsichtiges Spülen mit einer Laborspritzflasche abgetrennt. Da der cyclopoide *M. leuckarti* deutlich robuster ist als der calanoide *E. graciloides*, wurde die Behandlung sehr gut vertragen. Durch die Auswahl von bereits eitragenden Weibchen wurde sichergestellt, dass die Weibchen bereits befruchtet waren und Spermatozoen im *Receptaculum seminis* gespeichert waren. Der Reproduktionsmodus der cyclopoiden Copepoden unterscheidet sich darin von dem der calanoiden Arten, die diese Möglichkeit nicht haben. So konnte in diesen Experimenten auf das zusätzliche Einsetzen von Männchen verzichtet werden.

In den Versuchsansätzen wurden je 5 Weibchen zusammen in einer Beutekonzentration von $1,5 \mu\text{g C mL}^{-1}$ in ein Rollrandgläschen in 35 mL Mediumvolumen eingesetzt. Auch hier wurde vor Versuchsbeginn festgestellt, ob die eingesetzten Copepoden sich von der Behandlung und der Sedierung durch Selterwasser wieder erholt hatten und keine Einschränkung in ihren Bewegungen zeigten. Eventuelle Ausfälle wurden vor Versuchsstart ersetzt. Die Tiere wurden in einem Planktonrad bei etwa $0,5 \text{ Umdrehungen min}^{-1}$ in einer Klimakammer bei 18 °C in Dunkelheit inkubiert. Alle 24 h wurden die Tiere in neue Beutesuspension überführt. Zuvor

wurden unter der Stereolupe die Anzahl der gebildeten Eigelege (AG) sowie die Gelegegröße (GG) als Anzahl der Eier in jedem Gelege abgeschätzt. Die Gelegegröße wurde, wenn möglich, genau ausgezählt, bei großen Gelegen musste allerdings die Anzahl der innenliegenden Eier eines Geleges abgeschätzt werden.

Die Reproduktionsparameter wie kumulative Eizahlen pro Weibchen (E_{kum}), kumulative Anzahl der Gelege pro Weibchen (G_{kum}), durchschnittliche Gelegegröße (GG) sowie Schlupferfolg (SE) wurden analog zu dem Reproduktionsexperiment mit *E. graciloides* berechnet.

Die während des Versuches gebildeten Eisäckchen von *Mesocyclops leuckarti* wurden in diesem Experiment wie oben beschrieben von den Tieren getrennt und in Zellkulturplatten überführt. Für die Bestimmung des Schlupferfolges (SE) wurden die Zellkulturplatten mit den abgetrennten Eiern täglich unter der Stereolupe überprüft. Jeweils 2 Wochen nach der Überführung der Eier in separate Zellkulturplatten wurden die Suspensionen in den Zellkulturplatten mit 4%igem Formol fixiert, die geschlüpften Nauplien ausgezählt und der Schlupferfolg nach Gleichung 9 bestimmt. Gestorbene Tiere wurden für die Bestimmung der Mortalitätsrate registriert und entfernt.

4.1.7 Beobachtungen zur Eiproduktion *Eudiaptomus* / *Cyclops*

Für *E. gracilis*, *E. graciloides*, und *C. vicinus* wurde im Anschluss an die Experimente zur Copepodidentwicklung (siehe Kapitel 4.1.5.2) die Reproduktionsfähigkeit in denjenigen Beutekombinationen beobachtet, in denen sie die Geschlechtsreife erreicht hatten. Die Copepoden wurden jeweils zu dem Zeitpunkt in das Beobachtungsprotokoll eingeschlossen, an dem sie die Geschlechtsreife erreicht hatten. Jeweils 1 Weibchen wurde mit 1–2 Männchen separiert. Da nicht immer genügend männliche Tiere aus den Experimenten zur Copepodidentwicklung für die paarweise Separierung vorhanden waren, wurden diese aus den Erhaltungskulturen entnommen. Diese Männchen wurden also vorher nicht mit den Versuchsbeutesuspensionen gefüttert. Es sollte festgestellt werden, ob die Copepoden in den verwendeten Beutesuspensionen Eier bilden können. Es wurden die Zeitdauer bis zur Bildung des ersten Eigeleges und ggf. der folgenden Gelege sowie die Gelegegröße registriert. Des Weiteren wurde die Anzahl der Gelege pro Weibchen festgestellt und verglichen. Die Reproduktionsbeobachtungen wurden unter den gleichen Versuchsbedingungen und in den gleichen Beutesuspensionen untersucht, in denen die Copepodidentwicklung untersucht wurde. Die Anzahl der eingesetzten Weibchen in diesen Beobachtungen war abhängig von der Anzahl der Weibchen, die in den entsprechenden Experimentalansätzen zur Copepodidentwicklung das Adult-stadium erreichten und schwankte zwischen 2–16 (Tabelle 1). Wegen der unterschiedlich langen Entwick-

lungszeiten der Copepodide konnten nicht für alle Räuber-Beutekombinationen genügend Weibchen in das Experiment eingeschlossen werden, um einen statistisch abgesicherten Vergleich der Beutesuspensionen zu ermöglichen. Die Beobachtungen konnten aber zu der Aussage herangezogen werden, ob die untersuchten Beutesuspensionen eine Eibildung der Copepoden ermöglichen. Insgesamt wurden für *E. gracilis* 47 Weibchen beobachtet, für *E. graciloides* 39 und für *C. vicinus* 11.

Tabelle 1

Anzahl der Weibchen (n) und Beobachtungszeitraum (Tage) für die Reproduktionsbeobachtungen \pm Standardabweichung der geschlechtsreifen Weibchen von *Eudiaptomus gracilis*, *Eudiaptomus graciloides* und *Cyclops vicinus* aus den Experimenten zur Copepodidentwicklung (4.1.5.2). Die Beuteansätze entsprachen denen aus den Experimenten zur Juvenilentwicklung. Cry = *Cryptomonas* sp. Uro + Cry = *Urotricha farcta* + *Cryptomonas* sp., Colp = *Colpidium campylum*, Colp + Cry = *Colpidium campylum* + *Cryptomonas* sp., n = Anzahl der in den Versuch eingeschlossenen adulten Weibchen, k. B. = keine Beobachtung.

Beuteansatz	<i>E. gracilis</i>		<i>E. graciloides</i>		<i>C. vicinus</i>	
	Tage	n	Tage	n	Tage	n
Uro+Cry	10,6 \pm (7,3)	10	8,0 \pm (7,1)	5	14,0 \pm (0,0)	2
Cry	13,9 \pm (4,5)	16	6,2 \pm (5,1)	9	k. B.	0
Colp	14,0 \pm (4,0)	8	8,4 \pm (5,7)	9	10,0 \pm (0,0)	2
Colp+Cry	9,1 \pm (4,7)	13	10,6 \pm (3,6)	16	9,4 \pm (3,6)	7

4.2 In situ Grazing-Experimente im DCM

4.2.1 Untersuchungsgewässer

Der Große Vätersee gehört zur Templin-Werbelliner Seenplatte in der Schorfheide nordöstlich von Berlin. Er ist ein See mit eiszeitlichem Ursprung ohne oberirdischen Zu- und Abfluss, der sich hauptsächlich durch Regenwasser speist, da der Grundwasserzufluss als äußerst gering einzustufen ist. Bei einer maximalen Größenausdehnung von etwa 519×325 m hat der Große Vätersee seine tiefste Stelle etwa in der Mitte des Sees mit einer maximalen Tiefe von 11,5 m. Der Seegrund ist an dieser Stelle mit einer etwa 1 m hohen Muddeschicht bedeckt. Für eine nähere Charakterisierung der geographischen, und hydrologischen Gegebenheiten siehe Kasprzak *et al.* (2000) und Steiner (2002). Der Große Vätersee ist ein dimiktischer, mesotropher See mit einem Phytoplanktonfrühjahrsmaximum, welches durch ein grazingbedingtes Klarwasserstadium abgelöst wird. Die wichtigsten Grazer sind Daphnien, aber auch der für mesotrophe Seen typische calanoide Copepode *Eudiaptomus graciloides* (Steiner 2002).

Über den Sommer bildet sich durch Sauerstoffzehrung ein nährstoffreiches anoxisches Hypolimnion mit H_2S -Bildung aus. Trotzdem ist der See von seiner sommerlichen epilimnischen Phytoplanktoncharakteristik, Chlorophyllkonzentration ($< 10 \mu\text{g Chl a L}^{-1}$) sowie der epilimnischen Nährstoffbelastung ($< 40 \mu\text{g TP L}^{-1}$) her eher als mesotroph einzustufen (Opitz 2005). Ein weiteres für mesotrophe Seen typisches Charakteristikum ist die Ausbildung eines ausgeprägten DCM in den Sommermonaten (Mitte Juni/Anfang Juli), in der Tiefe der Chemokline, das bis zur Herbstzirkulation weitgehend bestehen bleibt.

Im Großen Vätersee wird dieses DCM überwiegend (ca. 71 % Biomasse) von den filamentösen Cyanobakterien *Planktothrix clathrata* und in weit geringerem Maße durch *Pseudanabaena catenata* dominiert (Opitz 2005). Die Genese dieses DCM ist weitgehend durch die Aufwärtsflotation von Überdauerungsstadien der Cyanobakterienfilamente aus dem Sediment bedingt. Über den Sommer wachsen die Filamente, sodass im August/September die Größenklassen von 200–300 μm Länge dominieren (Opitz 2005). Die Cyanobakterien können mit Hilfe ihrer Gasvakuolen ihre Dichte regulieren und nischen sich in einer für ihr Pigmentbesteck optimalen Wassertiefe ein, in der noch genügend Nährstoffe vorhanden sind. Das volletablierte DCM hatte in den Untersuchungsjahren (1998–2001) eine Schichtstärke von ca. 20–30 cm und war in einer Tiefe zwischen 7–8 m zu detektieren. Die Jahresmittelwerte der Chl a-Konzentration im DCM betrug für die Jahre 1998–2001 nach Fluoreszenzsondenmessungen $35 \mu\text{g Chl a L}^{-1}$ (Opitz 2005).

Gleichzeitig wies das DCM im Großen Vätersee in den Untersuchungsjahren immer eine hohe Bakterienabundanz von $3\text{--}15 \times 10^6$ Zellen mL^{-1} auf (Adrian & Schipolowski 2003), wobei große Formen ($> 4 \mu\text{m}$) wie die Schwefelpurpurbakterien *Chromatium* spp. ($5 \times 15 \mu\text{m}$) und filamentöse Schwefelbakterien beträchtliche Biomasseanteile hatten. Die Biomassekonzentration der Bakterien im DCM war im Vergleich zum Epi- bzw. zum Hypolimnion um den Faktor 2,9 bzw. 1,9 erhöht (Adrian & Schipolowski 2003). Aber auch die Bakterienproduktion, gemessen als Leucininkorporation nach Kirchmann (1993), war im DCM mit $21,2 \mu\text{g C L}^{-1} \text{d}^{-1}$ um den Faktor 4,1 bzw. 2,6 gegenüber der Produktion im Epi- bzw. Hypolimnion erhöht (Adrian und Meyer, unveröffentlichte Daten). Ein weiteres für die hier durchgeführten Experimente wichtiges Charakteristikum des DCM im Großen Vätersee ist eine hohe Ciliatenabundanz, die in den Untersuchungsjahren 1997–99 zwischen $9\text{--}292$ Ciliaten mL^{-1} lag (Adrian & Schipolowski 2003).

Im engen räumlichen und zeitlichen Bereich des DCM sind die Ciliaten im Vergleich zum Epi- und Hypolimnion am höchsten konzentriert. Das Epilimnion ist mit 10 Ciliaten mL^{-1} im Jahresmittel wesentlich dünner besiedelt. Im Hypolimnion lagen die Zellkonzentrationen zwischen $19\text{--}143$ Ciliaten mL^{-1} . Die von ihrer Biomasse wie auch Abundanz her wichtigsten Ciliatentaxa im DCM sind *Dexiotricha* spp. ($< 35 \mu\text{m}$) als Vertreter der bakterienfiltrierenden Scuticociliaten sowie *Balanion planctonicum* ($< 20 \mu\text{m}$) und *Urotricha* spp. ($< 35 \mu\text{m}$), als Vertreter der schlingenden Prostomatida. Da Ciliaten von verschiedenen Mesozooplanktern gut gefressen werden, sollte das DCM mit seiner hohen Ciliatendichte eine gute Nahrungsgrundlage darstellen. Als limitierende Faktoren für das Zooplankton wirken ab Mitte Juli die beginnende Sauerstoffzehrung im Hypolimnion mit der Ausbildung eines zum Seegrund zunehmenden H_2S -Gradienten (vergl. Abbildung 1 A-D).

Untersuchungen zur tages-/nachtperiodischen Verteilung des Zooplanktons im August 1998 und 2001 haben ergeben, dass $12\text{--}31$ % der Gesamtabundanz der Juvenilstadien der cyclopiden Copepoden (*Thermocyclops oithonoides*, *Mesocyclops leuckarti*, *Diacyclops bicuspidatus*) sowie $16\text{--}36$ % der Gesamtabundanz der Rotatorien permanent im DCM zu finden sind (Adrian & Schipolowski 2003). Adulte Cyclopoidea sowie der calanoide *Eudiaptomus graciloides* zeigen eine tages-/nachtperiodisch unterschiedliche Verteilung und sind nachts oder in den frühen Morgenstunden im DCM zu finden (Adrian & Schipolowski 2003).

Das DCM im Großen Vätersee stellt also einen extremen Lebensraum (Sauerstoffmangel, niedrige Temperaturen, beginnender H_2S -Gradient) mit einer hohen Biomasseakkumulation dar, an dem sich ein permanent hoher Anteil an Juvenilstadien von Copepoden, aber auch von Rotatorien aufhält. Neben den schlecht fressbaren langfädigen Cyanobakterien ist eine hohe

Konzentration von Ciliaten und Bakterien zu finden. Das DCM im Großen Vätersee bietet mit seiner hohen Konzentration an langfädigen (200-300 µm) und damit potentiell für Copepoden schlecht fressbaren Cyanophyceen und einer gleichzeitig sehr hohen Abundanz an Ciliaten eine gute Gelegenheit, das *in situ*-Selektionsverhalten von Copepoden gegenüber Ciliaten zu testen.

4.2.2 Enclosure-Experimente

Zur Bestimmung des *in situ*-Fraßverhaltens des Mesozooplanktons im DCM des Großen Vätersee wurden *Enclosure*-Experimente an vier unterschiedlichen Tagen in den Monaten Juli bis September in den Jahren 2000 und 2001 durchgeführt, an denen ein deutliches DCM im See ausgebildet war (Abbildung 1). Gemessen wurde dabei der artspezifische Einfluss verschiedener Mesozooplankter auf die Wachstumsraten verschiedener Gruppen des mikrobiellen Nahrungsnetzes (einschließlich der Cyanobakterienfilamente *Planktothrix clathrata* und *Pseudanabaena catenata*). Artspezifisch wurde der Einfluss von *E. graciloides* (adulte Weibchen) sowie *T. oithonoides* (adulte Weibchen) als Räuber getestet. Des Weiteren wurden cyclopoide Copepodide der Arten *T. oithonoides*, *Diacyclops bicuspidatus* sowie von *M. leuckarti* der Copepodidstadien C2–C5 als Mischansatz getestet. Die Zooplankter wurden 1–2 Tage vor der Versuchsdurchführung mit dem Planktonnetz aus dem Großen Vätersee gefangen und im Labor unter der Stereolupe selektiert. Die selektierten Zooplankter wurden über Nacht in 2-Liter PE-Flaschen in einer Klimakammer bei 18 °C gehältert, bis sie in die *Enclosures* eingesetzt wurden. Während jedes Versuchs wurde außerdem der Einfluss der natürlichen Mesozooplanktongemeinschaft auf die mikrobielle Planktongemeinschaft getestet.

4.2.3 Tiefenprofile

Zur Lagebestimmung des DCM im Großen Vätersee sowie zur Charakterisierung der Umgebungsparameter wurden zu Beginn jeden Experimentes die Tiefenprofile ausgewählter Messgrößen bestimmt. Die Messungen wurden an der tiefsten Stelle des Sees von einer festverankerten Schwimmplattform bis zu einer Tiefe von 10,5 m durchgeführt. Die vertikale räumliche Auflösung der Profile betrug 0,5 m im Epi- sowie im Hypolimnion. Im Metalimnion – besonders im Bereich des DCM – wurden die Messschritte auf 0,1 m herabgesetzt (Abbildung 1). Die Wassertemperatur, O₂-Konzentration, Leitfähigkeit und pH-Wert wurden mit einer H₂O Multiparameter Water Quality Data Transmitter-Sonde (Hydrolab® Corporation) gemessen. Chlorophyll a (Chl a) und Phycoerythrin wurden mit einem Fluorometer (1301 Phy/Aut

2R/Chla/Mie BackScat-Fluorometer, Dr. Haardt-Optik-Mikroelektronik) mit 2 Anregungswellenlängenbereichen (Chl a: 380–520 nm, Phycoerythrin: 535–570 nm), das Fluoreszenzsignal wurde bei 683 nm gemessen. Die H₂S Konzentration wurde amperometrisch mit einem H₂S-Mikrosensor (AMT Analysenmesstechnik GmbH) gemessen. Alle Messsonden waren in einem Sondengestell vereint, sodass alle Messungen zeitgleich stattfinden konnten.

Die Tiefenprofile zeigten eine deutliche Zunahme des Chlorophyllpeaks im Laufe des Sommers. Der Schwefelwasserstoffgehalt stieg im Untersuchungszeitraum unterhalb des DCM an, trat aber erst unterhalb der Wasserschicht auf, aus der das Wasser für die Experimente geschöpft wurde, und führte somit nicht zu Beeinträchtigungen der eingesetzten Zooplankter. Während der Befüllung der *Enclosures* (siehe unten) wurde ebenfalls kein H₂S-Geruch wahrgenommen.

Tabelle 2

Versuchstermine, Tiefenbereich des DCM, aus dem das Wasser für die *Enclosure*-Experimente entnommen wurde, sowie Temperatur (°C) und relative Sauerstoffsättigung (%) in den *Enclosures* zu Beginn und am Ende der Experimente. Es sind die O₂-Konzentrationen aus den Sondenmessungen aus dem Bereich des DCM angegeben sowie die O₂-Konzentrationen als Mittelwerte ± Standardabweichung aus allen *Enclosures* jeweils zu Beginn und am Ende des Versuches. S. d. = Sonde defekt.

Versuchstermin	Wassertiefe DCM (m)	Temperatur (°C)	O ₂ -Sättigung (%)		
			DCM	Beginn	Ende
12. Jul. 2000	7,20 – 7,50	9,5	0,5	16,2 ± 1,9	6,1 ± 2,9
09. Aug. 2000	7,10 – 7,40	10,7	1,3	19,6 ± 2,6	8,0 ± 2,0
22. Aug. 2000	7,30 – 7,60	11,1	0,7	S. d.	3,6 ± 1,2
05. Sep. 2001	7,80 – 8,10	11,1	2,0	26,0 ± 6,0	9,1 ± 1,7

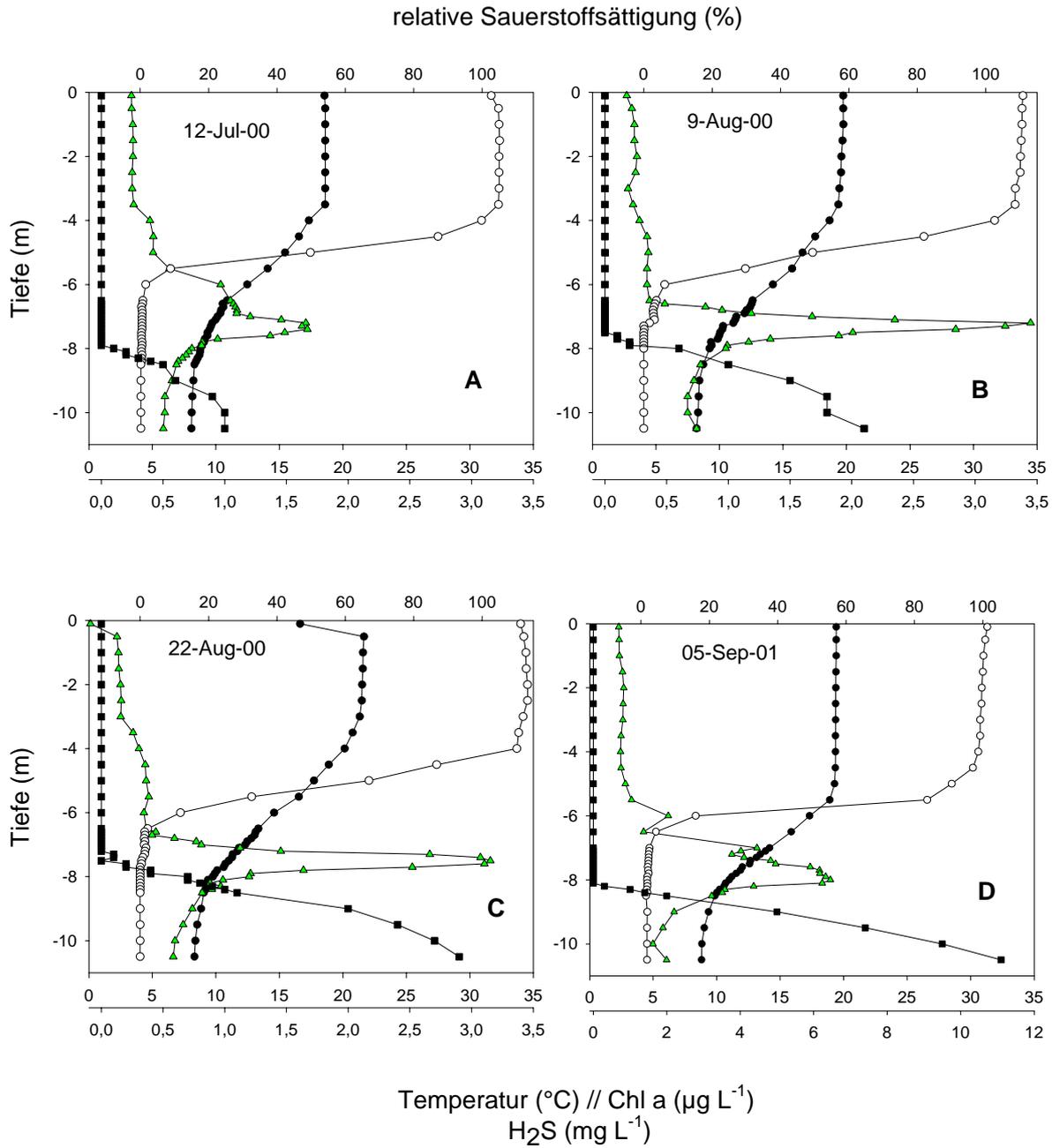


Abbildung 1

Tiefenprofile der Temperatur, Sauerstoffsättigung, Chlorophyll a-Konzentration sowie der H₂S-Konzentration an den 4 Versuchsterminen, gemessen mit einer Multifunktionssonde. Kleine schwarze Kreise = Temperatur (°C) – abzulesen an der unteren x-Achse, Dreiecke = Chl a-Konzentration ($\mu\text{g L}^{-1}$) – ebenfalls abzulesen an der unteren x-Achse, weiße Kreise = relative Sauerstoffsättigung (%) – abzulesen an der oberen x-Achse, schwarze Quadrate = H₂S-Konzentration (mg L^{-1}) – abzulesen an der nach unten abgesetzten x-Achse.

4.2.4 Befüllung der *Enclosures*

Nach der Tiefenprofilmessung wurde aus der Tiefe des DCM mit Hilfe eines Vertikalschöpfers von 30 cm Höhe und ca. 4 L Volumen Wasser geschöpft und in einer Tonne (120 L) gesammelt. Aus der Mischtonne zur Befüllung der *Enclosures* wurden in jeweils 3 Parallelen filtrierte (64 μm) und unfiltrierte Proben entnommen, aus denen die Anfangskonzentrationen von Chl a, Bakterien, autotrophen Pikoplankton (APP), heterotrophen Nanoflagellaten (HNF), Cryptomonaden, Ciliaten, sowie Mesozooplankton wie in Kapitel 4.2.6 beschrieben bestimmt wurden.

Dann wurden die *Enclosures* (Polyethylen-Beutel 2,5 L) befüllt und dabei über einen 64 μm Netzbecher zooplanktonfrei filtriert. In randomisierter Reihenfolge wurden in jeweils 3 Parallelansätzen eine definierte Anzahl an Mesozooplanktern hinzugefügt und für 24 h in der Tiefe des DCM inkubiert. Ein Teil der Ansätze diente als Kontrollen, in denen das Wachstum der Beuteorganismen ohne Räuberzugabe bestimmt wurde. Die *Community*-Ansätze wurden mit unfiltriertem DCM-Wasser befüllt, sodass die natürliche Zooplanktonkonzentration und -zusammensetzung erhalten blieb. Um Remineralisationseffekte der zugegebenen Zooplankter auf die Algen und Bakterien auszugleichen, wurde allen Versuchs- und Kontrollansätzen eine Nährstofflösung aus $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3 \text{H}_2\text{O}$, KNO_3 sowie NH_4Cl mit einer Endkonzentration von 50 $\mu\text{g PO}_4^{3-}$, 400 $\mu\text{g NO}_3^-$ sowie 20 $\mu\text{g NH}_4 \text{mL}^{-1}$ zugefügt. Die Polyethylenbeutel wurden mit Schnüren an einem fest verankerten Schwimmrahmen an der tiefsten Stelle im Großen Vätersee befestigt, sodass sie in der Tiefe des DCM inkubiert waren.

Die zugesetzten Mesozooplankter wurden am Tage vorher aus Planktonnetzfangen aus dem Großen Vätersee isoliert. Sie wurden im Labor unter der Stereolupe bei 10–20-facher Vergrößerung bestimmt, mit einer Pasteurpipette aufgenommen und bis zu ihrem Einsatz in 2 L-PE-Flaschen sortiert und über Nacht in einer Klimakammer bei 18 °C verwahrt. Die tatsächlich eingesetzte Konzentration der Räuber wurde am Ende der Inkubationszeit durch Auszählen des Mesozooplanktons bestimmt (Tabelle 3). (Für die Zusammensetzung der *Community*-Ansätze siehe Kapitel 4.2.5.) Der O_2 -Gehalt in den *Enclosures* wurde mit einer WTW[®]-Sauerstoffsonde zu Beginn und am Ende der Inkubationszeit gemessen. Der Sauerstoffgehalt im DCM betrug 0,5–2 % relativer Sättigung (Tabelle 2), was einer O_2 -Konzentration von 0,05–0,21 mg L^{-1} entsprach. Die in den *Community*-Ansätzen eingesetzten Zooplankter sollten also an mikroaerobe Bedingungen adaptiert gewesen sein. Durch die Filtration (64 μm) des entnommenen DCM-Wassers und der Befüllung der *Enclosures* wurde der Sauerstoffgehalt deutlich erhöht (siehe Tabelle 2). Über den Versuchsverlauf von 24 h fand wiederum eine Sauerstoffzehrung statt. Eine Varianzanalyse der Sauerstoffkonzentrationen in den *Enclosures*

am Ende des Experimentes zeigte keinerlei Unterschiede zwischen den Räuberansätzen und den Kontrollen. Die O₂-Konzentrationen waren somit gegenüber den tatsächlichen Verhältnissen im DCM erhöht. Außer in Versuch 3 am 22./23. August lagen die Sauerstoffsättigungen immer über 5 %, was einen negativen Einfluss auf die Fressraten der nicht-adaptierten Copepoden unwahrscheinlich machte.

Tabelle 3

Räuberdichte (Individuen L⁻¹) in den unterschiedlichen Ansätzen der *Grazing*-Experimente im DCM. Die Dichtangaben geben die nach Versuchsende in den fixierten Proben ausgezählte Anzahl der Mesozooplankter wieder. In den Ansätzen der cyclopoiden Copepodide waren die Arten *D. bicuspidatus*, *T. oithonoides* und *M. leuckarti* enthalten. Die *Community*-Ansätze beziehen sich auf Mesozooplankter der Fraktion > 64 µm, k. A. = keine Ansatz.

Ansatz	12.–13. Jul 00	09.–10. Aug 00	22.–23. Aug 00	05.–06. Sep 01
<i>E. graciloides</i> adulte W	22–40	k. A.	14–25	116–137
<i>T. oithonoides</i> adulte W	k. A.	17–19	k. A.	k. A.
Cyclopoide Copepodide C3–5	k. A.	44–151	82–94	256–259
<i>Community</i>	20–109	169–264	113–232	30–294

4.2.5 Mesozooplankton-*Community* im DCM

Das Mesozooplankton im DCM war zu allen Terminen bei großen Abundanzunterschieden stark durch Rotatorien dominiert (Abbildung 2). Die Individuendichte im 1. Experiment am 12./13. Juli war mit 51 Individuen pro Liter am geringsten, Crustaceen machten davon nur 10 % aus. Im 2. Experiment am 9./10. August war der Anteil des Crustaceenplanktons mit 51 % am höchsten. Der Anteil der cyclopoiden Copepodide die den Arten *T. oithonoides*, *M. leuckarti* und *D. bicuspidatus* zuzuordnen waren, machte mit 36 % den größten Anteil aus. Am 22./23. August betrug der Anteil des Crustaceenplanktons nur noch 16 %, wovon über die Hälfte cyclopoide Copepodide waren. Am letzten Termin am 5./6. September 2001 wurde das Mesozooplankton in Form von Individuenzahlen zu über 97 % von Rotatorien dominiert, cyclopoide Copepodide machten weniger als 1 % aus. Die dominierenden Arten der Rotatorien waren in den 4 Experimenten unterschiedlich. Am 12./13. Juli dominierten bei insgesamt geringen Rotatorienzahlen (46 Ind L⁻¹) die beiden Arten *Keratella cochlearis* und *Keratella quadrata* mit zusammen 50 %, gefolgt von *Polyarthra* spp. (21 %) und *Filina longiseta*, die 15 % der mittleren Rotatorienabundanz ausmachte. Alle Arten können sowohl Flagellaten als auch Ciliaten erbeuten. Am 9./10. August 2000 stellte von insgesamt 246 Rotatorien L⁻¹

F. longiseta mit 55 % die größte Rotatorienfraktion, gefolgt von *Polyarthra* spp. mit 18 %, *Keratella* spp. (11 %) und *Anuraeopsis fissa* (10 %). Am 22./23 August war die Verteilung ähnlich. Bei einer mittleren Gesamtrötatorienzahl von 378 Individuen L⁻¹ dominierte *A. fissa* (33 %), gefolgt von *Polyarthra* spp. (31 %), *F. longiseta* (27 %) und *Keratella* spp. (6 %). Im letzten Experiment am 5./6. September 2001 dominierte mit 70 % der Gesamtrötatorienzahl (588 Rotatorien L⁻¹) *A. fissa*, gefolgt von *Polyarthra* spp. mit 12 % und *F. longiseta* (5 %).

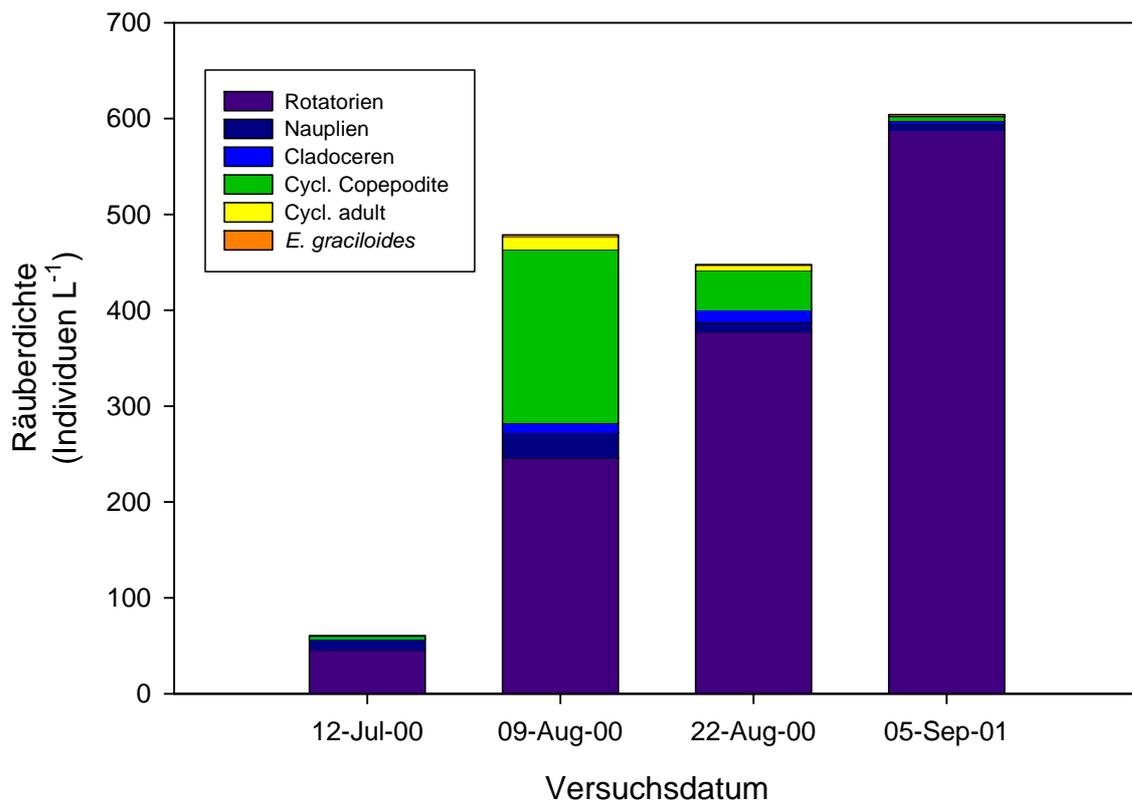


Abbildung 2

Abundanz und Zusammensetzung des Mesozooplanktons im DCM zu den Zeitpunkten der *Grazing*-Experimente. Dargestellt sind die Mittelwerte aus jeweils 3 Proben als Individuen L⁻¹ von Rotatorien, Nauplien (cyclopoide und calanoide zusammengefasst), Cladoceren, cyclopoiden Copepodiden, adulten cyclopoiden Copepoden, *E. graciloides* (Copepodide und Adulte).

Bei der Filtration des DCM-Wassers über einen 64 µm Netzbecher konnte nur ein Teil des Rotatorienplanktons entfernt werden (Abbildung 3). Am 12. Juli gab es keinen signifikanten Unterschied in der Rotatorienabundanz zwischen filtrierten und unfiltrierten Proben. Am 9. und 22. August wurden 66 % bzw. 47 % entfernt. Im 4. Experiment am 5. September war die Anzahl der Rotatorien insgesamt deutlich höher als in den 3 anderen Experimenten (Abbildung 3). Da also auch in den filtrierten Kontrollansätzen Rotatorien vorhanden waren,

konnte nicht davon ausgegangen werden, dass in diesen Ansätzen kein Fraßdruck auf die mikrobielle Gemeinschaft ausgeübt wurde. Der Vergleich zwischen den filtrierten Kontrollansätzen zu Beginn und am Ende der 24-stündigen Inkubation zeigte allerdings auch, dass es nicht zu einem Wachstum der Rotatorienpopulation gekommen war. Der Vergleich zwischen Kontrollansätzen und den Copepodenansätzen ergab ebenfalls keine Unterschiede in den Abundanz der Rotatorien, sodass davon auszugehen ist, dass der Fraßdruck der Rotatorien in den Kontrollansätzen identisch mit dem Fraßdruck der Rotatorien in den Copepodenansätzen war und dass das Rotatorienplankton keinem messbaren Fraßdruck durch die Copepoden ausgesetzt war.

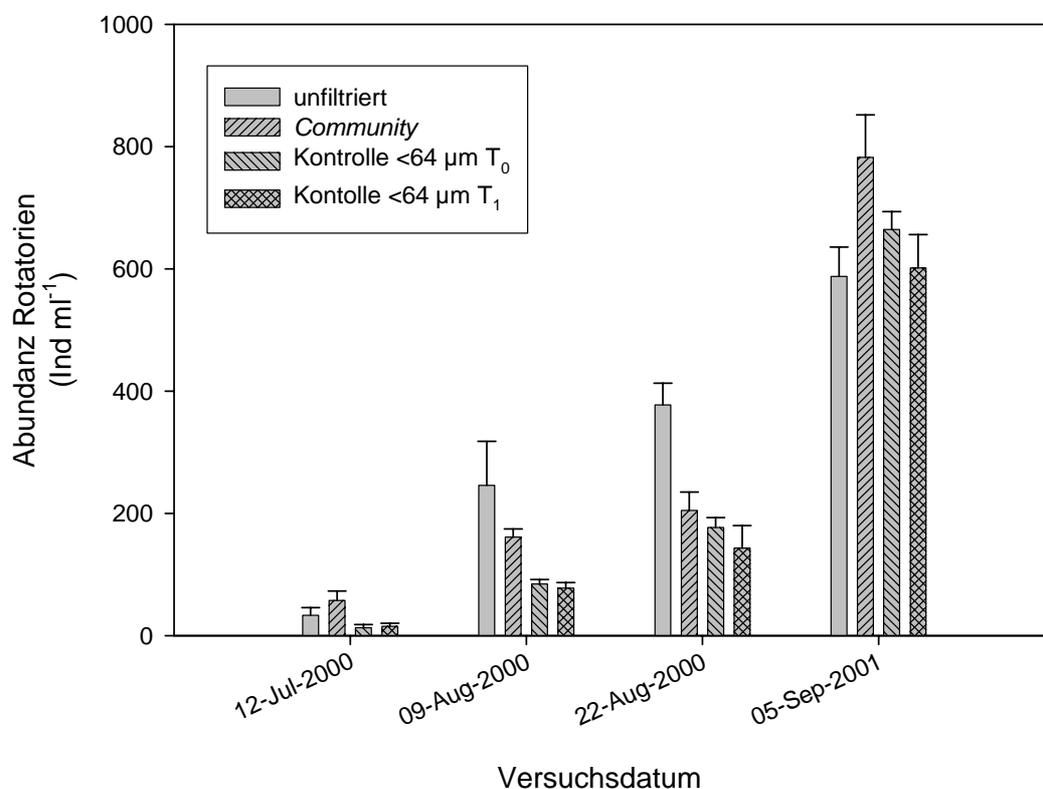


Abbildung 3

Abundanz der Rotatorien in den *in situ* Grazing-Experimenten im DCM. Dargestellt sind die Anzahl der Individuen L⁻¹ in den unfiltrierten Proben zu Beginn der Experimente = unfiltriert, in den unfiltrierten *Community*-Ansätzen nach 24 h Inkubation im DCM = *Community*, in den über 64 µm filtrierten Kontrollansätzen ohne Räuberzugabe zu Beginn der Inkubation = Kontrolle < 64 µm T₀, in den über 64µm filtrierten Kontrollansätzen ohne Räuberzugabe nach 24 h Inkubation = Kontrolle < 64 µm T₁. Die Fehlerbalken zeigen den Standardfehler aus 3 Parallelproben.

4.2.6 Probenaufbereitung

Nach der Inkubation der *Enclosures* wurden in jedem Beutel die O₂-Konzentration gemessen und Proben entnommen. Bakterien, HNF und APP wurden in 50-mL-Proben mit Formol auf eine Endkonzentration von 2 % fixiert. Unterproben von 1 und 5 mL wurden mit dem DNA-Farbstoff 4'-6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI) angefärbt und auf schwarzen Polycarbonatfiltern (25 mm Durchmesser, 0,2 µm Porengröße; Millipore®) abfiltriert (Porter & Feig 1980). Die Filter wurden auf Objektträgern unter Deckgläsern für eine spätere Auszählung unter dem Epifluoreszenzmikroskop bei -18 °C eingefroren. Bakterien wurden unter UV-Licht-Anregung nach ihrer Form als Kokken, Stäbchen und Filamenten gezählt und Größenklassen zugeordnet, um eine möglichst genaue Biovolumenabschätzung zu ermöglichen. Nach der Biovolumenabschätzung wurden die Bakterien in drei Kategorien zusammengefasst. Die erste Kategorie waren die von Jürgens (1994) als für heterotrophe Nanoflagellaten gut fressbar definierte Fraktion der Kokken ≤ 1 µm sowie Stäbchen bzw. Filamente bis 3 µm. Die zweite Kategorie bestand aus filamentösen Formen ≥ 3 µm, dazu gehörten auch Formen wie fädige Schwefelbakterien aus den Gruppen der Chloroflexaceae oder Chlorobiaceae, die bei einem Durchmesser von 2 µm, Längen bis zu 120 µm erreichten. Als dritte Kategorie der Bakterien wurden Schwefelpurpurbakterien der Gattung *Chromatium* zusammengefasst, die durch ihre Größe und Form (5 × 5 bis 6 × 20µm) im gut fressbaren Größenbereich von Copepoden lagen. Das APP wurde ebenfalls in drei Kategorien unterschieden und ausgezählt: Kokkale Zellen ≤ 2 µm, stäbchenförmige Zellen 2 µm sowie kokkale Formen 3–4 µm. Das APP wurde zusammen mit den kleinen Bakterien ausgezählt und von diesen durch ihre Eigenfluoreszenz bei einer Anregungswellenlänge von 470 nm unterschieden.

HNF, Cryptomonaden, die großen Bakterien sowie *Chromatium* wurden zusammen ebenfalls unter dem Epifluoreszenzmikroskop auf den mit DAPI angefärbten 5-mL-Filtern ausgezählt.

Im dritten Experiment am 22./23. August konnten die großen Bakterien, HNF sowie *Cryptomonas* spp. auf Grund verloren gegangener Filter nicht quantifiziert werden

Ciliaten wurden in 100-mL-Proben mit saurem Lugol fixiert und nach Utermöhl (1958) mit einem Umkehrmikroskop ausgezählt, dabei wurden Biovolumina aus gängigen geometrischen Formen abgeleitet. Die Ciliatenproben wurden von Frau Dr. Schmidt-Halewicz aus Konstanz ausgezählt und bestimmt.

Um Chlorophyll a im DCM bestimmen zu können, wurden Pigmentextrakte in Anlehnung an die in Voitke *et al.* (1994) beschriebene HPLC-Methodik quantifiziert. Dazu wurden die Wasserproben (100 mL) über Whatman® GF/F Filter filtriert. Die Filter wurden in 2-mL-Reaktionsgefäßen bei -80 °C gelagert. Anschließend erfolgte eine Gefriertrocknung der Filter.

Nach Zugabe von 1 mL N,N-Dimethylformamid als Extraktionsmittel und 0,2 mL Glasperlen (\varnothing 1 mm) pro Reaktionsgefäß wurden die Proben 30 min auf einem Vibrations-Schüttler (2000 U min^{-1}) desintegriert. Danach wurden jeweils 0,1 mL Ionenpaarreagenz (1,5 g Tetra-butylammoniumacetat + 7,7 g Ammoniumacetat in 100 mL Reinstwasser) zugegeben und erneut 30 min geschüttelt. Die Klärung der Suspension erfolgte in einer Kühlzentrifuge über 15 min bei 5000 g. Die Extraktauftrennung wurde mittels HPLC (Waters[®] HPLC-Systems) realisiert. Dabei wurde eine 30 cm lange Waters[®] Resolve nonendcapped C-18-Säule, die durch eine Vorsäule mit gleichem C-18-Material vor Partikeln geschützt war, verwendet. Die Säulentemperatur betrug während des Laufes $30 \text{ }^\circ\text{C}$. Die Trennung erfolgte bei einer Flussrate von 1 mL min^{-1} . Es wurde ein optimierter Elutionsgradient von Laufmittel A (Methanol:Acetonitril:IPR im Volumenverhältnis 45:45:10) und Laufmittel B (Acetonitril:Aceton wie 55:45) nach Woitke *et al.* (1994) eingestellt. Die Pigmente wurden bei 440 nm detektiert und anhand des Absorptionsspektrums (350–700 nm) sowie der Retentionszeit identifiziert. Die Konzentration der Pigmente wurde durch Multiplikation der Peakflächen mit stoffspezifischen Eichfaktoren (siehe Woitke *et al.* 1994) realisiert.

Die eingesetzten Räuber waren nach augenscheinlicher Prüfung der *Enclosures* am Ende der Experimente noch am Leben. Für die Auszählung des Mesozooplanktons wurden 2 L Wasser aus den *Enclosures* über $64 \mu\text{m}$ filtriert. Das so aufkonzentrierte Mesozooplankton wurde in 4 %-Endkonzentration Zuckerformol fixiert und unter dem Binokular bei 10–40facher Vergrößerung bis zur Art bestimmt und ausgezählt.

4.2.7 Umrechnung in Kohlenstoff

Alle ausgezählten Organismen bis auf die Mesozooplankter wurden über ihr bestimmtes Biovolumen in Kohlenstoffkonzentrationen umgerechnet. Für Bakterien wurde ein Umrechnungsfaktor von $121 \text{ fg C } \mu\text{m}^{-3}$ (Børsheim & Bratbak 1987) zugrunde gelegt. Das Zellvolumen des APP and der Cryptomonaden wurde mit $100 \text{ fg C } \mu\text{m}^{-3}$ (Montagnes *et al.* 1994) umgerechnet. Für HNF wurde ein Kohlenstoffgehalt von $210 \text{ fg C } \mu\text{m}^{-3}$ (Børsheim & Bratbak 1987) und für Ciliaten von $190 \text{ fg C } \mu\text{m}^{-3}$ (Putt & Stoecker 1989) angenommen. Die Chl a-Konzentration wurde über eine Korrelation von Llewellyn *et al.* (2005) für unspezifisches Phytoplankton in Kohlenstoff umgerechnet ($22,875 \mu\text{g C}/\mu\text{g Chl a}$). Dieser Korrelation liegen eine mikroskopische Bestimmung des Biovolumens von marinem Phytoplankton und dessen Umrechnung in Kohlenstoff sowie eine über HPLC bestimmte Chl a-Konzentration der gleichen Proben zugrunde Llewellyn *et al.* (2005).

4.2.8 Berechnung der Wachstumsraten

Wachstumsraten (μ) aller potentiellen Beuteorganismen in den Versuchs- und Kontrollansätzen wurden nach (Frost 1972, und Heinbokel 1978) berechnet:

$$\mu = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t_1 - t_0} \quad \text{Gleichung 13}$$

wobei N_1 = Konzentration der Organismen am Ende der Inkubationszeit
 N_0 = Konzentration der Organismen am Beginn der Inkubationszeit
 t_1 = Zeitpunkt Inkubationsende
 t_0 = Zeitpunkt Inkubationsanfang

Clearance-Raten (CR) wurden aus der Differenz der Wachstumsraten der Beuteorganismen in den Kontrollansätzen ohne Räuber und den Wachstumsraten in den Versuchsansätzen mit Räuberzugabe pro Volumeneinheit und Räuberdichte wie in Kapitel 4.1.4 beschrieben berechnet. Die Ingestionsraten wurden nach Gleichung 3 (siehe ebenfalls Kapitel 4.1.4) berechnet. Dabei ist zu beachten, dass die Ingestionsraten in den komplexen Nahrungsnetzsystemen in den *Enclosure*-Experimenten als Mortalitätsraten der jeweiligen Beuteorganismen zu interpretieren sind, die in Abhängigkeit der Räuber induziert wurden. Die Mortalität kann dabei direkt durch Ingestion durch die Räuber, indirekt durch Interferenz oder auch über die trophische Kaskade durch Räuber niedrigerer Ordnung induziert worden sein, wenn z. B. Copepoden die Anzahl der Ciliaten dezimierten, was dann zu einem Anstieg der HNF als Beute der Ciliaten führte, welche wiederum das APP dezimierten. In diesem Beispiel käme es zu einer erhöhten Mortalität des APP durch die Copepoden, die aber das APP nicht selbst ingestiert hätten.

Es wurden Filtrier- und Ingestions- bzw. Mortalitätsraten bedingt durch die jeweils eingesetzten Mesozooplankter aller potentiellen Beuteorganismen umgerechnet in Kohlenstoffeinheiten ($\mu\text{g C mL}^{-1}$) berechnet. Weiterhin wurde der prozentuale Anteil jeder Beuteorganismengruppe am Gesamtkohlenstoffumsatz aus den Mittelwerten der Ingestionsraten aus jeweils 3 Parallelansätzen berechnet.

Die Gesamtkohlenstoffkonzentration aller Phytoplankter wurde aus der Chl a-Konzentration berechnet (s. o.). Die Differenz zwischen dieser phytoplanktischen Gesamtkohlenstoffkonzentration und der Kohlenstoffkonzentration der Cryptomonaden und des APP wurde als Konzentration der Cyanobakterienfilamente (*Planktothrix clathrata*, *Pseudanabaena catenata*) gewertet, die nicht eigens ausgezählt wurden. Für die Berechnung des Anteils der Cyanobakterienfilamente an den Ingestionsraten der Mesozooplankter wurde gleichfalls die Differenz

aus den Chl a-Ingestionsraten (= Gesamtphytoplanktoningestion) und den Ingestionsraten für *Cryptomonas* spp. und APP berechnet.

4.2.9 Selektionsindex

Die berechneten Mortalitätsraten bzw. Ingestionsraten sowie die Konzentrationen aller potentiellen Beuteorganismen wurden für die Berechnung eines Selektionsindex (D) nach Jacobs (1974) verwendet.

$$D = \frac{r - p}{r + p - 2rp} \quad \text{Gleichung 14}$$

- r = relativer Anteil der Organismen ($\mu\text{g C}$), die konsumiert wurden
p = relativer Anteil der Organismen an Gesamtkohlenstoffkonzentration

Der Selektionsindex (D) nach Jacobs (1974) liegt immer zwischen +1 und -1 und ist dabei unabhängig von der Beutekonzentration. Ein Wert von $D = 0$ bedeutet, dass die Beuteorganismen proportional zu ihrer Konzentration konsumiert werden. Ein positiver D -Wert steht für eine überproportionale Konsumtion, ein negativer D -Wert dagegen für eine Vermeidung.

4.3 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit STATeasy (Dr. J. L. Lozán, Hamburg, Deutschland) sowie mit SPSS 9.0.1 (SPSS Inc.; Chicago, Illinois, USA). Für die graphische Darstellung wurde SigmaPlot (SPSS Inc.; Chicago, Illinois, USA) genutzt.

Stadiendauer, Größenwachstum und Mortalitätsraten in den Experimenten zur Copepodentwicklung sowie Eizahl, Gelegezahl, Gelegegröße, Schlupferfolg und Überlebenszeit in den Reproduktionsexperimenten wurden über einen multiplen Vergleich der Mittelwerte aus den unterschiedlichen Beuteansätzen auf Unterschiede getestet. Dafür wurde – wenn nicht anders angegeben – der F-Test bei vorherigem Test auf Normalverteilung und gleicher Varianz (Kolmogoroff-Smirnoff-Test bzw. Bartlett-Test) durchgeführt. Wenn signifikante Unterschiede gefunden wurden, wurde hier als Post-hoc Test stets der Tukey-Test mit Annahme einer 5%igen Irrtumswahrscheinlichkeit angewendet, um festzustellen zwischen welchen Behandlungen die signifikanten Unterschiede bestanden. Bei nicht erfüllter Normalverteilung oder Varianzgleichheit wurde der nichtparametrische H-Test durchgeführt, mit dem Nemeny-Test als Post-hoc Test. Wenn nicht anders angegeben, wurde stets eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,05$ angenommen.

Die artspezifischen Unterschiede der mittleren Häutungsraten von *E. gracilis*, *E. graciloides*, *C. vicinus* und *C. abyssorum* zwischen den vier unterschiedlichen Beutesuspensionsansätzen wurden mit einem F-Test für Parallelität von Regressionsgeraden getestet.

Die ermittelten Wachstumsraten in den Freilandexperimenten wurden für alle gemessenen Beuteorganismen in den Räuberansätzen mittels t-Test auf Unterschiede zu den Wachstumsraten in den Kontrollansätzen getestet. Ebenso wurden die Konzentrationen der Beuteorganismen in den Räuberansätzen mit den Konzentrationen in den Kontrollansätzen am Ende der Inkubationszeit mittels t-Test auf Unterschiede getestet. Dabei wurden sowohl Normalverteilung als auch Varianzhomogenität der Stichproben pauschal vorausgesetzt, weil eine Überprüfung dieser Voraussetzungen bei einer Stichprobengröße von $n = 3$ nicht sinnvoll war.