

1 DISKUSSION

1.1 *Räuber-Beute-Oszillationen*

Die beobachteten Schwingungsmuster sollen mit der von Lotka und Volterra aufgestellten Regel verglichen werden. Insgesamt wurden von beiden Wissenschaftlern drei Gesetze aufgestellt, die Aspekte der Populationsentwicklung unter interspezifischer Konkurrenz quantitativ formulieren. In dieser Arbeit wurde die Aussage der ersten Regel überprüft:

Erste Lotka-Volterra-Regel (periodische Schwankung der Populationen):

Die Individuenzahlen von Räuber und Beute schwanken bei ansonsten konstanten Bedingungen periodisch. Dabei folgen die Maxima der Räuberpopulation phasenverzögert denen der Beutepopulation.

Der ersten Lotka-Volterra-Regel folgend, werden unter konstanten Bedingungen endlose ungedämpfte Schwingungen erwartet. Zur Überprüfung dieser These werden im Folgenden die auftretenden Schwingungsmuster analysiert. Zunächst wird die kleine Welle dargestellt.

1.1.1 Kleine Welle

Mit dem Auftreten von kleinen Oszillationen ('kleine Welle'), die eine große Oszillation ('große Welle') konstituieren, ergibt sich die Frage, welche der Schwingungen als eigentliche Räuber-Beute-Kurve betrachtet werden sollte. Die Möglichkeit, dass zwei Schwingungsmuster zeitgleich nebeneinander auftreten, wird, obwohl noch nicht beschrieben, nicht ausgeschlossen.

Für große und kleine Welle erfolgte die Analyse der Oszillationsarten und Oszillationsfrequenzen, der zeitlichen Verschiebung zwischen Beute- und Räubermaxima, der Phasenverschiebung zwischen Räuber- und Beutemaxima und der Schwingungsdauer der Räuberoszillation nach einer vorangegangenen Beuteoszillation. Hierbei wurde bis auf Lauf 2.1. (Dauer 369h) jeweils ein Zeitraum von 822h berücksichtigt. Da theoretisch jede beobachtete Oszillation mit einer beliebigen anderen Oszillation gekoppelt oder auch eine Eigenoszillation sein kann, stand der Ausschluss von nicht gekoppelten Oszillationen im Vordergrund.

Per Definition (s.o.: *WKS-Theorem*) werden hier mindestens vier Werte benötigt, um eine Oszillation zu beschreiben. Alle Schwingungen, die dieser Definition entsprachen, wurden dahingehend überprüft, ob eine Räuber- oder Beuteeigenoszillation, synchrones Schwingen beider Populationen oder eine gekoppelte Schwingung vorlag. Gekoppelte Oszillationen (=potenzielle Räuber-Beute-Oszillationen) sollten in ihrer Anzahl den anderen auftretenden Oszillationen überlegen sein. Weicht die Zahl gekoppelter Oszillationen nicht wesentlich von der Anzahl autonomer Schwingungen der Einzelpopulationen ab, können die gekoppelten Oszillationen zufällig entstanden sein. Zufall kann für gekoppelte Oszillationen ausgeschlossen werden, wenn die Schwingungen der Räuberpopulation nahezu ausschließlich als Bestandteil gekoppelter Oszillationen vorkommen. In diesem Fall ist davon auszugehen, dass *D. discoideum* nur oszillieren kann, wenn zuvor Nahrung in erhöhter Konzentration angeboten wurde. Damit wären die Kriterien einer Räuber-Beuteschwingung erfüllt.

Oszillationsarten und -frequenzen der kleinen Welle

In Lauf 1.1. (Suspension) liegt die Zahl der *E. coli* Einzelschwingungen mit 18 Oszillationen weit über den gekoppelten Oszillationen (11). Auch die Zahl der synchronen Schwingungen (7) ist verhältnismäßig hoch. Eine klare Abgrenzung zwischen autonomen und gekoppelten Schwingungen der bakteriellen Population lässt sich nicht vornehmen. In Lauf 1.2. (Adhäsion) entwickelt sich das Verhältnis zwischen gekoppelten Oszillationen und *E. coli* Einzelschwingungen noch ungünstiger (10/25). Da in beiden Läufen keine Einzelschwingungen der Räuberpopulation auftreten, diese also nur als Bestandteil gekoppelter Schwingungen vorkommen, wurden diese als Räuber-Beuteoszillation bewertet. Ein Maximum der Räuber erfolgt nur nach vorangegangener Beuteoszillation.

Das Verhältnis von gekoppelten Oszillationen zu Einzeloszillationen weicht in den Läufen 2.1. und 2.2. zugunsten von gekoppelten Oszillationen ab (Lauf 2.1. 18/4, Lauf 2.2. 17/1). Bei dieser Verdünnungsrate treten somit überwiegend gekoppelte Oszillationen auf. In Lauf 3.2. besteht ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen

autonomen und gekoppelten Schwingungen (12/12). Auch hier treten Räuberoszillationen nur in gekoppeltem Zustand auf. (Lauf 3.1. wird hier nicht berücksichtigt, da seine Laufzeit und damit die Zahl der Schwingungen stark von den anderen Läufen abweichen).

Weiteres Indiz für die folgerichtige Interpretation der oben genannten Räuber-Beute-Oszillationen kann der Vergleich der zeitlichen Verschiebung und der Phasenverschiebung der Räubermaxima als Reaktion auf die Beutemaxima sein. Liegen die Werte der genannten Parameter dicht beieinander, bzw. verändern sie sich proportional der gewählten Verdünnungsrate, werden zufällige Ereignisse zunehmend unwahrscheinlich.

Werden die drei Läufe hinsichtlich der Zeit verglichen, die durchschnittlich vergeht, ehe einem Beutemaximum ein Räubermaximum folgt, wird dieser Anforderung entsprochen. Bis auf die Läufe 2.2. (4h 30min) und 3.1. (3h) liegt die zeitliche Verschiebung beider Maxima bei etwa 8h. Hinsichtlich der Phasenverschiebung gekoppelter Oszillationen gibt es zwischen allen drei Läufen keine relevanten Abweichungen, die darauf hindeuten würden, dass keine Räuber-Beute-Oszillationen vorliegen. Die Verschiebung liegt im Mittel bei 100° . Auch die Schwingungsdauer der Räuberpopulation nach einer Beuteoszillation schwankt zwischen den drei Läufen nur unwesentlich um einen Mittelwert von 13h. Der Vergleich der gekoppelten Oszillationen hinsichtlich der eben erwähnten Parameter zeigt keine großen Abweichungen, die auf eine Fehlinterpretation hindeuten.

Wird ausgeschlossen, dass mit der kleinen Welle ein Artefakt vorliegt, stellt sich die Frage nach dem biologischen Hintergrund dieser Beobachtung. Schwingungen, welche sich wiederum aus Schwingungen kleinerer Frequenz zusammensetzen sind in der Physik aus der Akustik bekannt. Hierbei setzt sich die Grundschwingung eines Tones aus so genannten Oberschwingungen zusammen. Die Frequenz dieser Oberschwingungen kann z.B. 2x, 4x, oder auch 6x so hoch wie die Frequenz des eigentlichen Grundtons sein und bestimmt die Klangfarbe eines Tones. Eine Analogie zum Schwingungsverhalten von Populationen drängt sich somit nicht auf. Lebewesen besitzen die Fähigkeit von sich aus auf Umweltbedingungen zu reagieren und sollten deshalb zu dem beobachteten Verhalten fähig sein. Da in vergleichbaren Arbeiten, in denen Räuber-Beute-Oszillationen zwischen *E. coli* und *D. discoideum* aufgezeichnet wurden (TSUCHIYA et al. 1972, DENT et al. 1976) die Dauer der Beuteoszillationen zwischen 60h und 72h lag, ist davon auszugehen, dass dort nur die große Welle erfasst wurde. Die Räuberoszillationen der kleinen Welle dauern im Mittel 12h und sind nur bei entsprechend kurzen Probeentnahmeintervallen analysierbar.

Zusammen mit dem Argument, dass Räuberoszillationen in allen Läufen ausschließlich in gekoppelten Oszillationen nach dem Beutemaximum auftreten, wird in dieser Arbeit davon ausgegangen, dass die kleine Welle existiert.

Einfluss der Verdünnungsrate auf das Zeitintervall zwischen Beute- und Räubermaximum (kleine Welle)

Die Zeitverschiebung bewegt sich innerhalb einer zeitlichen Spanne von 7h 6min (Lauf 1.1.) bis 8h (Lauf 2.1.). Lauf 2.2. fällt mit 4h 30 min aus ungeklärter Ursache aus dieser Spanne heraus: weder bakterielle Dichte, noch die Anzahl der Räuber oder Phasenverschiebung und Schwingungsdauer weichen von den Werten der anderen Läufe ab und könnten als Erklärung herangezogen werden.

In den Läufen in denen die Entstehung von Biofilmen zugelassen wird, ist die Reaktionszeit der Räuber auf die Beutedichte etwas länger, als in den Suspensions-Läufen. Generell können zwei Arten von Biofilmen unterschieden werden. Eine dicke Schicht von übereinander gelagerten Bakterien, die mit dem bloßen Auge sichtbar ist und eine Monolayerschicht, die nur unter dem Mikroskop zu erkennen ist (MUNSON 1970, MUNSON & BRIDGES 1964, RATMAN 1982).

In dieser Arbeit wurden unter normalen Bedingungen lediglich Monolayerschichten beobachtet. Diese Schichten entwickelten sich aber zu dicken, mit dem Auge gut sichtbaren Multilayerschichten, wenn die Temperatur der Kultur am Ende des Experiments auf 37°C erhöht wurde (Abbildung 37).



Abb.37: Entwicklung eines sichtbaren Biofilms nach 6d bei 37°C

Bei dieser Temperatur ist ein Überleben der Zellen nicht mehr wahrscheinlich, da über 26°C bei *D. discoideum* kein Wachstum mehr möglich ist. Wenn sich nach dem Absterben der Räuber Biofilme entwickeln, die vorher nicht sichtbar waren, ist davon auszugehen, dass *D. discoideum* die Entstehung dickerer Bakterien-schichten an den Reaktoroberflächen zuvor verhindert hatte. Sowohl für Räuber als auch für die Beute ist es ein Vorteil, wenn sie durch Besiedlung der Oberfläche nicht mehr von dem

Auswaschen aus dem Reaktor bedroht sind. Die Koexistenz von Räuber und Beute auf engem Raum führt für den Räuber neben der Begegnung beider Organismen in Suspension zu einer weiteren Möglichkeit die bakterielle Beute zu reduzieren. Die der Analytik zugänglichen Organismen sind immer nur die in Suspension lebenden, oder die von der Reaktoroberfläche in die Suspension abgegebenen Zellen. Eine mögliche Ursache für die leichte Verzögerung der Räuberreaktion auf den Beuteanstieg kann darin bestehen, dass der Anteil der in Suspension lebenden Räuber geringer ist, als in den Suspensions-Läufen. Die Gesamtzahl der Räuber ist vermutlich konstant, nur die analytisch zugänglichen Organismen in Suspension nehmen bei Biofilmexperimenten zugunsten der verdünnungsresistenten Varianten ab. Die Reaktion auf ein analytisch zugängliches Beutemaximum kann nur von Räufern ausgehen, die in Suspension leben, da die bakterielle Zellzahl pro cm^2 in Abhängigkeit von Bakterium und Oberflächenmaterial konstant ist (LARSEN & DIMMICK 1964). Als Folge stehen weniger Räuber zur Verfügung, um ein eigenes Maximum auszulösen und es vergeht mehr Zeit bis ein sichtbares Maximum erreicht ist, als in Läufen, in denen sich alle Räuber ausschließlich in Suspension befinden.

Einfluss der Verdünnungsrate auf die Phasenverschiebung zwischen Beute- und Räuberoszillationen (kleine Welle)

Die Phasenverschiebung von Beute- und Räuberoszillationen liegt in einer Spanne von 90° (Lauf 3.1.) bis $118,64^\circ$ (Lauf 1.1.) um einen Mittelwert von $100,3^\circ$. Bei höchster und geringster Verdünnungsrate werden die größten Spreizungen zwischen Suspensions- und Adhäsionsläufen hervorgerufen. Hierbei unterscheidet sich Lauf 3 von den beiden anderen Läufen, da in diesem Lauf die Phasenverschiebung im Suspensions-Lauf größer ist, als im Adhäsions-Lauf. Wie bei der zeitlichen Verschiebung der Maxima (s.o.) muss auch hier gefordert werden, dass die Phasenverschiebung in den Adhäsions-Läufen größer ist als in den Suspensions-Läufen. Mit einer verlangsamten Reaktion der Räuber sollten auch die Oszillationskurven weiter auseinander liegen. Diese Forderung erfüllen die Läufe 2 und 3.

Einfluss der Verdünnungsrate auf die Schwingungsdauer von Räuberoszillationen (kleine Welle)

Die Dauer der Räuberoszillationen schwankten von minimal 10h 30min und maximal 15h 30min um einen Mittelwert von 13h. Unterschiede zwischen Suspensions- und Adhäsionsläufen sind marginal, lediglich Lauf 3 fällt durch eine Differenz (3h 30min) zwischen Suspensions-Lauf und Adhäsions-Lauf auf. Die wesentliche geringere Dauer von Lauf 3.1. ist zu vernachlässigen, da in diesem Lauf nur eine Schwingung auftrat und diese somit schlecht vergleichbar ist. Das Verhältnis von Oberflächen bewohnenden Räufern zu Räufern in Suspension sollte für die Dauer einer Oszillation keine Bedeutung haben. Haben die in Suspension lebenden Zellen erst einmal auf das vermehrte Beuteangebot reagiert, wird auch die Länge der Oszillation nur von den in Suspension lebenden Zellen bestimmt. Es besteht kein Unterschied zu der Länge der Oszillationen in Suspensions-Läufen.

Einfluss der Verdünnungsrate auf Beute- und Räuberpopulation

Die bakterielle Biomasse steigt in allen Läufen mit der Erhöhung der Verdünnungsrate an. Mit Ausnahme von Lauf 3.2. liegt die optische Dichte der Versuche, in denen die Entstehung von Biofilmen zugelassen wurde, höher als in den Experimenten ohne Biofilm. Die maximale optische Dichte von 2,32 wird im Biofilm Lauf 3.2. erreicht. Zum Vergleich: im gleichen Medium wird in einer Batch-Kultur eine optische Dichte von 2,88 erreicht. Da der Einfluss der Räuber in diesem Lauf aufgrund geringer Zellzahlen nur klein ist, kann die Differenz zur maximalen Ausbeute nur auf den Verdünnungsprozess zurückzuführen sein. Die Duldung von Biofilmen erlaubt auch residenten Populationen die Abgabe von Tochterzellen, in der Folge ist die bakterielle Ausbeute in den Biofilm Experimenten höher, als in den Versuchen in denen kein Biofilm zugelassen wurde.

Die Zellzahlen von *D. discoideum* erreichen bei mittlerer Verdünnungsrate (0,57) ihr Maximum. Sowohl bei niedrigster (0,27), als auch höchster (0,77) Verdünnungsrate erreicht *D. discoideum* nicht einmal fünfzig Prozent der maximalen Ausbeute. Nur in Lauf 2.2. liegen die Zellzahlen von *D. discoideum* höher als in den Versuchen, in denen kein Biofilm zugelassen wurde. Die mittlere Verdünnungsrate stellt ein ausgewogenes Verhältnis zwischen hohem bakteriellen Nahrungsangebot und der Verweildauer für den Räuber dar, denn *D. discoideum* ist in der Lage der Verdünnung entgegenzuwachsen. Erhöhung der Verdünnungsrate hat zwar ein besseres Nahrungsangebot zur Folge, *D. discoideum* kann dieses aber nicht mehr nutzen, da die Verweildauer im Verhältnis zur Generationszeit zu gering ist.

1.1.2 Grosse Welle

Exemplarisch für die vielen Abschnitte in denen sich die große Welle aus kleineren Räuber-Beute-Oszillationen zusammensetzt ist, zeigt Abbildung 38 den vierten Abschnitt von Lauf 1.2. (s.a. Anhang: Kleine Welle).

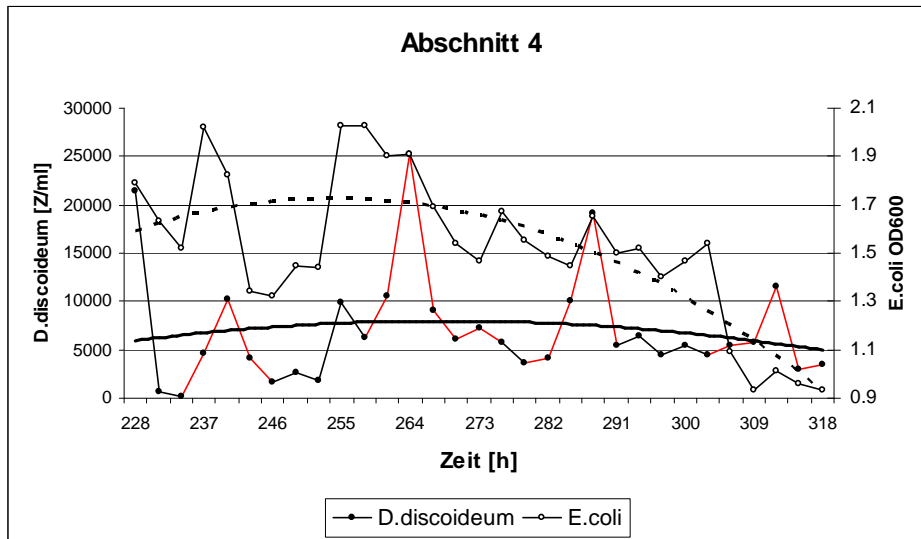


Abb.38: Kleine Welle als Bestandteil der großen Welle (gestrichelte u. durchgezogene Linien) in Abschnitt 4, Lauf 2.2.

Drei der rot markierten gekoppelten Oszillationen sind 90° phasenverschobene Räuber-Beute-Oszillationen. Die vorletzte Räuberschwingung wurde als synchrone Schwingung zur Beutepopulation beurteilt. In ihrer Tendenz ist die Beutepopulation der großen Welle schon im Sinken begriffen, während sich die Räuberpopulation auf einem abgeflachten Maximum befindet

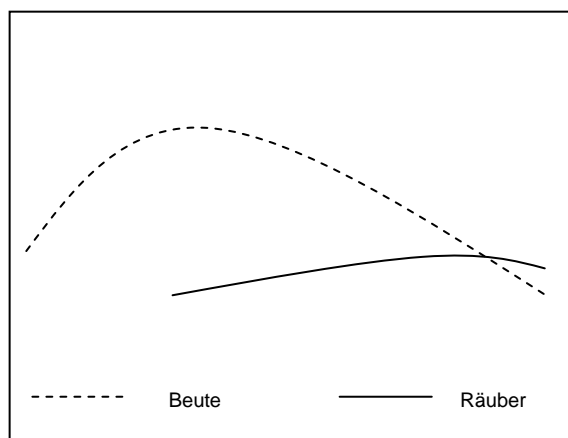


Abb.39: Darstellung der idealisierten großen Welle aus der kleinen Welle

Werden lediglich die idealisierten Kurven der kleinen Welle dargestellt (Abbildung 39), ist die große Welle leicht zu erkennen. Vereinfacht ausgedrückt, wird die Tendenz einer Population langsam zu steigen oder zu sinken, durch die große Welle ausgedrückt. Innerhalb dieser Tendenz weisen beide Populationen als kleine Welle weitere Räuber-Beute-Oszillationen auf.

Oszillationsarten und -frequenzen (große Welle)

Aufgrund der verlängerten Schwingungsdauer beider Populationen und der damit einhergehenden geringen Anzahl von Ereignissen, wird eine statistische Auswertung der großen Welle erschwert. Da sich aber jede einzelne Schwingung durch den verlängerten Zeitraum aus wesentlich mehr Werten als den geforderten vier Punkten (s.o.) zusammensetzt, ist die Interpretation der *Qualität* einer Schwingung sehr einfach.

In einem Zeitraum von 822h nimmt die Gesamtheit der Räuberoszillationen mit steigender Verdünnungsrate ab, wenn kein Biofilm vorhanden ist. Die Anzahl der Räuber-Beute-Oszillationen folgt dieser Entwicklung und nimmt ebenfalls mit Erhöhung der Verdünnungsrate ab. Der Anteil der Räuber Eigenoszillationen bleibt nahezu konstant. Da die optische Dichte der bakteriellen Beute im Mittel mit einer Erhöhung der Verdünnungsrate steigt, ist davon auszugehen, dass die Zunahme der Verdünnungsrate die Zellzahl der Räuber soweit begrenzt, dass die Entstehung von Schwingungen unwahrscheinlicher wird. Entsprechend sinkt auch der Anteil der gekoppelten Oszillationen.

Der leichte Anstieg von Räuber Eigenoszillationen bei höherer Verdünnungsrate erfolgt möglicherweise durch die Zunahme der optischen Dichte von Lauf 1.1. (OD=1,25 MW) zu Lauf 2.1. (OD=1,51 MW). Dass diese Oszillationen im Verhältnis zu den gekoppelten Schwingungen ansteigen, ist eine Beobachtung, die auch im Adhäsionslauf gemacht wird: ohne auffälligen Anstieg der Beutepopulation im Vorfeld, wird bei geringer Zellzahl von Zeit zu Zeit eine Räuber Eigenoszillation initiiert (s.u.: Lauf 1.2. Schwingungen B und C, Lauf 2.2. Schwingung F).

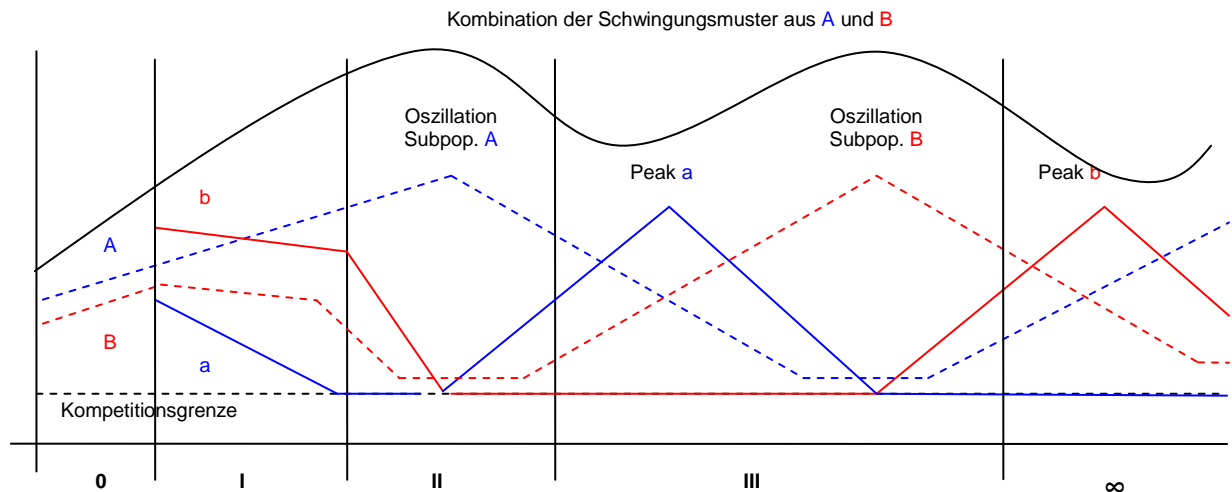
Ein weiteres Phänomen ist die Eigenoszillation der Räuber nach den ersten maximalen Auslenkungen zu Beginn der Läufe 1.1., 2.1. und 3.2. Es scheint, als ob die Räuberpopulation, wenn sie einmal eine besonders hohe Zellzahl erreicht hat, eine nachfolgende zweite Schwingung erleichtert durchführen könnte. Bei näherer Betrachtung fällt auf, dass die beschriebenen Eigenoszillationen nur dann auftreten, wenn die erste maximale Auslenkung beendet ist, sich aber bezüglich der Zellzahl noch auf hohem Niveau befindet (über 10.000 Z/ml). Eine schnell folgende Oszillation ist aufgrund der hohen Zelldichte wahrscheinlich.

Die Gesamtheit der Beuteoszillationen aller Suspensionsläufe bleibt konstant, der Anteil der Beute Eigenoszillationen steigt aber mit Erhöhung der Verdünnungsrate. Eigenschwingungen treten im Freiland bei limitiertem Nahrungsangebot infolge dichteabhängiger Regulation auf: die zunehmende Verknappung der Ressourcen bei steigender Dichte der Individuen senkt die Reproduktionsrate der Population und erhöht deren Mortalität. Nach anfänglichem Wachstum auf niedrigem Niveau sinkt die Populationsdichte und kann infolge des wieder normalisierten Nahrungsangebots wieder steigen, das System schwingt (GREENMAN et al. 2005, LAMPERT &

SOMMER 1993). Anders als in Freilanduntersuchungen gewährleistet kontinuierliche Kultivierung eine gleich bleibende Nährstoffversorgung der Organismen. Die Auswaschratesollte die Dichte der im steady-state wachsenden Organismen konstant halten und dichteabhängige Oszillationen sollten unterdrückt werden. In kontinuierlicher Kultur können die auftretenden Eigenschwingungen somit nicht durch Dichte reguliertes Wachstum erklärt werden, da sich in Abwesenheit von Konkurrenten ein Gleichgewicht zwischen Neuproduktion und Auswaschen der Bakterien, bzw. Aufzehrung und Nachlieferung des Substrats einstellen sollte. Da sowohl in Räuber-Beute-, als auch in Symbioseexperimenten dieser Arbeit Eigenschwingungen der Beutepopulation beobachtet wurden, versucht der folgende Abschnitt dieses Phänomen zu erklären (Abbildung 40):

Modell für die Entstehung von Eigenoszillationen im steady state kontinuierlicher Kulturen

Wird angenommen, dass sich in kontinuierlichen Kultur Subpopulationen entwickelt haben, die um die gleiche Ressource konkurrieren, wird sich diejenige Variante durchsetzen, welche die Konzentration einer limitierenden Ressource `a` im Medium am tiefsten herabsetzen kann. Da die erhöhte Ressourcenaffinität einen Selektionsvorteil gegenüber konkurrierenden Subpopulationen darstellt, wird diese Variante `A` die Affinität beibehalten und kein oszillatives Verhalten zeigen. Schwingungen entstehen erst, wenn in diesem System eine Subpopulation `B` existiert, welche eine erhöhte Substrataffinität zu Substrat `b` besitzt. `b` ist hierbei ein für das Wachstum von `A` essentielles Substrat. `a` ist im Gegenzug ein für Subpopulation `B` essentielles Substrat. Subpopulation `A` reduziert `a` und erreicht ein Maximum. Dieses Maximum wird durch das Vorhandensein des essentiellen Substrats `b` bestimmt. Substrat `b` wird jedoch von Subpopulation `B` besser aufgenommen, welche nun ein Maximum erreicht, da `A` infolge des Substratengpasses einem Minimum entgegenstrebt. Das Maximum von `A` wird durch das Vorhandensein von `b` bestimmt und die Zellzahl nimmt wieder ab, wenn Population `A` und Population `B` um `a` konkurrieren. Diese Konkurrenz geht aufgrund erhöhter Substrataffinität zugunsten von Subpopulation `A` aus und der Zyklus beginnt von neuem, das System schwingt.



A = Subpopulation mit erhöhter Affinität zu Substrat **a**,
B = Subpopulation mit erhöhter Affinität zu Substrat **b**,
a = Wachstum limitierendes Substrat für Subpopulation **B**,
b = Wachstum limitierendes Substrat für Subpopulation **A**.

Abb.40: Eigenoszillationen, hervorgerufen durch zwei Subpopulationen welche um zwei essentielle Ressourcen konkurrieren

Zustand 0:

Nach Inokulation wachsen zunächst **A** und **B** mit gleichen Wachstumsraten, da beide Substrate (**a**, **b**) noch in ausreichenden Konzentrationen vorhanden sind. Es treten keine Oszillationen auf, da bei ausreichender Substratkonzentration Wachstums- und Verlustrate beider Subpopulationen identisch sind.

Zustand I:

Eine der beiden bakteriellen Varianten (hier Subpopulation **A**) reduziert aufgrund seiner erhöhten Affinität Substrat **a** bis zu einer Konzentration, die auf Variante **B** limitierend wirkt, wenn die Kompetitionsgrenze (Konzentration der Substrate im Medium ist soweit herabgesetzt, dass beide Varianten um das jeweilige Substrat konkurrieren) erreicht ist. Zunächst sinkt die Dichte der Biomasse von **B** leicht ab, denn **A** nimmt während des Anstiegs mehr **a** und **b** auf als **B**. Wird Substrat **a** für das Wachstum von **B** limitierend (Kompetitionsgrenze), nimmt die Biomassendichte von **B** signifikant ab, da Subpopulation **B** die Konkurrenz um **a** zugunsten von Variante **A** verliert (**A** besitzt erhöhte Affinität zu **a**).

Zustand II:

Substrat **b** ist für Variante **A** solange verfügbar, bis Affinität von **A** zu **b** < Affinität von **B** zu **b** ist (Kompetitionsgrenze erreicht). An diesem Punkt ist das Maximum der Oszillation von Subpopulation **A** durch den Substratengpass von **b** bestimmt. **B** besitzt höhere Affinität zu **b**, in der Folge sinkt **A** ab. Durch Absinken von **A** steigt Substratkonzentration von **a**. Da die Dichte der Biomasse von Variante **B** gering ist, und da die Substrate **a** und **b** zuvor durch Subpopulation **A** stark reduziert wurden, steigt **B** erst dann an, wenn die Konzentration von Substrat **a** ausreichend ist, bzw. der Anfangskonzentration entspricht.

Zustand III:

Die Dichte der Biomasse von Variante **A** nimmt weiter ab, da die Konkurrenz um Substrat **b** zugunsten von Variante **B** ausgeht. Die Konzentration von Substrat **a** erreicht ein Maximum (**Peak a**), welchem zeitlich versetzt das Maximum von Subpopulation **B** folgt. Substrat **a** ist für Variante **B** solange verfügbar, bis Affinität von **B** zu **a** < Affinität von **A** zu **a** ist (Kompetitionsgrenze erreicht). An diesem Punkt ist das Maximum der Oszillation von Subpopulation **B** durch den Substratengpass von **a** bestimmt. **A** besitzt höhere Affinität zu **a**, in der Folge sinkt **B** ab. Durch Absinken von **B** steigt Substratkonzentration von **b**. Da die Dichte der Biomasse von Variante **A** gering ist, da die Substrate **a** und **b** zuvor durch Subpopulation **B** stark reduziert wurden, steigt **A** erst dann an, wenn die Konzentration von Substrat **b** ausreichend ist, bzw. der Anfangskonzentration entspricht.

Der Zyklus beginnt mit Zustand I von neuem (∞).

Das beschriebene System schwingt durch die Substratmaxima von **a** und **b** denen zeitversetzt die Maxima der an das entsprechende Substrat gekoppelten Subpopulationen **A** und **B** folgen. Das Maximum einer Subpopulation ist dann erreicht, wenn die Konkurrenz um das wachstumlimitierende Substrat beginnt und zugunsten der zweiten Variante mit erhöhter Affinität zu diesem Substrat ausgeht. Interpretiert man die bakteriellen Subpopulationen als Räuber, welche um die Beute (=Substrat) konkurrieren, erkennt man, dass ein mit Räuber/Beuteoszillationen vergleichbares Schwingungsmuster vorliegt. Dadurch dass für die eine Variante immer die Situation entsteht, dass ihr Maximum durch die Verfügbarkeit eines Substrats bestimmt wird, welches von der konkurrierenden Variante besser aufgenommen wird, wechseln sich die Maxima beider Subpopulationen miteinander ab.

Unabhängig von einer Substratlimitierung haben Untersuchungen an *E. coli* gezeigt, dass sich in kontinuierlicher Kultur Subpopulationen mit variierender maximalen Wachstumsrate entwickeln, die im Wechsel dominant werden und so Eigenoszillationen der Bakterienpopulation hervorrufen (ZUHAIR NUMAN et al. 1991, ASHBY & STACEY 1984). Prinzipiell werden auch im steady-state permanent Varianten positiv und negativ selektioniert und sorgen mit ihren Maxima und Minima für oszillatives Verhalten. So berichten auch HELLING et al. (1981) von unspezifischen adaptiven Mutationen, welche in kontinuierlicher Kultur Eigenschwingungen hervorrufen.

In Anwesenheit von Räubern findet demnach eine stetige Reduzierung der Beute statt, so dass keine Eigenoszillationen entstehen können. Ist die optische Dichte im Reaktor hoch genug, erzeugt die Präsenz der Räuber gekoppelte Räuber-Beute-Oszillationen. Innerhalb dieser Schwingungen ist nicht die Verfügbarkeit von Nahrung für das Beutemaximum ausschlaggebend, sondern die Anzahl der Predatoren im Verhältnis zur Beute. Entsprechend der Räuberpopulation nimmt auch die Anzahl der Beuteoszillationen in gekoppelten Oszillationen mit Anstieg der Verdünnungsrate ab. Wird die Entstehung von Biofilmen gestattet, nimmt die Gesamtzahl der Räuberoszillationen mit steigender Verdünnungsrate zu.

Der Anteil der gekoppelten Oszillationen steigt mit höherer Verdünnungsrate stark an, die Anzahl der Räuber Eigenoszillationen bleiben konstant. Biofilme führen zu einer leichten Erhöhung der Gesamtzahl der Beuteschwingungen. Der Anteil der gekoppelten Oszillationen steigt wie bei den Räubern mit höherer Verdünnungsrate stark an, die Anzahl der Beute Eigenoszillationen nimmt mit steigender Verdünnungsrate ab. Mit steigender bakterieller Dichte erhöht sich für den Räuber die Begegnungswahrscheinlichkeit und damit die Wahrscheinlichkeit der Nahrungsaufnahme. In den Adhäsions-Läufen steigt die optische Dichte von Lauf 1.1. (1,5 MW) über Lauf 2.2. (1,6 MW) bis auf einen Mittelwert von OD₆₀₀=2,3 (Lauf 3.2). Hieraus resultiert eine erhöhte Aufnahmerate, die in eine Steigerung der Wachstumsrate mündet. Im Vergleich zu den Experimenten ohne Biofilm, in denen die bakterielle Dichte mit der Verdünnungsrate ebenfalls ansteigt, unterstützt der Biofilm das Wachstum der Räuber (hierzu auch: BONOMI 1976).

Ergänzend zu dem im Vergleich höheren Nahrungsangebot, findet *D. discoideum* an den Reaktoroberflächen eine ökologische Nische, in der keine Abhängigkeit zur Verdünnungsrate besteht. Beide Vorteile bündeln sich und führen im Experiment zu einer höheren Oszillationsfrequenz als in Läufen ohne Biofilm. Das gute

Nahrungsangebot ermöglicht die steigende Anzahl von Räuber-Beute-Oszillationen zu Lasten der Frequenz der Eigenoszillationen, die konstant bleiben.

Die optische Dichte der Adhäsions-Läufe ist bei gleicher Verdünnungsrate höher als die optische Dichte in Suspensions-Läufen. Diese Beobachtung wird durch die Arbeiten von LARSEN und DIMMICK (1964) gestützt. Mit erhöhter optischer Dichte steigt für die Beute auch die Wahrscheinlichkeit zu oszillieren, denn wenn der Räuber noch im System ist, treten Räuber-Beute-Oszillationen ergänzend zu den Einzeloszillationen auf. In Lauf 1.2. wächst *D. discoideum* in vergleichsweise hoher Zahl an den Oberflächen, da die Dichte der Biomasse in Suspension nicht hoch genug ist, um ein ausreichendes Nahrungsangebot zu schaffen. Erst in Lauf 2.2. folgt der Erhöhung der Verdünnungsrate eine Anhebung der optischen Dichte von 1,5 (Lauf 1.2.) auf 1,6 (Lauf 2.2.). Die mittlere Anzahl der Räuber steigt durch diesen geringfügigen Unterschied im Nahrungsangebot von 2643 Z/ml (Lauf 1.1.) auf 18369 Z/ml (Lauf 2.2) an. Offenbar wird die Wahrscheinlichkeit für den Aufenthalt der Räuber (überwiegend Suspension oder aber Reaktoroberfläche) durch das Erreichen einer bestimmten optischen Dichte (hier: 1,6) bestimmt. Unterhalb dieser Grenze wird lediglich der Biofilm abgeweidet und Tochterzellen auch in die Suspension abgegeben. Nur zeitweise wird eine Zellmenge erreicht, die als Räuberpopulation die in Suspension lebende Beute reduzieren kann (Oszillation C, Lauf 1.2.).

Zeitintervall zwischen Beute- und Räubermaximum (große Welle)

Die Verdünnungsrate hat in den Experimenten ohne Biofilm einen geringen Einfluss auf die zeitliche Verschiebung zwischen Beute- und Räubermaximum. Mit steigender Verdünnungsrate nimmt ohne Biofilm die Reaktionsdauer der Räuber leicht zu.

Wird die Entstehung eines Biofilms zugelassen, sinkt die Reaktionsdauer der Räuberpopulation mit steigender Verdünnungsrate von 36h über 32h bis auf 24h. Mit steigender Verdünnungsrate erhöht sich die optische Dichte und damit die Anzahl der Räuber (Lauf 1 und Lauf 2). Eine große Menge von Predatoren reduziert die gleiche Menge Beutetiere schneller und wird durch Verdopplung auch schneller als Maximum sichtbar als eine kleine Menge. Somit ist das ansteigende hohe Niveau der Beutetiere indirekt für die Reaktionszeit der Räuber verantwortlich.

Im Vergleich mit den Suspensions-Läufen ist die Reaktionsdauer in Adhäsions-Läufen um etwa 10% kürzer. Der einzige Unterschied zu den Suspensions-Läufen ist wieder die höhere optische Dichte in den Untersuchungen in denen der Biofilm zugelassen wird. Wie erwähnt, muss sich die Reaktionszeit der Predatoren verlängern, wenn ihre Anzahl geringer ist, als die in den Adhäsions-Läufen. Das trifft sowohl auf die optische Dichte, als auch auf die Zahl der Räuber zu. Es vergeht somit mehr Zeit, bis ein Maximum erreicht werden kann, die Reaktionsdauer verlängert sich.

Einfluss der Verdünnungsrate auf die Phasenverschiebung zwischen Beute- und Räuberoszillationen

Die Phasenverschiebung ist in allen drei Suspensions-Läufen konstant (90°). In den Adhäsions-Läufen liegt sie im Mittel zwischen 45° und 52° . Hieraus folgt, dass die

Phasenverschiebung ohne Biofilm stets größer ist, als mit Biofilm. Werden die Phasenverschiebungen der Adhäsions-Läufe miteinander verglichen, fällt auf, dass die Phasenverschiebung in Lauf 3.2. mit der Verdünnungsrate leicht zunimmt. Ursprünglich wurde davon ausgegangen, dass eine kurze Reaktionszeit auch eine geringe Phasenverschiebung und umgekehrt eine lange Reaktionszeit eine große Phasenverschiebung hervorrufen sollte.

Werden Messfehler ausgeschlossen, lässt sich der vermeintliche Widerspruch aufklären, wenn die Steigung der Räuber- und Beuteamplituden in Lauf 3.2. betrachtet werden (Abbildung 41). Sie nimmt mit dem Anstieg der Verdünnungsrate zu und die Schwingung besitzt einen zackenförmigen Verlauf. Das Maximum wird also sehr schnell erreicht und durch die Steilheit des Anstiegs wird die Beuteoszillation kurz nach deren eigenem Maximum durchbrochen: die Phasenverschiebung ist bei kurzer Reaktionszeit gering. Beide Maxima rücken zeitlich noch dichter zusammen, wenn auch die Beutepopulation eine spitze Amplitude aufweist. Dies wird in Lauf 3.2. beobachtet, eine Beuteoszillation dauert hier lediglich 97h (zum Vergleich: in Lauf 2.2. dauert eine Beuteoszillation 198h). Ursache für diese Beobachtung ist ein gutes, mit der Verdünnungsrate steigendes Nahrungsangebot, welches das schnelle Wachstum der Räuber ermöglicht. Somit kann in dieser Arbeit von einem sanft ansteigenden Ast der Räuberamplitude auf eine eher geringe Räuberdichte und geringes Nahrungsangebot zurück geschlossen werden (Läufe ohne Biofilm). Im Umkehrschluss steht ein starker Anstieg der Räuberpopulation für eine hohe Räuberdichte bei gutem Nahrungsangebot (Läufe mit Biofilm).

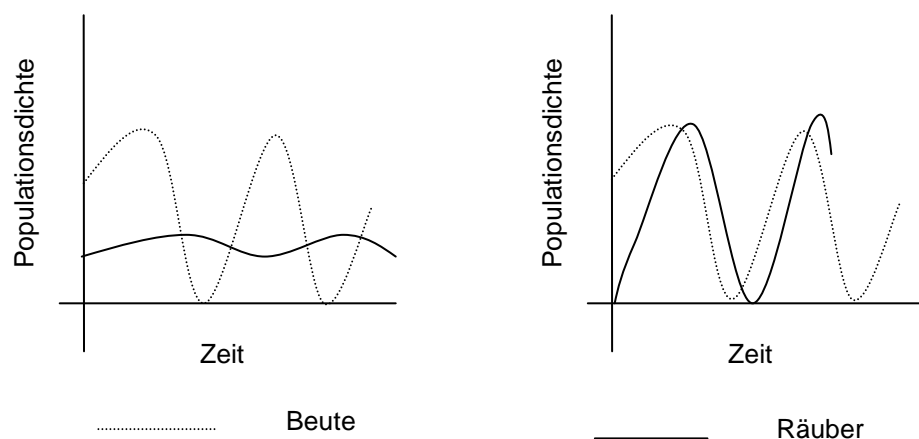


Abb.41: Zusammenhang zwischen Reaktionsdauer und Phasenverschiebung der Beute- und Räubermaxima bei niedriger Räuberdichte (links) und hoher Räuberdichte (rechts, s.a. Text)

Einfluss der Verdünnungsrate auf die Schwingungsdauer von Räuberoszillationen

Die Dauer einer an eine Beuteschwingung gekoppelte Räuberoszillation sinkt in den Läufen ohne Biofilm mit der Erhöhung der Verdünnungsrate. Da Lauf 3.1. nur eine

Schwingung aufweist, die in die Analyse mit eingeht und die übrigen Läufe eine konstante Oszillationsdauer aufweisen, ist diese Tendenz eher fragwürdig. Da auch ohne Biofilm die optische Dichte zusammen mit der Verdünnungsrate ansteigt, sollte sich auch das Nahrungsangebot verbessern. Dem ansteigenden Nahrungsangebot steht die Verdünnung der Räuberpopulation entgegen, die keine Möglichkeit bekommen, sich an den Gefäßoberflächen anzusiedeln. Bis zu einem bestimmten Wert sollten die Räuber der Verdünnungsrate entgegen wachsen. Im Vergleich des Verhaltens der Räuber in Lauf 3.2. scheint dieser Punkt etwa bei einer optischen Dichte von 2,2 erreicht zu sein. Fällt die optische Dichte in beiden Läufen unter den erwähnten Wert, ist ein dramatischer Rückgang der Räuberpopulation zu beobachten. Mit Biofilm wird die Räuberpopulation nicht ausgewaschen, ohne Biofilm erfolgt die Extinktion nach etwa 270 Tagen. Mit Biofilm wird bei mittlerer Verdünnungsrate in Lauf 2 die höchste Schwingungsdauer gemessen (142h), die Läufe 1.2. (60h) und Lauf 3.2. (79h) erreichen ein vergleichbar hohes Niveau. Möglicherweise besteht bei mittlerer Verdünnungsrate ($D=0,57/d$) ein optimales Verhältnis zwischen gutem bakteriellem Nahrungsangebot und zu starkem Auswaschen der Räuber (vgl. Lauf 3.1.).

Abschließend kann festgestellt werden, dass die erste Regel nach Lotka und Volterra (=endlose ungedämpfte Schwingungen im idealen System) in dieser Arbeit nicht bestätigt werden konnte. Die Gleichungssysteme sollten in ihrer ursprünglichsten Form besonders dann anwendbar sein, wenn die Daten im idealen System ermittelt werden. Diesen Forderungen wird nicht entsprochen.

Unter konstanten Bedingungen kommt es in allen Läufen zur Extinktion des Räubers, welche auf Resistenzentwicklung der bakteriellen Beute zurückzuführen ist. Wird der Räuberpopulation keine Nische angeboten (Biofilm), in der sie sich vor dem Auswaschen schützen kann, folgt den *gedämpften* Schwingungen die Extinktion. Diese Beobachtung kann im Hinblick auf Vorgänge wie Algenblüten und Reinigungsleistung von Klärprozessen (CURDS, 1982; RATSACK et al. 1996, BONNET et al. 1999) von Bedeutung sein. Wird der Räuberpopulation diese Nische gewährt, bewächst *D. discoideum* die Kulturgefäßoberflächen und ernährt sich hier von lebendem und totem Zellmaterial. Entsprechend dem bakteriellen Nahrungsangebot kommt es zu den von Lotka und Volterra geforderten ungedämpften Schwingungen. Die Frequenz der Räuberoszillationen ist am höchsten, wenn die größte bakterielle Dichte vorliegt (Lauf 3.2.). Die Zellzahl der Räuber, die das Maximum dieser Schwingungen ausmacht, nimmt mit Steigerung der Verdünnungsrate ab.

Interessanterweise spiegeln die Lotka-Volterra-Gleichungen das Schwingungsverhalten von Populationen wider, die während der Kultivierung eine *ökologische Nische* besetzen durften. Hieraus erklärt sich, dass die Gleichungen in Freilandversuchen (ELTON & NICHOLSON 1942) oder in Versuchen in denen unbewusst die Entstehung von Biofilmen oder anderen Nischen zugelassen wurde, realitätsnahe Ergebnisse produzieren konnten. In der Natur scheint durch die Kopplung der Räuberdichte an die Dichte der Beutepopulation die direkte Auslöschung einer Art durch eine zweite unmöglich zu sein, da sich immer Nischen anbieten, aus der von Zeit zu Zeit wieder neue Beute- und Räuberpopulationen hervorgehen. So zeigt Lauf 3.2. mit der hohen Verdünnungsrate von $0,77/d$, dass der Räuber im System bleibt, auch wenn ein großer Teil der Population in Suspension

permanent ausgewaschen wird, wie es in Lauf 3.1. ohne Biofilm zu beobachten ist. Die absolute Ausrottung von Tierarten scheint Räubern vorbehalten zu sein, die in der Lage sind, die Rückzugsgebiete und Nischen der Beute aufzufinden und die in der Ernährung nicht ausschließlich auf diese eine Art spezialisiert sind. Auf eine Nahrungsquelle spezialisierte Räuberpopulationen, die das eben geschilderte Verhalten aufweisen, würden sich in kürzester Zeit selbst auslöschen.

Aufgrund der Ergebnisse muss weiterhin daran gezweifelt werden, dass die Räuberpopulation in dieser Arbeit das Schwingungsmuster der Beutepopulation bestimmt. Das wird von Lotka und Volterra vorausgesetzt. Vielmehr werden in allen Experimenten bakterielle Eigenoszillationen beobachtet, die vermutlich auf Konkurrenz von bakteriellen Subpopulationen um wachstumslimitierende Substrate zurückzuführen sind. Predation reduziert die Beute zwar dahingehend, dass die *Amplitude* einer Beuteoszillation verändert wird, dies hat aber auf deren *Frequenz* keinen Einfluss. Beweis hierfür sind die Beuteoszillationen, die *nach* Extinktion des Predators als Eigenoszillation auftreten.

1.2 Experimentelle Symbiose

Im Untersuchungszeitraum wurde keine Form der Symbiose beobachtet.

Oszillationsverhalten von *E.coli* und *D. discoideum* in Medien mit variierender Schwefel- und Stickstoffzusammensetzung

Verglichen werden die auftretenden Schwingungen von Räuber- und Beutepopulationen in Medium ohne Schwefel (AB-Medium) und in Medium ohne Schwefel und Stickstoff (J-Medium). Da die Kulturapparatur, die AB-Medium als Nährmedium verwendete, später in Betrieb genommen wurde, als die Anlage die mit J-Medium ausgestattet war, ist der Vergleich auf 276 Tage begrenzt worden (=Laufzeit der AB-Anlage). Beide Anlagen sind im April 2006 noch immer in Betrieb, die Kulturapparatur, die mit J-Medium versorgt wird, weist zu diesem Zeitpunkt eine Betriebsdauer von 504 Tagen auf.

LENSKI und TRAVISANO berichteten 1994 von einer kontinuierlichen Kultur mit einer Laufzeit von zehn Jahren. Da diese Kultur als serielle Kultur durchgeführt wurde, also kleine Volumina der `alten` Kultur in frisches Nährmedium überimpft wurden, kam es im Rhythmus der Inokuli zu permanenten Unterbrechungen der Schwingungen der kultivierten Organismen. Im Abgleich mit der Literatur ist festzustellen, dass Oszillationen einer Kokultur in dieser Arbeit erstmalig über einen derartig langen Zeitraum durchgeführt und beobachtet werden konnten.

Vergleicht man die beiden entstandenen Kurven (Abbildungen 42 und 43), dann zeigen beide Kurven in den ersten dreißig Tagen maximale Oszillationen, sowohl für Beute-, als auch für die Räuberpopulationen. Diese Auslenkungen sind auf die Inokulation von *D. discoideum* und das dabei mitgeführte Anzuchtmedium zurückzuführen. Da die Anzucht von *D. discoideum* in einem sehr nährstoffreichen

Medium erfolgt, gelangt mit der Inokulation ein Überschuss an Nährstoffen in den Reaktor. Die Konzentration des Substrats erhöht die Zelldichte der bakteriellen Beute und damit auch die Begegnungs- und Aufnahmewahrscheinlichkeit für den Räuber. Ergänzend stehen dem Räuber in dieser Zeit zwei Nahrungsquellen zur Verfügung: die mikrobielle Beute und das Medium in dem er zuvor kultiviert wurde. In der Folge steigen beide Populationen kurz an und normalisieren das Niveau erst wieder, wenn das überschüssige Nährmedium durch Verdünnung aus dem Reaktor gewaschen wurde.

Zu Beginn jedes Laufes durchlief die bakterielle Beute eine Adaptationsphase von drei Tagen. Erst dann wurde unter sterilen Bedingungen der Reaktor mit *D. discoideum* inokuliert. Nach den beschriebenen grossen Amplituden, zeigen AB- und J-Medium ein sehr ähnliches Schwingungsverhalten:

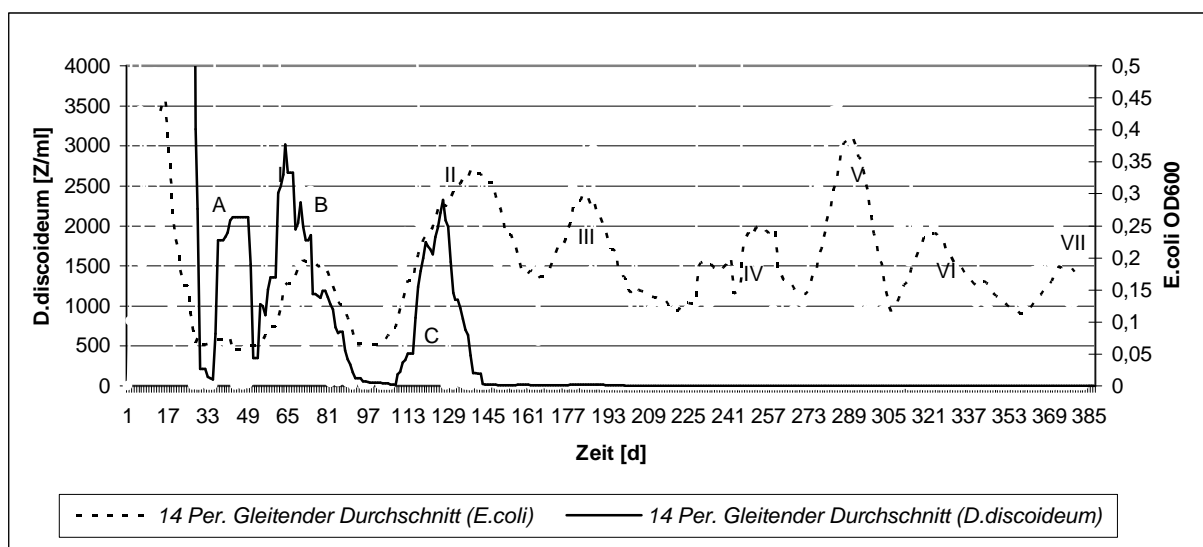


Abb.42: Schwingungsverhalten von *E.coli* und *D. discoideum* in schwefel- und stickstofffreiem Medium (J-Medium)

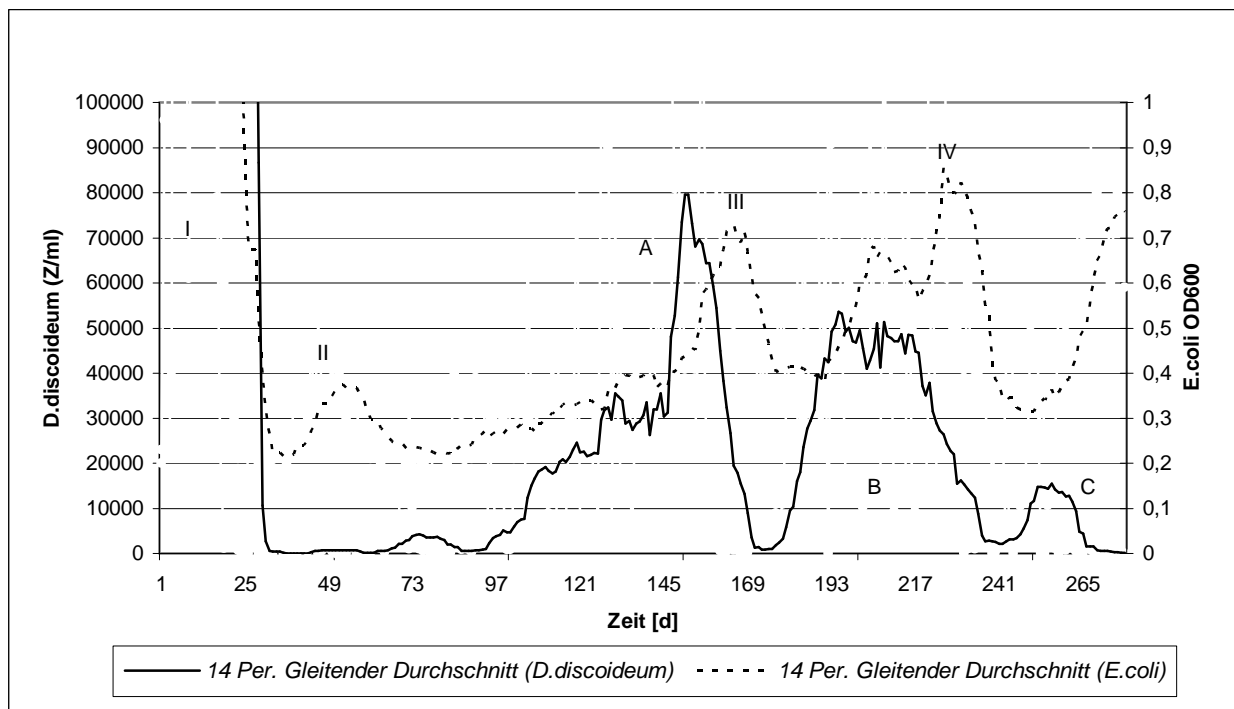


Abb.43: Schwingungsverhalten von *E. coli* und *D. discoideum* in stickstofffreiem Medium (AB-Medium)

Schwingungsdauer und –anzahl der Oszillationen von *E. coli* und *D. discoideum* in beiden Medien

Während einer Laufzeit von 276 Tagen und einer Verdünnungsrate von $D=1/d$ traten für *D. discoideum* in beiden Medien jeweils fünf Oszillationen auf. Im genannten Zeitraum zeigte *E. coli* vier Oszillationen in AB-Medium und fünf Oszillationen in J-Medium. Die Dauer der Oszillationen veränderte sich nur bei *D. discoideum*: in einem Medium in dem weder Schwefel noch Stickstoff verfügbar sind, ist die Dauer der Schwingungen der Räuberpopulation fast nur noch halb so groß (44%) wie in einem Medium, in dem Stickstoff, aber kein Schwefel enthalten ist.

Die Dauer der Oszillationen der bakteriellen Beutepopulation ist mit 42 und 43 Tagen etwa gleich lang. Die verringerte Oszillationsdauer des Räubers muss auf einen Unterschied in der Zusammensetzung des Mediums zurückzuführen sein, da alle anderen Parameter einschließlich der Dauer der Beuteoszillationen in beiden Läufen konstant sind.

Wie erwähnt, besteht der einzige Unterschied vom J-Medium zum AB-Medium im Fehlen von Schwefel und Stickstoff. Da *D. discoideum* beide Substanzen aus dem im Medium vorhandenen Methionin gewinnen kann, ist die Verkürzung der Oszillationsdauer nicht direkt auf die unterschiedliche Zusammensetzung der Medien zurückzuführen. Eine indirekte Wirkung der Zusammensetzung des Mediums auf die Räuberpopulation kann über die Beute ausgeübt werden. *D. discoideum* ist auf

bakterielle Beute angewiesen, um in den gewählten Medien überleben zu können. Um auf das bakterielle Nahrungsangebot für die Räuber schließen zu können, wurden die in beiden Medien erreichten Mittelwerte (OD600) der Bakterien miteinander verglichen. Im AB-Medium liegt die optische Dichte im Mittel bei 0,5. Im J-Medium wird lediglich ein Wert von 0,19 erreicht. Aus diesen Werten lässt sich die verkürzte Oszillationsdauer im J-Medium erklären: durch das Fehlen von Schwefel und Stickstoff erreicht *E. coli* eine wesentlich geringere Zelldichte, als wenn nur der Schwefel fehlt (in AB-Medium). Nach der Initiation einer Oszillation von *D. discoideum* in J-Medium steht der exponentiell wachsenden Räuberpopulation aufgrund der optischen Dichte eine geringere Anzahl an Beutezellen gegenüber als im AB-Medium. Die Folge ist, dass die vorhandene Beute schneller verbraucht ist, als im AB-Medium: die Dauer der Oszillation ist kürzer, als bei einem größeren Nahrungsangebot.

Geringe Beutezahlen beeinflussen auch den Faktor, um den die Räuberpopulation aus einem Minimum heraus anwachsen kann. Bakterien sind im AB-Medium so zahlreich vorhanden, dass als Räubermaximum über 90.000 Z/ml erreicht werden können. Bei geringerer optischer Dichte im J-Medium ist nur ein Anstieg auf maximal 3800 Z/ml zu beobachten.

Hieraus kann geschlossen werden, dass in diesem Experiment für die Dauer und die Höhe des Maximums einer Räuberoszillation das Verhältnis von Beuteorganismen zu Räubern ausschlaggebend ist. Das Verhältnis von Beuteorganismen zu Räubern hat aber für die Häufigkeit der initiierten Oszillationen keine Bedeutung, denn diese ist bei beiden Medien unabhängig von der variierenden optischen Dichte identisch.

Eine Ausnahme für die zweite Behauptung stellt die Situation dar, in der die Zahl phagozytierbarer Beuteorganismen nicht ausreicht, um die Räuber zu ernähren. Das kann mehrere Ursachen haben:

- a) die Begegnungshäufigkeit zwischen beiden Populationen ist zu gering, um dem Räuber die für seine Teilung notwendige Menge an Zellmaterial zuzuführen.
- b) der Räuber erkennt die Beute nicht mehr, da bakterielle Subpopulationen Resistenzstrategien entwickelt haben, die dazu führen, dass der Räuber die Beute nicht mehr phagozytieren kann.

Sollte eine Resistenz der Beute gegenüber dem Räuber eingetreten sein, stagniert die Räuberpopulation und wird aus dem System gewaschen. Da die in J-Medium kultivierte Räuberpopulation nach 180 Tagen im Reaktor nicht mehr nachzuweisen war, kann daraus geschlossen werden, dass die Zellzahl fresssensitiver Varianten pro Räuber zu gering war.

Wird das Verhalten der Beuteschwüngen betrachtet, wird eins auffällig: Beuteoszillationen beginnen erst, nachdem die Räuberpopulation zuvor ein Maximum erreicht hat. Es wird also eine Umkehr der Räuber-Beutebeziehung beobachtet: der Räuberoszillation folgt in 90° Phasenverschiebung eine Beuteoszillation. Die Zeit, die vergeht, ehe dem Räubermaximum ein Beutemaximum folgt, beträgt im AB-Medium zwischen 11 und 17 Tagen, in J-Medium 11 und 13 Tage.

Formal können Räuber-Beute-Oszillationen von ungekoppelten Schwingungen in den Abbildungen 44 und 45 folgendermaßen unterschieden werden:

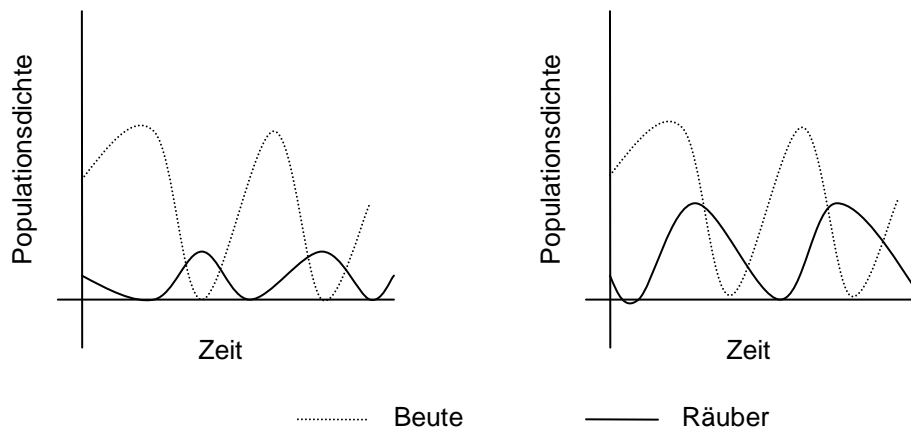


Abb.44: Phasenverschiebung ungekoppelter Oszillationen (180° /links) und Räuber-Beute-Schwingungen (90° /rechts)

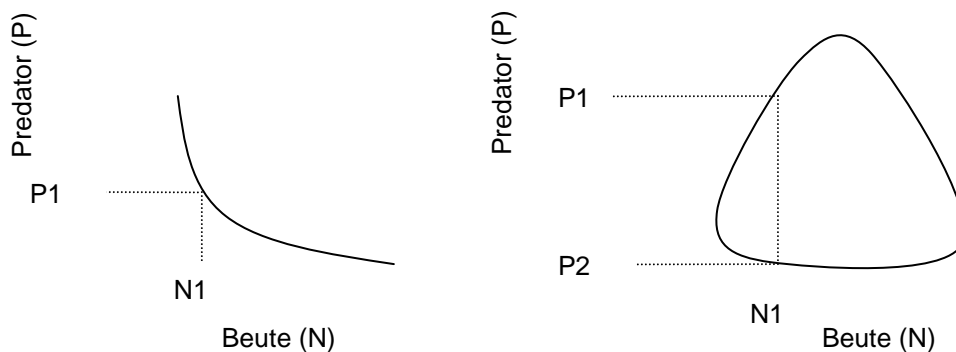


Abb.45: Darstellung der 180° (links) und 90° (rechts) Phasenverschiebung im Phasendiagramm

Wie aus obiger Abbildung hervorgeht, kann jeder Punkt einer ungekoppelten Schwingung durch nur einen bekannten Wert im Phasendiagramm definiert werden. Ist dieser Wert bekannt, erhält man durch die Kenntnis des zweiten Wertes keine zusätzliche Information ($N1/P1$). In einer typischen Räuber-Beute-Beziehung können zu jedem Zeitpunkt einem Beutewert je zwei Räuberwerte zugeordnet werden ($N1/P1, N1/P2$), die Werte müssen also auch durch zwei Gleichungen beschrieben werden. Die Beutepopulationen beider Experimente weisen genau das Phasenverschobene Verhalten auf, dass eine Räuber-Beute-Beziehung ausschließt, da sie

nur durch *eine* mathematische Gleichung beschrieben werden und somit kein zyklisches Verhalten darstellen kann. Zur Darstellung zyklischen Verhaltens werden zwei Gleichungssysteme benötigt (EDELSTEIN-KESHET, 1988).

Das Schwingungsverhalten muss dieser Definition nach andere Ursachen haben. Da die Beutemaxima in beiden Läufen immer nach etwa 11 Tagen auftreten, kann eine andere Kopplung zwischen beiden Populationen vermutet werden. Es erscheint sinnvoll anzunehmen, dass diese Kopplung in dem Regime besteht, das konstruiert wurde, um in dieser Arbeit eine experimentelle Symbiose zu erzeugen (s.a.: Einleitung: `metabolische Kopplung`). Mit jedem Anstieg der Räuberpopulation würde dann mehr Methionin umgesetzt und ein Überschuss an Schwefel und Stickstoff in das Medium abgegeben. Dieses Nährstoffangebot könnte zur Zunahme der Beutepopulation führen und somit ein positives feed-back auf die Räuber ausüben. Der Anstieg der Räuber und damit die Schwefelverfügbarkeit wiederum hängt von dem Beutevorkommen ab. Da in beiden Läufen Räubermaxima vor den Beutemaxima entstehen, ist davon auszugehen, dass *D. discoideum* zunächst die Beute so stark reduziert, dass die Bakterien zwar ansteigen, aber kein eigenes Maximum erreichen. Dieses tritt erst ein, nachdem die Zellzahl der Räuber schon wieder abnimmt. Die Beute profitiert im Anschluss von den aus Methionin freigesetzten Ressourcen und erreicht ihr Maximum etwa zehn Tage nach dem Räubermaximum. An dieser Stelle ist unklar, warum die Räuberpopulation ihr Wachstum schon einstellt, obwohl ein gutes Nahrungsangebot besteht.

Dass an diesem Punkt die Kapazität der Räuberpopulation erreicht wird, ist unwahrscheinlich, da aufgrund der ersten auftretenden großen Oszillation bekannt ist, welche Amplitude mit der zur Verfügung stehenden Nahrung erreicht werden kann. Eine Selbstlimitierung etwa durch Toxine (MATZ et al. 2004), ist ebenfalls unwahrscheinlich, da der Entwicklungszyklus sozialer Amöben in Richtung Mehrzelligkeit ausgerichtet ist und die höchste Zellzahl von 1×10^7 Zellen/ml nicht erreicht wird. Umgekehrt ist ein quorum-sensing ähnliches Verhalten auszuschließen, da *D. discoideum* innerhalb seiner Entwicklung erst aggregiert, wenn keine Nahrung mehr verfügbar ist. Dieses Phänomen ist in airlift betriebenen Reaktoren unwahrscheinlich, da die Kommunikation der Zellen untereinander vermutlich unmöglich ist. Die wahrscheinlichste Erklärung für die Abnahme der Zellmenge ist die schnelle Evolution der Beute dahingehend, dass ihre Aufnahme durch den Räuber erschwert oder unmöglich wird. Da auch andere Resistenzmechanismen der Bakterien als die Veränderung von Lipopolysaccharide (LPS) für diese Arbeit berücksichtigt werden mussten, wurden Proben der Kultur mikroskopiert. Hierbei viel auf, dass im Wesentlichen zwei Strategien von *E. coli* zum Erfolg führten, denn diese beiden Phänotypen waren bei hoher bakterieller Zellzahl in der Kultur vorhanden: Subpopulationen von *E. coli*, die sich mit hoher Geschwindigkeit fortbewegten und Subpopulationen von *E. coli*, die filamentöses Wachstum zeigen (Abbildung 46) und zur Flockenbildung neigen (Abbildung 47).



Abb.46 Filamentbildung von *E. coli* bei erhöhtem Predationsdruck (Lichtmikroskop, Vergr. x1000)

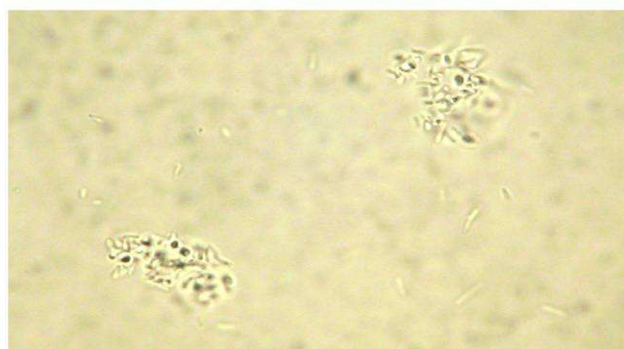


Abb.47: Flockenbildung filamentöser *E. coli* in AB-Medium bei hoher Zelldichte (Lichtmikroskop, Vergr. x1000)

Beide Phänotypen wurden in den Medien beobachtet. Durch die Strategie der vergrößerten Geschwindigkeit (etwa: $25\mu\text{m/s}$) scheinen Adaptationen positiv

selektioniert zu werden, die trotz hohem Energieaufwand für ihre Motilität eine ausreichend hohe Zellteilungsrate haben und vom Räuber nicht phagozytiert werden können. Die Begegnungshäufigkeit wird durch unkontrollierte schnelle Bewegung der Beute eher erhöht, offenbar ist aber die Phase des Aneinanderhaftens beider Organismen zu kurz, um eine Aufnahme durch den Räuber zu ermöglichen. Bakterielle Filamentbildung konnte auch in anderen Arbeiten als Reaktion auf die Anwesenheit von Predatoren beobachtet werden (GÜDE et al. 1985, JÜRGENS et al. 1995, SIME-NGANDO et al. 1991, GURIJALA und ALEXANDER 1990, HABTE und ALEXANDER 1978, GÜDE und JÜRGENS 1994, SIBBALD und ALBRIGHT 1983). Insbesondere in Klärwerken wird das Auftreten filamentöser Bakterien in Abhängigkeit von Wasserqualität und Predatoren beobachtet und zur Qualitätsbeurteilung herangezogen (GÜDE & HAIBEL 1989). Die Vorteile der Filamentbildung für die Beute liegen einerseits in einem erweiterten Bewegungsspektrum, andererseits sind längere, bzw. in Flockenform vorliegende Bakterien für den Predator schwieriger aufzunehmen.

Gleitende Bewegungen werden durch Filamentbildung zwar ermöglicht, sind aber nur auf glatten Böden (z.B. Agar) erfolgreich (COSTENBADER 1978). In Suspension dürfte diese Anpassung nicht positiv selektioniert werden. Eine Antwort auf das Nachlassen des Räuberwachstums trotz eines reichen Nahrungsangebots kann also die zunehmende Tendenz der Beute zu filamentösem Wachstum sein. Parallel werden solche Adaptationen selektioniert, die aufgrund ihrer Geschwindigkeit schwer phagozytiert werden können (MATZ und JÜRGENS 2005).

Beide Anpassungen führen zu einem Nahrungsengpass für den Predator und seine Zelldichte nimmt ab. Das umgesetzte Methionin versorgt die Bakterien noch für einen kurzen Zeitraum mit Stickstoff und Schwefel, dann nimmt auch ihre Dichte ab. Vergleicht man die Räuberoszillationen beider Medien, fällt auf, dass die Amplituden der drei Schwingungen immer kleiner werden. Die Zeit, in der die Beute vom Räuber während eines gemeinsamen Anstiegs phagozytiert werden kann, wird von der ersten bis zur dritten Oszillation immer geringer. Folgt man der eben beschriebenen These, kann das bedeuten, dass der Vorgang der Resistenzentwicklung immer schneller vollzogen wird. Es werden über einen längeren Zeitraum Subpopulationen selektioniert, deren Leistung nicht nur darin besteht, überhaupt filamentös zu werden, sondern besonders schnell eine filamentöse Form anzunehmen.

Im J-Medium oszilliert die Beutepopulation auch noch nach 180 Tagen weiter, obwohl keine Predatoren mehr im System sind. Diese Beobachtung legt die Vermutung nahe, dass auch die zuvor aufgetretenen Schwingungen nicht an die Räuberpopulationen gekoppelt sind und andere Ursachen haben müssen. Andererseits beginnen die Beuteoszillationen im AB-Medium erst, nach dem die erste Räuberschwingung ihr Maximum erreicht hat. Um Artefakte als Ursache für das beobachtete Schwingungsverhalten der Beute auszuschließen, müssen zyklische Prozesse inner- und außerhalb der Anlage berücksichtigt werden. Hierbei kommt die in 72h Intervallen durchgeführte Sterilisation der Anlage und der Wechsel der Nährmediumsflaschen in Betracht. Der Wechsel der Nährmediumsflaschen erfolgte etwa alle achtzehn Tage, pro Oszillation fanden damit vier bis fünf Wechsel statt. Eine Oszillation kann somit nicht durch Medienwechsel ausgelöst worden sein. Dass im AB-Medium anfangs keine Schwingungen auftreten, obwohl das Medium kontinuierlich gewechselt wurde, spricht ebenfalls gegen diese Hypothese. Beide

Vorgänge wurden für die AB und J-Anlage durchgeführt, es resultieren aber unterschiedliche Schwingungsmuster.

Vergleicht man die optische Dichte der Bakterienpopulation zu einem Zeitpunkt, an dem auch die Zellzahl der Räuber in beiden Anlagen gleich ist (in AB-Medium zwischen dem 30. und 80.Tag), fällt auf, dass diese in beiden Medien bei einer OD von 0,2 liegt. Es ist in diesem Zeitraum unerheblich, ob dem Medium Schwefel zugesetzt ist oder nicht, dass Wachstum wird durch die Anzahl der Räuber limitiert.

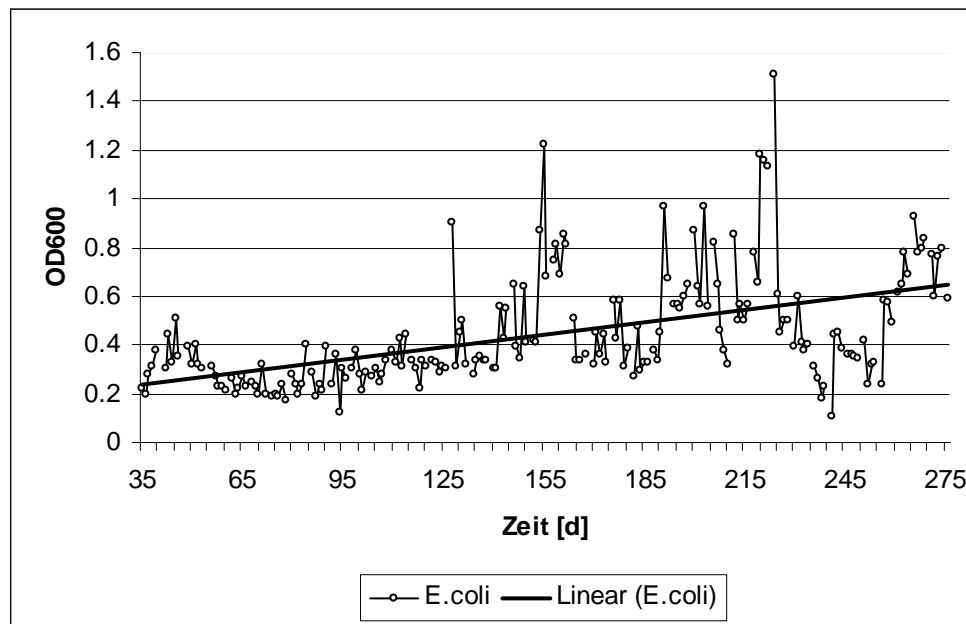


Abb.48: Entwicklung der Beutepopulation in AB-Medium

Die Bakterienpopulation in Abbildung 48 erreicht eine mittlere optische Dichte von 1,1 (Februar 2006, nicht mehr graphisch abgebildet). Die Adaptation an das Medium könnte in einer Modifikation des Schwefelstoffwechsels von *E. coli* liegen. *E. coli* nimmt Methionin generell aus dem Medium auf, um es zum Proteinaufbau weiter zu verwenden. Ursprünglich ist *E. coli* nicht in der Lage aus Methionin Cystein herzustellen, welches sie als Metabolit benötigen.

In dieser Arbeit erfolgte eine Erhöhung der bakteriellen Ausbeute nur in Medium in dem eine Stickstoffquelle enthalten ist. Demnach muss ein Stoffwechselweg vorliegen, der die Freisetzung von Schwefel aus Methionin nicht aber den Zugang zum Stickstoff aus der Aminogruppe des Methionins ermöglicht (MUTZEL et al., nicht veröffentlicht, Abbildung 49). Die Synthese von Spermidin aus einem Abkömmling des Methionins (decarboxyliertem S-Adenosylmethionin) und Putrescin nutzt den ursprünglich im Methionin enthaltenen Stickstoff. Es resultiert 5'-Thiomethyladenosin, welches weiter zu Methylmercaptan abgebaut werden kann. Methylmercaptan kann dann hydrolytisch in H₂S und Methanol umgesetzt werden, Schwefel steht z.B. zur Cysteinsynthese wieder zur Verfügung. Die einzig bisher nicht beschriebene enzymatische Umsetzung stellt der Abbau von 5'-Thiomethylribose zu Methylmercaptan dar, alle anderen Synthesewege sind bekannt (GREENE 1996).

Die Modifikation ist noch nicht so effizient, dass Werte erreicht werden, wie sie in schwefelhaltigem Medium zu erwarten wären (OD \approx 2,0). Möglicherweise nimmt *E. coli* mit hohem Energieaufwand Schwefel aus dem Methionin und baut aus diesem Schwefel wieder Cystein auf, welches dann weiter zu Methionin aufgebaut werden kann. Dieses selbst synthetisierte Methionin wird dann überflüssigerweise wieder abgebaut. Erst wenn Varianten entstanden sind, die selbst synthetisiertes Methionin nicht wieder energieaufwändig abbauen, sondern lediglich das aus dem Medium aufgenommene (Entkopplung zweier Stoffwechselwege), ist ein Wachstum deutlich über einer OD von 2,0 zu erwarten.

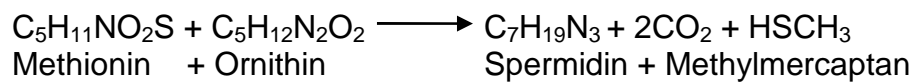
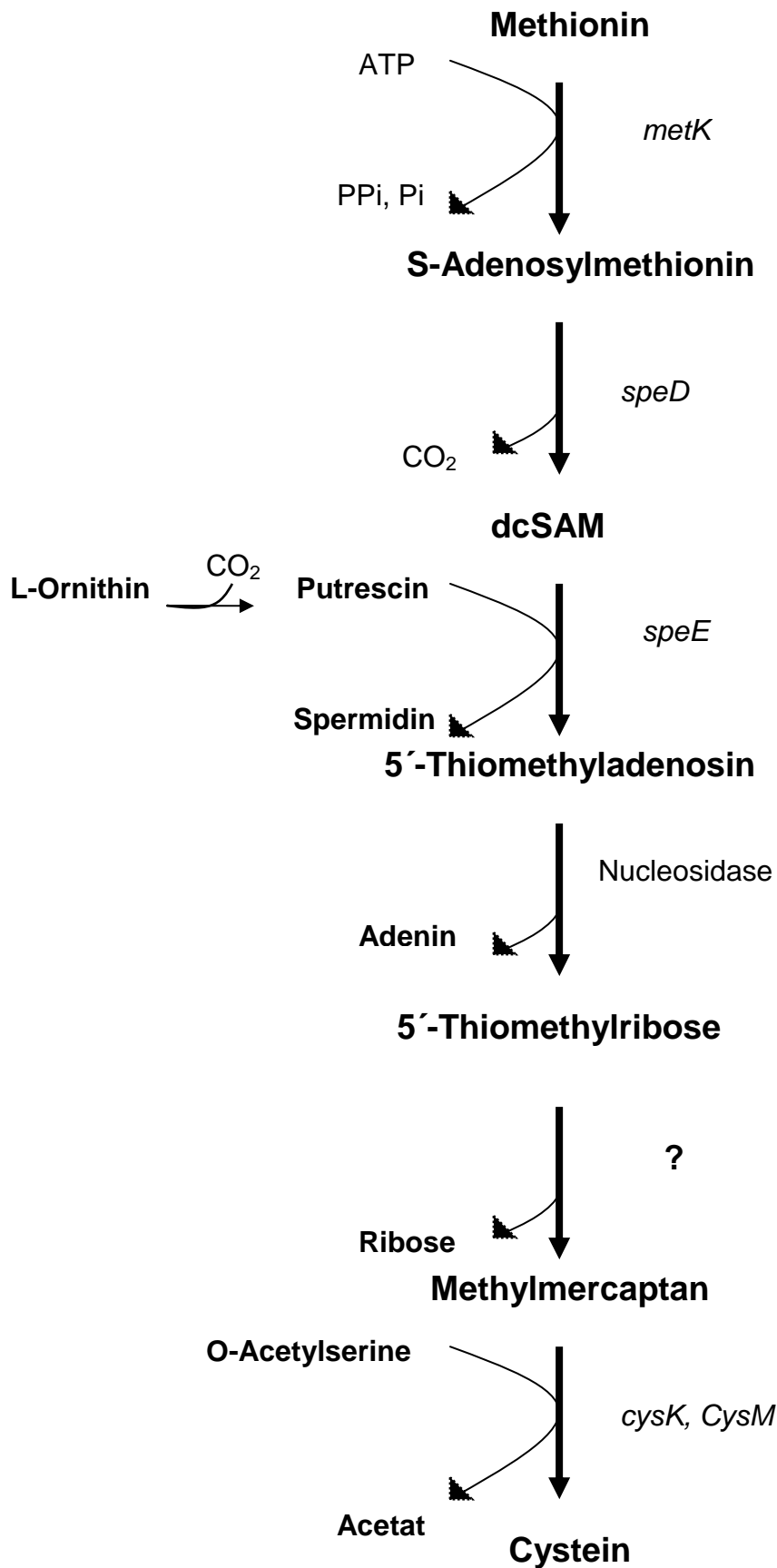


Abb.49: Stoffwechselweg zur Schwefelfreisetzung aus Methionin

Die beschriebene Modifikation im Schwefelstoffwechsel führt zu einer, für die Predatoren relevanten Beutedichte, die ausreicht, Oszillationen auszulösen. Unter dem entstehenden Fraßdruck (grazing) entwickeln die Bakterien Resistenzstrategien, die zur Abnahme der Räuberpopulation führen (Erhöhung der Motilität, filamentöses Wachstum). Die optische Dichte bakterieller Biomasse sinkt aufgrund der erworbenen Modifikation nicht wieder auf einen Wert von $OD=0,2$ ab, sondern liegt im Mittel bei eine optischen Dichte von 0,5. Diese Dichte ist ausreichend, um ein erneutes schnelles Reagieren des Räubers zu ermöglichen (der Anstieg der dritten Oszillation C ist wesentlich steiler, als die Steigung der zweiten Oszillation B). Bei gleich bleibender bakterieller Dichte, nimmt die Amplitude von der ersten bis zur dritten Schwingung ab. Ursache ist vermutlich die durch permanenten Predationsdruck hervorgerufene beschleunigte Resistenzentwicklung auf Seiten der Beute.

Kann die Resistenz so perfektioniert werden, dass der Räuber die Beute nicht mehr als Beute aufnehmen kann, stirbt er ab. Reicht die Zellmenge von Subpopulationen aus, die keine Resistenzeigenschaften aufweisen und dem Räuber als Nahrung dienen können, oszilliert das System als Kokultur weiter.

Eine Methionverwertung, die mit dem Versuch in nur schwefelfreiem Medium vergleichbar wäre, bleibt in Medium, in dem weder Schwefel noch Stickstoff enthalten ist, aus. Die optische Dichte schwankt im Mittel um 0,2. Diese Dichte ist für den Räuber nicht ausreichend, um sich länger als 180 Tage im System zu halten. Geringfügige Anpassungen an das Medium werden trotzdem beobachtet, da die optische Dichte der Bakterien im Verlauf des Experiments in Abbildung 50 leicht ansteigt

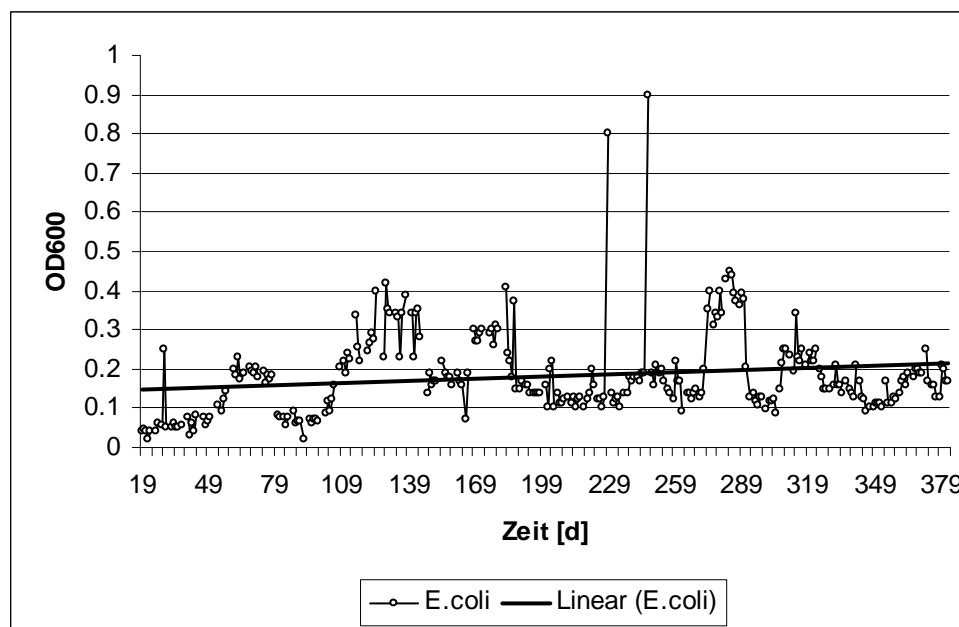


Abb.50: Entwicklung der Beutepopulation in J-Medium

Die bakteriellen Oszillationen müssen daher Eigenoszillationen sein, die eventuell noch durch die dritte (C) und vierte (D) Räuberoszillation unterstützt werden, indem dort Schwefel sezerniert wird.

1.3 Überprüfung evolvierter Stämme auf Resistenzeigenschaften

Die Einteilung in sensitive und resistente Bakterien auf Grundlage des Plaque-Tests sollte nur als Ergänzung zu dem in den Experimenten beobachteten Verhalten verstanden werden: wird in einem Versuch beobachtet, dass die Räuberpopulation ausgewaschen wird, obwohl keine Abnahme der bakteriellen Dichte erfolgt, ist davon auszugehen, dass die Beute wirksame Resistenzstrategien entwickelt hat. Diese Strategien sind eventuell nach Kryofixierung und Kultivierung auf festem Nährboden nicht mehr abrufbar.

Die Bakterienisolate der Läufe 1.1., 2.1. und 2.2. und aus J-Medium weisen identische Plaques auf, die Entwicklung von Fruchtkörpern setzt nach etwa 72h ein. Die Isolate wurden als sensitiv eingestuft: *D. discoideum* erkennt und phagozytiert die bakteriellen Populationen der genannten Versuche.

Die Größe und Anzahl der Plaques von Lauf 1.2. weist keine Abweichungen von den oben beschriebenen Läufen auf. Ein Unterschied liegt jedoch im Aussehen der Plaques: die mikroskopische Auswertung macht deutlich, dass die Plaques durch bakterielles Wachstum leicht getrübt sind. Die Phagozytose der Bakterien durch *D. discoideum* scheint nur unvollständig zu erfolgen. Es ist davon auszugehen, dass sich während des Versuches bakterielle Subpopulationen entwickelt haben, die resistent sind und die Trübung hervorrufen. Der Anteil resistenter Bakterien ist aber noch gering, da *D. discoideum* Fruchtkörper bilden kann und somit eine ausreichende Zahl von sensitiven Zellen vorhanden sein muss. Die Resistenz kann aufgrund einer Veränderung der bakteriellen Oberfläche (z.B. Lipopolysaccharide) entstanden sein. Strukturen, an denen die bakterielle Beute von *D. discoideum* erkannt wurde, sind verändert oder entfernt worden. Populationen, welche aufgrund der beschriebenen Mutationen nicht erkannt werden können, überleben und setzen sich allmählich durch. Sinkt die Zahl sensitiver Zellen unter einen Wert der nötig ist, um eine weitere Räubergeneration zu gewährleisten, kommt es zur Extinktion der Predatoren.

Fruchtkörperbildung bleibt in dem Symbiose Experiment mit Medium ohne Schwefelquelle (AB-Medium) aus. Die Plaques sind wesentlich kleiner als Plaques der anderen Versuche und es werden keine Eintrübungen beobachtet. Das Fehlen der Trübung schließt die Entstehung von sensitiven Populationsanteilen aus.

Eine Erklärung für diese Beobachtung kann die Annahme sein, dass die bakterielle Population ein Toxin produziert, welches das Wachstum von *D. discoideum* hemmt, bzw. die Phagozytose verhindert. Die Toxinproduktion kann an ein quorum-sensing-System gekoppelt sein, welches sicherstellt, dass eine ausreichende Menge Toxin produzierender Bakterien vorhanden ist, bevor es zur Sezernierung des Toxins kommt (MATZ et al. 2004). Bei *E. coli* ist mit dem Lektin *Vero-Toxin* mindestens ein Toxin bekannt, dessen toxische Wirkung auf eukaryontische Zellen mehrfach belegt wurde (u.a. CHING et al. 2002, YAMAMOTO et al. 2005). Da es nur ein geringer Zeitraum ist, in dem die für das quorum-sensing erforderliche Bakterienzellzahl

erreicht wird, kann *D. discoideum* auch nur eine geringe Zahl von Bakterien aufnehmen: das resultierende Plaque hat einen geringen Durchmesser, die Zahl der anfänglich phagozytierten Bakterien reicht nicht aus, um die Bildung von Fruchtkörpern zu ermöglichen.

Weder Fruchtkörper- noch Plaquebildung ist bei den beiden Läufen mit der geringsten Verdünnungsrate (1.1., 1.2.) zu beobachten. Den oben genannten Hypothesen folgend, besitzt die gesamte bakterielle Population keine Oberflächenstrukturen mehr, die von *D. discoideum* erkannt werden können.

1.4 Populationsentwicklungen von *E. coli* und *D. discoideum*

Im Folgenden werden die Beobachtungen über die Räuber-Beute- und Symbioseexperimente kurz zusammengefasst, um Gemeinsamkeiten und Unterschiede im Verhalten beider Populationen deutlicher zu machen.

1.4.1 Räuber-Beute-Experimente

Biofilm-Experimente

In allen Läufen in denen die Entwicklung eines Biofilms zugelassen wurde, lässt sich *D. discoideum* bis zum Ende des Versuchs nachweisen. Die Besiedlung der Kulturgefäßoberfläche durch *E. coli* und *D. discoideum* wird als ökologische Nische verstanden, in der Wachstum, unabhängig von der gewählten Verdünnungsrate, möglich ist. Die vegetativen Zellen der Räuberpopulation bewegen sich amöboid über einen aus toten und lebenden Organismen bestehenden Biofilm hinweg und phagozytieren das Zellmaterial (grazing).

Im Resistenztest (s.a.: *Überprüfung evolvierter Stämme auf Resistenzeigenschaften*) erwiesen sich alle Bakterienisolate am Ende des Experimentes als sensitiv (Ausnahme Läufe 3.1., 3.2. mit der kleinsten Verdünnungsrate). Allerdings treten auch in Läufen ohne Biofilmentwicklung anfangs Schwingungen auf, die später nicht mehr zu beobachten sind, obwohl die bakterielle Dichte mit den Ausgangsbedingungen vergleichbar ist. *D. discoideum* kann bei gleich bleibendem Nahrungsangebot die Beute nicht mehr aufnehmen. Hieraus wird gefolgert, dass in allen Läufen (mit und ohne Biofilm) von der Bakterienpopulation Resistenzstrategien realisiert werden, die mit der verwendeten Methode zur Überprüfung der Resistenz (Plaque-Test) nur bedingt nachweisbar sind.

Experimente ohne Biofilm

In allen Läufen, in denen keine Biofilme zugelassen wurden, lässt sich *D. discoideum* am Ende des Versuchs nicht mehr nachweisen. Wie oben beschrieben entwickeln die ausschließlich in Suspension kultivierten Bakterien Resistenzstrategien, die den Anteil der durch *D. discoideum* verwertbaren Zellen soweit herabsetzen, dass deren Dichte nicht mehr ausreicht, um die Räuberpopulation zu ernähren. Wird vorausgesetzt, dass nicht die Gesamtpopulation der Bakterien, sondern nur Subpopulationen resistent sind, erklärt sich das Sensitiv Ergebnis im Plaque-Test: Der geringe Anteil sensitiver Bakterien reicht im Test aus, um einen Bakterienrasen zu bilden, auf dem dann Plaques sichtbar werden. Da eine Mischung aus sensitiven und resistenten Varianten vorliegt, sollten die Plaques durch das Wachstum der

resistenten Subpopulation leicht getrübt sein. Das wird in Lauf 1.2. beobachtet. Grazing ist aufgrund ausbleibender Oberflächenbesiedlung nicht möglich, alle Zellen müssen der Verdünnungsrate entgegenwachsen. Es kommt zur Extinktion von *D.discoideum*.

1.4.2 Symbiose-Experimente

Werden die beiden Symbioseexperimente miteinander verglichen, wird festgestellt, dass *D. discoideum* in J-Medium nach 180 Tagen und in AB-Medium nach 268 Tagen nicht mehr nachzuweisen ist.

In schwefel- und stickstofffreiem Medium (J-Medium) adaptiert sich die Bakterienpopulation an geringste Mengen beider Substrate, die als Kontaminationen immer im Medium enthalten sind. Die maximale Ausbeute ist nicht hoch genug, um *D.discoideum* länger als 180 Tage im System zu halten. Zusätzlich werden auch in J-Medium die oben erwähnten Resistenzmechanismen beobachtet und die Aufnahmewahrscheinlichkeit für *D.discoideum* ist aufgrund niedriger Begegnungshäufigkeit und dem Auftreten von resistenten Subpopulationen sehr gering. In der Folge kann *D.discoideum* nicht genug Metabolite in das Medium abgeben, um die bakterielle Dichte zu erhöhen, die Räuberpopulation wird ausgewaschen.

In Medium, dem lediglich Schwefel entzogen wurde, die Stickstoffquelle aber erhalten blieb (AB-Medium), ist die Umsetzung von Methionin zu Schwefel durch *E. coli* ausreichend, um eine bakterielle Dichte zu erzeugen, die als Nahrungsgrundlage für 268 Tage dienen kann. Auch hier wurden Resistenzstrategien entwickelt, die Anzahl der sensitiven Zellen ist aber über 268 Tage ausreichend hoch, um die Räuberpopulation zu versorgen. Gegen Ende dieses Zeitraums nimmt der Anteil resistenter Bakterienpopulationen im Verhältnis zu den sensitiven Subpopulationen stark zu, die Aufnahmewahrscheinlichkeit sinkt und es kommt zur Extinktion der Räuberpopulation.

Es wird festgestellt, dass die Beuteschwingungen in beiden Experimenten auch als von *D. discoideum* unabhängig entstehende Eigenschwingungen betrachtet werden können. Die Predatoren nutzen hohe Beutedichten, bis diese Resistenzstrategien entwickeln und zu ihrem ursprünglichen Schwingungsmuster zurückkehren. Die Dichte der Räuberpopulation sinkt in Folge des verringerten Nahrungsangebots ab, der Predationsdruck auf die Beutepopulation verringert sich und der Anteil fresssensitiver bakterieller Varianten nimmt wieder zu: die Dichte der Predatoren steigt.

Das bakterielle Schwingungsmuster aller sechs Läufe und der beiden Symbioseexperimente wird durch die Räuberpopulation nur unwesentlich verändert und bleibt auch nach Extinktion der Predatoren bestehen. Es ist davon auszugehen, dass Räubermaxima zwar dem Anstieg der Beute innerhalb ihres Schwingungsmusters folgen, aber nicht ursächlich für das nachfolgende bakterielle Minimum verantwortlich sind. Schwingungen von kontinuierlich kultivierten

Beutepopulationen werden in dieser Arbeit eher durch Substratkompetition von mindestens zwei Subpopulationen hervorgerufen (s.a. Diskussion: `Große Welle`, Eigenoszillationen).

Demzufolge muss hier den Lotka-Volterra Regeln nicht nur hinsichtlich der Forderung nach ungedämpften Oszillationen, sondern generell der Existenz von gekoppelten Oszillationen klar widersprochen werden.

Somit wäre es sinnvoll, auch die in anderen Arbeiten als Räuber-Beuteschwingungen bezeichneten Zyklen daraufhin zu überprüfen, ob nicht ursächlich Eigenoszillationen der Beutepopulation vorliegen, deren Maxima von Predatoren zu eigenem Wachstum genutzt werden. Ein Beuteminimum ist dann primär Folge des sinkendes Nahrungsangebotes und nicht des Predationsdrucks. Besonders in Freilanduntersuchungen sind Eigenoszillationen der Beutetiere zu erwarten, da dichtereguliertes Wachstum der Beute aufgrund von diskontinuierlichem Nahrungsangebot wahrscheinlich ist.