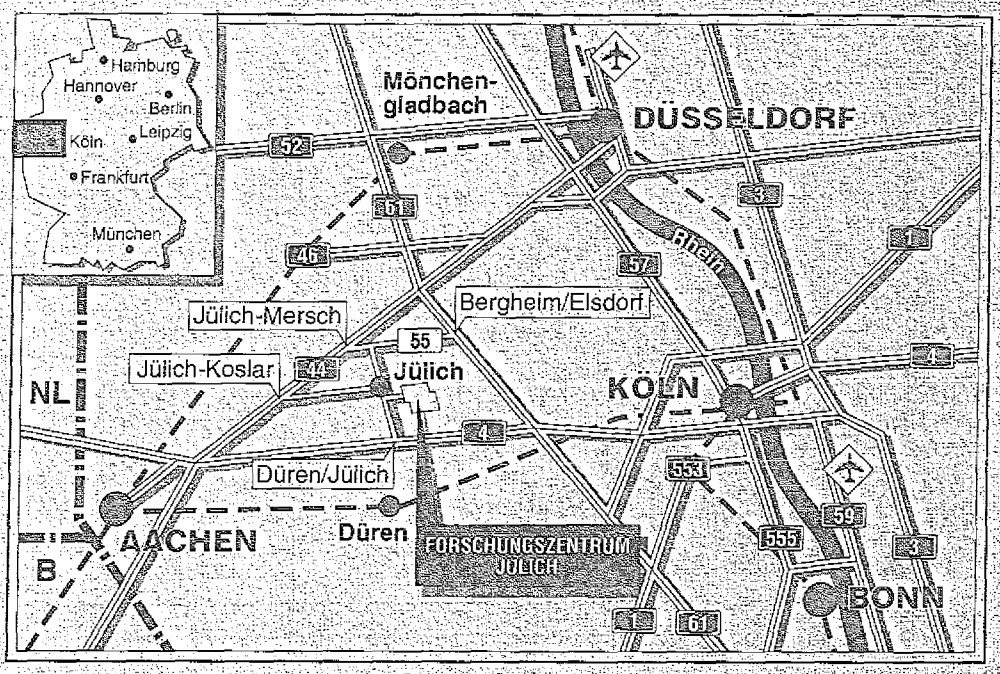
FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

Arbeitsgruppe Theoretische Ökologie

Dynamik und Persistenz eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems in Laborkulturen

Ralf Wilhelm



Berichte des Forschungszentrums Jülich ; 2835
ISSN 0944-2952
Arbeitsgruppe Theoretische Ökologie Jül-2835
D 26 (Diss. Universität Gießen)

Zu beziehen durch: Forschungszentrum Jülich GmbH · Zentralbibliothek
D-52425 Jülich · Bundesrepublik Deutschland
Telefon: 02461/61-6102 · Telefax: 02461/61-6103 · Telex: 833556-70 kfa d

Dynamik und Persistenz eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems in Laborkulturen

Ralf Wilhelm

Dynamics and Persistence of a Microbial Predator-Prey System in Laboratory Cultures

Abstract

The dynamics of microbial predator-prey systems have been studied extensively by experiments and mathematical models for more than 20 years. Confrontation of experimental results with predictions from mathematical models revealed that interactions and mechanisms that determine the population dynamics are considerably more complex than was first expected. For example a contrasting experimental result was the stability and persistence of the system in laboratory cultures where large numbers of prey coexist with large numbers of active predators.

The experiments reported in this work were undertaken using the ciliated protozoan *Tetrahymena thermophila* to represent the filter feeding predator and *Escherichia coli* as the bacterial prey source. Both were cultivated aerobically in carbon limited stationary cultures. The experiments have shown that beside the predatory interaction of these populations, carbon sources were recycled and thus bacterial growth partially compensated feeding pressure. It is suggested that these two mechanisms - predation and nutrient cycling - are sufficient to explain the stability of the predator-prey system.

Growth kinetics of the bacteria feeding upon nutrients released mainly by the ciliates were assessed. In addition, growth of the bacteria on different substrates and effects of culture techniques were analysed in detail. Later, the division and feeding kinetics of the protozoa were recorded and described as mathematical functions. This yields an astonishing result namely - the functional response of the protozoan could not be described by a hyperbolic saturation function (Holling type II) as is usually believed. *Tetrahymena* seemed to adopt its uptake rate according to changing prey density in two (or more) steps showing a sigmoidal function at low prey densities. In addition, the population density of predators negatively affects the uptake of its bacterial food. Behavioural changes of *Tetrahymena* may explain these phenomena.

The experimental results were summarized in a model of ordinary differential equations to describe the population dynamics of the system. Simulations showed that the stability of the predator-prey system mainly depends on the feeding behaviour of the predator. Nutrient cycling is less important but keeps the bacteria in a physiological active state.

A sensitivity analysis showed that the model predictions do not change qualitatively if starting conditions or parameter values were altered. Thus there is now the possibility to explain a series of experimental results from this and previous works dealing with stationary and continuous cultures and sometimes with other microbes.

This work emphasises the immense importance of adaptation and behavioural plasticity population dynamics not only of metazoan but also of microbial communities. In borderline situations especially, specific adaptation will cause more stability and coexistence of a predator and its prey as in the experiments documented here.

Inhalt

Abkürzungen

Neben einer Reihe gebräuchlicher Abkürzungen, Maßeinheiten (meist SI-Einheiten) und Symbolen für chemische Elemente wurden die folgenden Kürzel in der Arbeit verwendet:

#	Anzahl
Abb.	Abbildung(en)
Bakt.	Bakterien
CFU	Koloniebildende Einheiten, colony forming units, Lebendkeimzahl
DGL	Differentialgleichung(en)
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff, dissolved organic carbon
d.w.	Trockengewicht, dry weight
EDTA	Ethylendinitrilotetraessigsäure (Chelator)
Glc	Glucose
GOD	Glucoseoxidase
Hrsg.	Herausgeber
Lit.	Literatur(stellen)
O.D.	Optische Dichte, Extinktion
Orif.	Orifice, Kapillare (Meßtechnisches Zubehör zur elektronischen Partikelzählung)
POD	Peroxidase
RSS	Summe der Fehlerquadrate, residual sum of the squares
spez.	spezifisch(e)

Symbole

Aufgrund der Vielzahl der verwendeten Symbole wurden sie in Symbolgruppen unterteilt: Symbole für unskalierte Gleichungen mit den Orginalparametern, Symbole für skalierte Gleichungen und häufig verwendete Indices.

Symbole in unskalierten Gleichungen

a	Konstanten der Teilungskinetiken der Räuber
b	Beutepopulation -> Bakterien
b_0	(unterer) Schwellenwert der Beutepopulation -> Bakterien
b_g	(oberer) Schwellenwert der Beutepopulation -> Bakterien
c	Räuberpopulation -> Ciliaten (*auch als Index*)
c_{v0}	minimales teilungsfähiges Zellvolumen der Räuber
d	Differential; spezifische Absterberate
D	Durchflußrate
D_{krit}	Durchflußrate, die der maximal möglichen spezifischen Netto-Wachstumsrate eines Organismus in kontinuierlicher Kultur entspricht
E	Nettoertrag
f	clearence rate, spezifische Filtrationsrate der Räuber
F, F´	kinetischer Gewichtungsfaktor für den Einfluß der Räuber- bzw. Beutepopulation auf die Aufnahmerate der Beute bzw. Umsetzungsrate eines Substrates
g	spezifische Wachstumsrate
g´	spezifische Freßrate
K	Kinetische Konstante für das Wachstum der Beutepopulation
K_{app}	apparenter K-Wert bei unvollkommener Durchmischung der Kultur
$K_{äqGlc}$	Kinetische Konstante für das Wachstum der Beutepopulation in glucose-äquivalenten Mengen
K_i	kinetische Konstanten für die Hemmung der Umsetzung eines Substrates durch ein anderes
L	Kinetische Konstante für das Wachstum oder den Fraß der Räuberpopulation
m	Konstante
n	Konstante
p	Beutepopulation -> Partikel (*auch als Index*)
p_0	(unterer) Schwellenwert der Beutepopulation -> Partikel
s	Substratkonzentration
s_1	Konzentration autochthoner Substrate

s_2	Konzentration allochthonen Substrates
s_D	Zulaufsubstratkonzentration
t	Zeit
T	Zeitraum
T_h	*handling time* für Beutebegegnung
T_{hc}	*handling time* für Räuberbegegnung
T_s	Suchzeit
u	spezifische Freßrate
u_{max}	maximale spezifische Freßrate
V	Reaktorvolumen
v_i	Reaktor-interner Volumenstrom
v_o	Volumenstrom
x	eine Organismenpopulation
Y	Ausbeutekoeffizienten für Organismen (Yield)
Y_g	gemessener Yield (nach PIRT, 1975)
Z	Ausbeutekoeffizienten für autochthone Substrate
α	Anteil eines abgesuchten Habitats; Faktor der gesamten Glucoseumsetzung
α'	spezifischer (pro Beutequantum) abgesuchter Arealanteil
β	Quote der ingestierten Beute; Anteil der direkten Umsetzung von Glucose zu autochthonem Substrat
γ	spezifische Verlustrate (Lysis, Grundstoffwechsel)
Λ	Gewichtungsfaktor für den Einfluß eines Substrates auf die Umsetzung eines anderen
μ	spezifische Wachstums- oder Teilungsrate
μ_{max}	maximale spezifische Wachstums- oder Teilungsrate
μ_0	Offsetwert der spezifischen Wachstumsrate
μ_{eff}	spezifische Bruttowachstums- bzw. Bruttoteilungsraten
ζ	Gewichtungsfaktor für alternative Substrate in Wachstumskinetiken

Symbole in skalierten Gleichungen

A	Ausbeutekoeffizienten für autochthone Substrate
d	Differential; Durchflußrate
f	kinetischer Gewichtungsfaktor für den Einfluß der Räuber- bzw. Beutepopulation auf die Aufnahmerate der Beute bzw. Umsetzungrate eines Substrates
k	Kinetische Konstante für das Wachstum der Beutepopulation

k_i	kinetische Konstanten für die Hemmung der Umsetzung eines Substrates durch ein anderes
l	Kinetische Konstante für das Wachstum oder den Fraß der Räuberpopulation
p	spezifische Verlustraten
q	Konstanten der Teilungskinetiken der Räuber
r	spezifische Freßrate
r_{max}	maximale spezifische Freßrate
r_{maxy}	maximale spezifische Wachstumsrate der Beute
s_0	Basissubstratkonzentration der Skalierung
x	Räuberpopulation -> Ciliaten (*auch als Index*)
x_{v0}	minimales teilungsfähiges Zellvolumen der Räuber
y	Beutepopulation -> Partikel (*auch als Index*)
y_0	(unterer) Schwellenwert der Beutepopulation -> Partikel
z	Substratkonzentration
z_1	Konzentration autochthoner Substrate
z_2	Konzentration allochthonen Substrates
z_D	Zulaufsubstratkonzentration
α	Faktor der gesamten Glucoseumsetzung
τ	Zeit

Indices

f	bezogen auf die Freßrate
N	Anzahl
v	Zellvolumen
Nv	Biovolumen (= Anzahl ∘ Zellvolumen)
z	bezogen auf die Wachstumsrate der Beute
1,2 ...	Numerierung zur Unterscheidung verschiedener Konstanten mit prinzipiell gleicher oder ähnlicher Funktion

1 Einleitung

Diese Arbeit widmet sich der Analyse der Dynamik der Räuber-Beute-Beziehung zweier mikrobieller Organismen in Laborkulturen. Die Dynamik dieses "einfachen" Systems ist nun seit mehr als 20 Jahren Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen.

Im Rahmen dieser Einleitung soll zunächst in die Fragestellung der Arbeit eingeführt und anschließend der Bogen von den vernetzten Wechselbeziehungen der Mikroorganismen in natürlichen Ökosystemen hin zum artifiziellen Mikrokosmos der Laborkultur und seiner Analyse gespannt werden. Viele natürliche Einflüsse sind im letzteren ausgeklammert, aber dadurch wird der Blick auf die detailliertere Untersuchung bestimmter Wechselbeziehungen fokussiert, die, wieder übertragen auf komplexere Ebenen, von Bedeutung sein können.

Die Arbeit gliedert sich im weiteren in einen Teil, der das Wachstum der Beutepopulation beschreibt, analysiert und diskutiert (Kap. 3) und einen Abschnitt, der sich dem Wachstum der Räuberpopulation widmet (Kap. 4). In Kapitel 5 wird mit den experimentellen Daten und Literaturangaben ein mathematisches Modell des Räuber-Beute-Systems entworfen und analysiert. In Kapitel 6 wird eine zusammenfassende Diskussion der Ergebnisse der Arbeit geführt. Die wichtigsten Ergebnisse werden in Kapitel 7 zusammengefaßt. Die Anhangskapitel bieten zu verschiedenen Fragestellungen weitere Details und Informationen.

1.1 Arbeitsansatz

1.1.1 Fragestellung

Es wird die Dynamik eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems, bestehend aus dem Ciliaten *Tetrahymena thermophila* und dem Bakterium *Escherichia coli*, in stationären, kohlenstofflimitierten Laborkulturen untersucht. Wesentliche Mechanismen sollen durch Interaktion von Experiment und mathematischer Modellierung und Simulation identifiziert und quantitativ dargestellt werden. Es ist ein Modell des Räuber-Beute-Systems zu entwickeln, das die für wesentlich erachteten Komponenten bzw. Mechanismen berücksichtigt. Die Experimente ermöglichen es, notwendige Parameter zu quantifizieren.

Die Kapitel 1.2 bis 1.4 verdeutlichen, daß mikrobielle Räuber-Beute-Systeme Bestandteile aller Ökosysteme sind und u.U. erheblichen Einfluß auf deren Dynamik und Leistungsfähigkeit haben. Die Beschreibung der Wechselwirkungen zwischen Organismen ist selbst in definierten Laborkulturen oft nur qualitativ möglich. Nahrungsselektion, Nährstofftransfer und -recycling durch Protozoen mögen vor dem Hintergrund der giftigen Algenblüten in Meeren und Seen, der Bodenfruchtbarkeit und der Reinigungsleistung von Kläranlagen und Vorflutern bedeutende Prozesse sein, die jedoch bislang kaum quantifizierbar sind.

Laborexperimente können selektive Einsichten in Zusammenhänge von mikrobiellen Biozönosen geben. Sie sollten einen einfachen Zugang zu komplexen Systemen eröffnen. In dieser Arbeit wurde daher versucht, Experiment und mathematische Modellierung weitgehend zu parallelisieren und den Aufwand an Meßtechnik und Modellierung auf einen angemessenen Rahmen zu begrenzen.

Nicht alle zur Modellierung notwendigen Informationen konnten aus eigenen Experimenten gewonnen werden. So wurde teilweise auf Literaturangaben zurückgegriffen (s. 1.2-1.4). So ließ sich ein Modell entwickeln, das die möglichen Wechselwirkungen der Organismen und Prozesse in einer Laborkultur darstellt (Abb. 1.1).

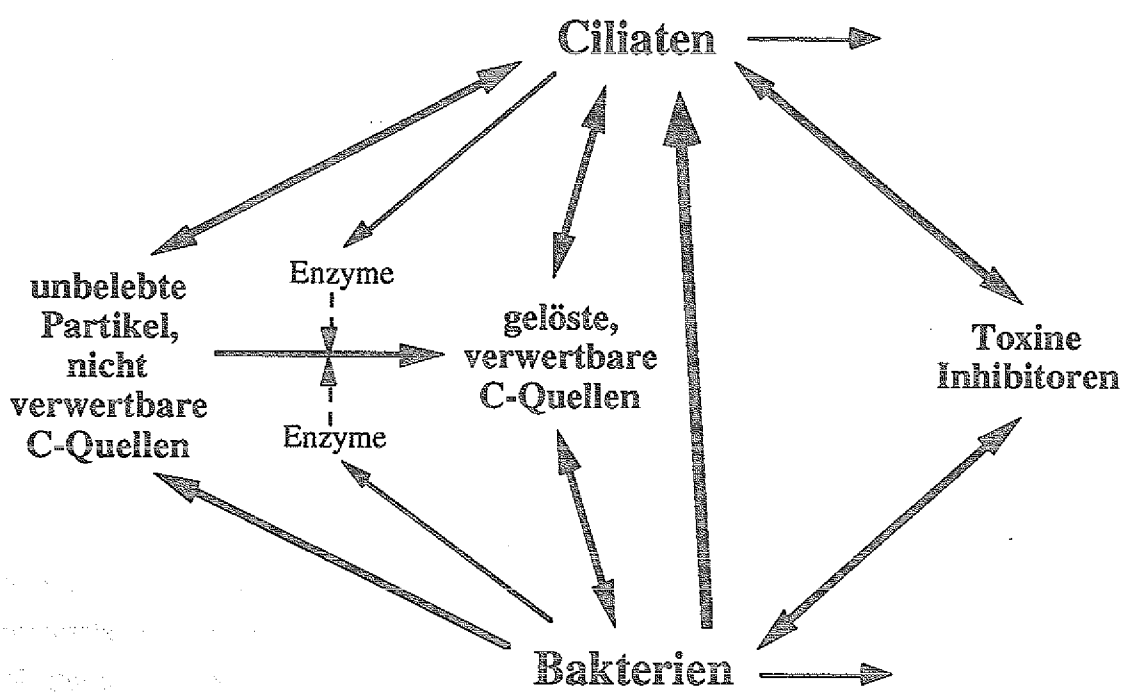


Abb. 1.1: Mögliche biogene Wechselwirkungen zwischen Ciliaten (z.B. *Tetrahymena thermophila*), Bakterien (z.B. *Escherichia coli*) und autochthonen Systemkomponenten, die die Dynamik von Laborkulturen beeinflussen können.

Wachstumslimitierende Nährstoffe (der Bakterien) waren Kohlenstoffverbindungen. Das Nährmedium wurde zu diesem Zweck optimiert (s. SAMBANIS, 1985). Es stellte ein starkes Puffersystem dar, so daß die Kulturen unbeeinflußt von pH-Wert-Schwankungen blieben.

Ausgehend von früheren Versuchen und Modellierungsansätzen zu diesem Laborsystem (s. 1.4) wurden zwei Arbeitshypothesen formuliert, die experimentell erarbeitet und im Modell bestätigt werden sollten (s.a. Anhang B):

- Die Dynamik des hier betrachteten Batch-Systems (1.3.3.3) resultiert im wesentlichen aus dem Zusammenspiel einer sigmoiden Freßkinetik (functional

response Holling Typ III, Tab. 1.4) und dem Wachstum der Bakterien auf ciliatenbürtigen Substraten (1.2.4.5)

- Zellteilungs- und Biomassewachstum müssen als inäquivalente Prozesse betrachtet und modelliert werden (HAMILTON & PRESLAN, 1976; SWIFT *et al.*, 1982; MURRAY & KIRSCHNER, 1991)

Mit diesen Arbeitshypothesen ist auch die Frage verbunden, welches Gewicht den einzelnen Systemkomponenten faktisch zukommt.

Einflüsse von Exoenzymen und unbelebten Partikeln wurden vernachlässigt. (*Exoenzyme vergrößern den Pool verfügbarer Kohlenstoffquellen (C-Quellen). Im einfachsten Fall würden sie annähernd proportional zur Organismendichte gebildet. Damit ließe sich ihr Einfluß in den Freisetzungsraten autochthoner Substrate erfassen. Unbelebte Partikel stellen einerseits ein Reservoir von Nährstoffen dar, andererseits sind sie zugleich potentielle Nahrung für Tetrahymena. SAMBANIS (1985) zeigte, daß der Einfluß der Partikel auf die Dynamik dieses Systems gering ist. Die Rolle der unbelebten Partikel als Nährstoffreservoir kann ebenfalls im kurz- und mittelfristigen Rahmen vernachlässigt werden: Rasch lösliche und verfügbare Bestandteile können direkt dem Pool gelöster, autochthoner Nährstoffe zugerechnet werden. Depoteffekte sind nur dann bedeutend, wenn die Organismen nur noch geringe Mengen an direkt verfügbaren Nährstoffen ausscheiden.*)

Die für das Wachstum der Bakterien verfügbaren C-Quellen wurden nicht direkt gemessen, da dazu eine aufwendige Nachweismethodik notwendig gewesen wäre. Sie wurden summarisch zusammen mit refraktären, gelösten organischen Verbindungen als gelöster organischer Kohlenstoff (DOC) erfaßt. Der gemessene DOC gibt also eine Obergrenze organischer C-Quellen an. Der verfügbare Anteil wurde in gesonderten Versuchen indirekt ermittelt.

Die Aufnahme gelöster organischer Verbindungen durch *Tetrahymena* ist ebenfalls meist unbedeutend (GLASER, 1984, 1988) und wurde nicht untersucht.

Das in dieser Arbeit untersuchte System hatte letztlich die in Abbildung 1.2 dargestellte Struktur. Gemäß der Arbeitshypothese enthält es die wesentlichen Systemkomponenten. Die Gegenüberstellung von Modell und Experiment ermöglicht eine Aussage, inwieweit die hypothetischen Annahmen die Dynamik von mikrobiellen Räuber-Beute-Systemen (s. 1.3.3.3, 5.4) erklären können.

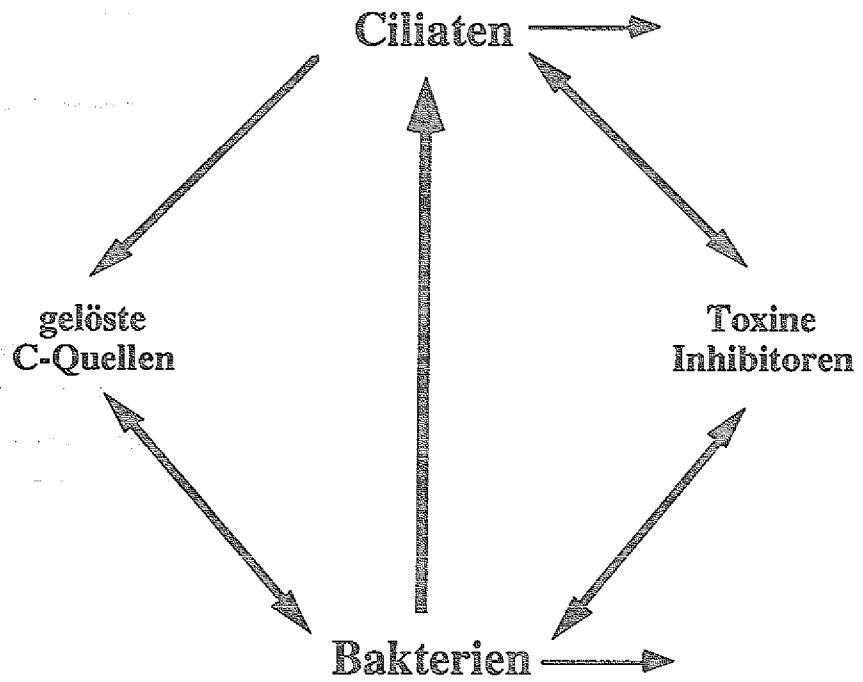


Abb. 1.2: Bedeutende Wechselbeziehungen und biogene Einflußfaktoren auf die Dynamik in der untersuchten Laborkultur.

1.1.2 Eigenschaften der eingesetzten Organismen

1.1.2.1 Tetrahymena thermophila

Tetrahymena thermophila ist als ein Vertreter der Gattung *Tetrahymena* zu sehen, wovon bereits viele Stämme untersucht wurden. Die "exakte" taxonomische Gliederung der Gattung wird noch diskutiert (ELLIOTT 1977, HARRISON & CORLISS, 1991).

Tetrahymena besitzt eine birnenförmige, jedoch variable Gestalt (s. Abb. 1.3). Eine Zelle ist ca. 30-100 µm lang (Zellvolumina von 700 μm^3 bis 65000 μm^3). Der Körper ist mit 23 Cilienreihen (Kinetiden) überzogen, die einerseits der Fortbewegung dienen, andererseits zusammen mit der Ciliatur des Mundfeldes einen Flüssigkeitsstrom zur Filtration der Nahrung erzeugen. Anterior liegt das Mundfeld mit dem etwas vertieften Cytostom-Cytopharynx-Komplex und spezialisierter Ciliatur: einer undulierenden Membran und 3 Membranellen. Vom Cytopharynx werden Nahrungsvakuolen abgeschnürt. Sie durchlaufen anschließend einen Digestitionszyklus. Unverdaute Nahrungsreste werden am Cytoproct am posterioren Ende der Zelle ausgeschieden.

Die Organellen der Zelle entsprechen denen heterotropher aerober Eukaryonten mit Golgiapparat, ER, Mitochondrien, Lysosomen, kontraktiler Vakuole usw.. Bei *Tetrahymena thermophila* tritt Kerndimorphismus auf: ein vegetativer Makronucleus und zwei generative Mikronuclei. Damit wäre neben der ungeschlechtlichen äquifazialen Zellteilung eine

Konjugation (sexueller Gentransfer) zwischen verschiedenen "Paarungstypen" möglich. In meinen Versuchen wurde jedoch der Klon eines Paarungstyps eingesetzt, und die Konjugation damit ausgeschlossen.

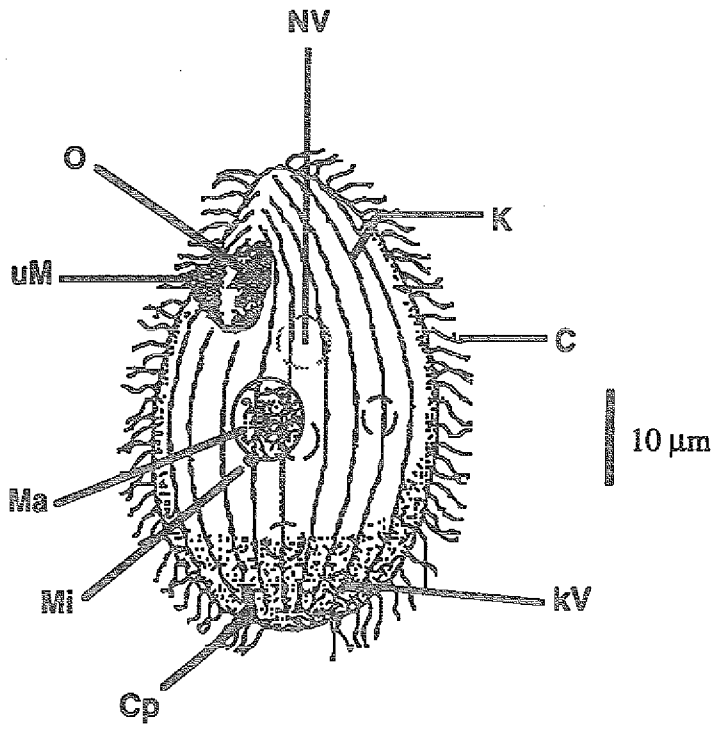


Abb. 1.3: Morphologie von *Tetrahymena* spec. *O*= Oralapparat, *uM*=undulierende Membran, *Ma*= Macronucleus, *Mi*=Mikronucleus, *Cp*=Cytoproct, *kV*=kontraktile Vakuole, *C*=Cilien, *K*=Kinetide, *NV*= Nahrungsvakuole.

Abb. 1.4: Morphologie von *Tetrahymena thermophila*. Fotografie nach Protargol-Färbung (Vergrösserung: 1250 X)

Der Lebensraum von *Tetrahymena thermophila* sind jegliche Süßgewässer, die ausreichend Nahrung bieten. Neben Bakterien und Detritus können teilweise auch gelöste Stoffe aufgenommen werden. Darüberhinaus gilt die Art als fakultativ parasitisch (z.B. in Insektenlarven).

Aufgenommene Nahrung wird in Nahrungsvakuolen eingeschlossen. Lysosomen, die Verdauungsenzyme enthalten, verschmelzen mit ihnen. Unverdaute Bestandteile, aber z.T. auch Enzyme, werden ausgeschieden (BANNO *et al.*, 1982; TIEDTKE & RASMUSSEN, 1988). Ein Digestitionszyklus dauert 1 - 2 h (NILSSON 1972, 1979), kann aber bei hohem Nahrungsangebot für einige Nahrungsvakuolen erheblich verkürzt sein (TIEDTKE, persönliche Mitteilung). Unter Hungerbedingungen bildet *Tetrahymena* selbstverdauende Vakuolen (Autophagie) und lagert Glycogen als Kohlenstoffspeicher ein. Nahrungsverknappung ist auch ein Stimulus zur Konjugation. Enzystierung wurde beim hier eingesetzten Stamm nicht beobachtet.

SWIFT *et al.* (1982) dokumentierten, daß bei Übertragung eines *Tetrahymena*-Inokulums in eine nahrungsreichere Kultur (shift up) die Zellteilung verzögert wurde. Umgekehrt wurde die Teilung beschleunigt, wenn in nahrungsarme Bedingungen überimpft wurde (shift down). In Anpassung an Umweltveränderungen oder spontan nimmt *Tetrahymena* weitreichende physiologische Umstrukturierungen und Verhaltensänderungen vor (VAN HOUTEN *et al.*, 1980; WILLE 1979; CORLISS 1953). Auch im Verlauf eines Zellteilungszyklus ändern sich physiologische Aktivitäten wie auch Schwimm- und Freßaktivität (EICHLER, 1990; HILL & HILL, 1985; ZALKINDER 1979 a/b).

(Lit.: HARRISON & CORLISS, 1991; NILSSON, 1979; ELLIOTT 1977; HILL 1972).

1.1.2.2 Escherichia coli

E.coli ist ein Gram-negatives Enterobakterium, das u.a. auch zur Darmflora des Menschen gehört. In Gewässern und Böden sind diese Bakterien i.d.R. selten zu finden, aber begrenzt überlebensfähig. Sie sind sowohl zum aeroben, als auch zum anaeroben Wachstum fähig. Die Zellen sind ca. 1 µm lang (im Versuch: Zellvolumina von 0.07 μm^3 bis 0.8 μm^3), peritrich begeißelt und gut beweglich. HELLER (1992) zeigte für das hier verwendete Kultursystem, daß ca. 10% der Population aus Zellpaaren bestehen.

Von vorrangigem Interesse ist im gegebenen Zusammenhang die Regulation von Substrataufnahme, Ab- und Umbau. Beim Nährstoffrecycling spielt es eine Rolle, welche Stoffe von Bakterien primär verwertet werden. Diauxie (das sukzessive Wachsen auf zwei Substraten) ist allgemein bekannt. Jedoch zeigt sich dieses Phänomen nicht beim Wachstum auf einem Gemisch verschiedenster Substrate in jeweils niedrigen Konzentrationen.

Die Katabolit-Repression verhindert z.B. im Falle von Glucose mit unterschiedlicher Effektivität die Nutzung anderer (energieärmerer) Substrate. Für einige Substrate gibt es zudem verschiedene, konzentrationsabhängig aktivierte Aufnahmesysteme (HARDER & DIJKHUISEN, 1988).

Beim anaeroben Wachstum, aber zwischenzeitlich auch beim Wachstum auf Glucose, scheidet *E.coli* Stoffwechselzwischenprodukte aus (NEIDHARDT, 1987). Diese Nährstofftransformation stellt gewisse Anforderungen an die pH-Regulation der Laborkulturen, denen hier mit einem starken Puffersystem entsprochen wurde. Einige *E.coli*-Stämme bilden Toxine. Diese können erheblichen Einfluß auf die Aktivität von Ciliaten haben (CURDS & VANDYKE, 1966).

Ebenso wie für *Tetrahymena* gilt auch für *E.coli*, daß ein breites physiologisches Potential zur Reaktion auf Umweltveränderungen besteht. Auch das Wachstum einer *E.coli*-Population hängt von den Vorbedingungen ab und kann in stationärer Kultur verschiedene "Wachstumsmodi" durchlaufen (CHESBRO, 1988; ANAGNOSTOPOULOS & DHAVISES, 1982; CHESBRO *et al.*, 1979). Bisher ist jedoch unklar, ob oder wann diese Phänomene Auswirkungen in Räuber-Beute-Kulturen haben.

(Lit.: NEIDHARDT, 1987; SCHLEGEL, 1985; KRIEG & HOLT, 1984).

1.2 Mikrobielle Biozönosen

Artenreiche mikrobielle Biozönosen finden sich in vielen aquatischen und terrestrischen Ökosystemen; die Luft ist zumindest Transportweg für Sporen, Pilze und Bakterien (CAMPBELL, 1980). Die Betrachtung mikrobieller Wechselbeziehungen als einfache Freßkette mußte in den letzten Jahren Vorstellungen von komplexen Netzwerken weichen (SHERR & SHERR, 1991). Diese sind wiederum die Basis noch komplexerer Systeme der Interaktion mit höheren Organismen. Qualitative Darstellungen der damit verbundenen Stoffflüsse in Ökosystemen finden sich in vielerlei Quellen (GISI, 1990; SCHWOERBEL 1987; CAMPBELL, 1980; u.a.). Für viele Ökosysteme wurde gezeigt, daß schon innerhalb mikrobieller Lebensgemeinschaften quantitativ relevante Fluxe und Recycling (Mineralisierung) der Nährelemente auftreten können. Die Rolle der Protozoen wurde in den letzten Jahren besonders in bezug auf die Remineralisierung diskutiert (s. STOUT, 1980). Für alle Makronährelemente finden sich entsprechende Untersuchungen.

Die grobe Typologie der Interaktion zwischen zwei Arten ist in Tabelle 1.1 dargestellt. In natürlichen Systemen finden sich Übergangsformen. Zudem können diese Typen der Interaktion zeitlich wechseln (ODUM, 1991). Die Mechanismen, die eine Wechselwirkung definieren, sind nicht notwendigerweise von einheitlichem Charakter. Konkurrenz tritt beispielsweise nicht nur in bezug auf Nahrungsquellen, sondern auch in bezug auf Lebensraum auf, wie etwa bei der Besiedelung von Aufwuchsflächen in Gewässern.

Im folgenden werden Mechanismen dargestellt, die die Populationsdynamik beeinflussen. Abiotische Faktoren sollen hier nur am Rande erwähnt werden, obwohl sie natürlich eine hohe Bedeutung haben und auch biogenen Einflüssen unterliegen. Der Schwerpunkt liegt auf den biotischen Faktoren, da im Rahmen dieser Arbeit die Vernetzung zweier Arten den Mittelpunkt bildet.

Interaktion		**Beschreibung**
Neutralität	0,0	die Populationen üben keinen (direkten) Einfluß aufeinander aus.
Kommensalismus	0,+	eine Population profitiert, die andere hat weder Schaden noch Nutzen; z.B.: säureaufschließender Pilz und acidophobe Bakterien der Käseherstellung.
Kooperation	+,+	beide Arten profitieren, sind aber nicht aufeinander angewiesen; z.B. Zoochlorellen (endosymbiontische Algen) in *Paramecium* (Ciliat).
Mutualismus	+,+	beide Arten profitieren und sind voneinander abhängig, z.B.: spezialisierte Flagellaten des Termitendarms.
Räuber-Beute	+,–	die Räuberpopulation zieht Nutzen aus der Beutepopulation, die dadurch primär dezimiert wird; z.B.: viele Protozoen (wie *Tetrahymena*) und Bakterien (wie *E.coli*).
Parasitismus	+,–	die parasitierende Population schädigt primär die Wirtpopulation zum eigenen Nutzen; z.B.: Viren und Wirtsbakterien.
Konkurrenz	–,–	beide Populationen beschränken die Existenz der jeweils anderen; z.B.: unter filtrierenden Ciliaten verschiedene *Vorticella*-Arten im Belebtschlamm.

Tab. 1.1: Grundlegende Kategorien von Wechselwirkung zwischen zwei Arten von Mikroorganismen und Beispiele. –,0,+ kennzeichnen die Wirkung der einen Art auf das Populationswachstum der anderen. (Lit. SCHLEGEL, 1985; SLEIGH, 1989)

1.2.1 Organismengruppen und trophische Vernetzungen

Die Organismengruppen und biogenen Komponenten, die in einer mikrobiellen Biozönose auftreten können, sind

- Primärproduzenten wie Mikroalgen und autotrophe Bakterien,
- Detritus, partikuläre Zerfallsprodukte der Organismen,
- lösliche Substrate,
- heterotrophe Bakterien und Pilze, die i.d.R. biogene Substrate umsetzen,
- Protozoen, die sich von den genannten Gruppen ernähren, aber auch interne Nahrungsbeziehungen haben,
- höhere Pflanzen als Wirte, Symbionten, Nährstoffproduzenten,
- metazoische Freßfeinde aller zuvor genannten Gruppen,
- Viren. Ihre Bedeutung ist (struktur- oder methodisch bedingt) weitgehend unsicher.

Abbildung 1.5 stellt die mögliche Netzstruktur mikrobieller Biozönosen dar. Die rückkoppelnde Rolle des Detritus-/Nährstoff-Pools wird hieran ebenso deutlich, wie die Ankopplung höherer Organismen.

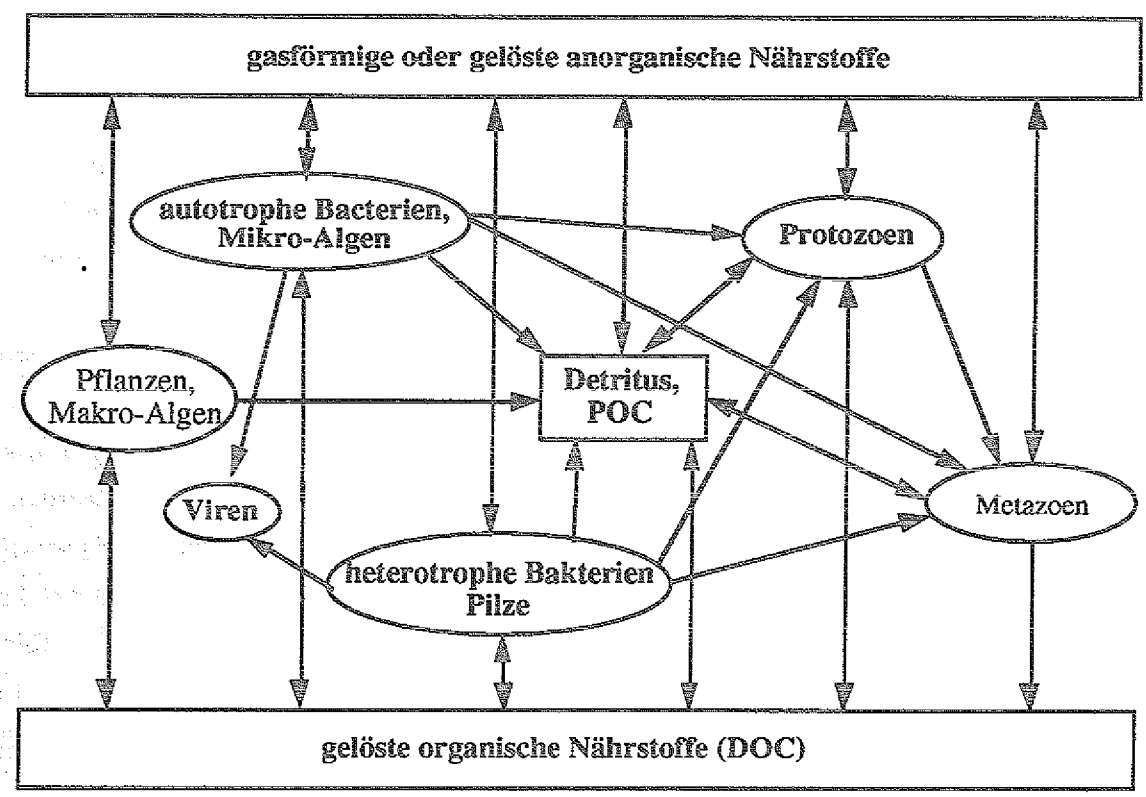


Abb. 1.5: Trophische Verflechtung der Organismengruppen einer mikrobiellen Biozönose und ihre Kopplung an höhere Organismen. DOC = gelöster organischer Kohlenstoff, POC = partikulärer organischer Kohlenstoff.

1.2.2 Lebensraum und Lebensgemeinschaft

Eine Organismengemeinschaft (Biozönose) ist eingebettet in einen Lebensraum (Biotop). Entsprechend den lebensraumtypischen Bedingungen bildet sich eine Lebensgemeinschaft aus. Klima, Geologie und Geographie sind hierbei grundlegende, die Qualität des Lebensraums festlegende makroskopische (oder globale) Faktoren. Lebensraum und Lebensgemeinschaft sind jedoch keine statischen Ökosystemelemente, sondern unterliegen in gegenseitiger Abhängigkeit oder in Vernetzung mit anderen Ökosystemen einem mehr oder minder raschen Wandel (saisonaler Aspektwechsel, Sukzessionen, Evolution).

In Abhängigkeit von den Strukturen und Substrukturen (Requisiten), die ein Biotop bietet (z.B.: anaerobe Porenräume - aerobe Oberflächen von Belebtschlammflocken), können bestimmte Organismen in diesem Lebensraum siedeln. Sie nutzen die Requisiten, die ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften entsprechen (Einnischung). Damit ist jedoch nicht notwendigerweise das Existieren einer Population oder Art unter Optimalbedingungen verbunden. Wechselbeziehungen wie Konkurrenz (s.a. Tab. 1.1) können zur Verdrängung einer "schwachen" Art aus ihrem Optimalbereich führen. Eine Art oder Population steht also einer Lebenssituation gegenüber, die sich aus Biotop und Biozönose definiert.

Die Dynamik phosphatüberlasteter Süßgewässer (anthropogene Eutrophierung; UHLMANN, 1988) läßt die Vernetzung und Umschichtung von mikrobieller Lebensgemeinschaft und Lebensraum folgendermaßen nachvollziehen:

> Phosphat stellt in den meisten Süßgewässern den pflanzenwachstumlimitierenden Nährstoff dar. Einträge an Phosphat in einen See oder großen Fluß erhöhen die Primärproduktion durch Phytoplankton. Durch Absterben des Phytoplanktons und Absinken größerer Phytoplanktonmassen in die tieferen Wasserschichten und auf den Gewässergrund kommt es zunächst dort allmählich zum Verbrauch des Sauerstoffs aufgrund bakterieller Abbauprozesse. Diese anaeroben Bedingungen führen zum Absterben der aeroben benthischen Biozönose (Mikroorganismen, Fische usw.). Eisen-II-Ionen, Schwefelwasserstoff und andere teilweise toxische Substanzen werden im Tiefenwasser gelöst, ggf. von Bakterien wieder umgesetzt. Höhere Organismen verschwinden ganz. Die reduktiven Bedingungen in der Wasser-Sediment-Grenzschicht führen zur Rücklösung von Pflanzennährstoffen. Mikrobielle Methanbildung fördert diese Prozesse und den Transport der Stoffe in den Wasserkörper. Fortschreitend mit diesen Vorgängen kann eine vermehrte Phytoplanktonproduktion durch photosynthetisch bedingte pH-Erhöhung die Konzentration fischtoxischen Ammoniaks steigern. Zudem kann es zum zeitweiligen Sauerstoffschwund im Oberflächenwasser kommen, was ebenfalls zu Fischsterben führt. Die zunehmende Trübung des Gewässers führt darüber hinaus zum Absterben höherer Pflanzen.

Dies Beispiel verdeutlicht, daß die Änderung einer einzelnen Schlüsselkomponente (der Phosphatkonzentration) die Dynamik der biologischen Populationen (Algen, Bakterien, Fische usw.) und physikalisch-chemischen "Populationen" (Lichtmenge, Phosphat, H^+-Ionen) dramatisch beeinflussen kann.

1.2.3 Abiotische Einflußfaktoren der Dynamik

1.2.3.1 Heterogenität

In Ökosystemen (wie dem skizzierten eutrophen Gewässer) sind räumliche Strukturen für die Dynamik bedeutend. Selbst in Laborkulturen, wie sie auch in dieser Arbeit betrieben wurden, ist räumliche Heterogenität als Einflußfaktor nicht auszuschließen (s. 3.6; 4.5.2.2).

WISSEL (1989), MAY (1973) und andere Autoren weisen auf den populationsdynamisch stabilisierenden Charakter räumlicher Strukturierung hin. Dazu müssen keine unterschiedlichen abiotischen Umweltbedingungen vorliegen, allein die räumlich unterschiedliche Verteilung von Populationen kann dazu beitragen (z.B. bei Räuber-Beute-Systemen, interspezifischer Konkurrenz; KUIKMAN *et al.*, 1990). Eine räumlich inhomogene Umwelt stellt neue Anforderungen an die Organismen. Bei ungleicher Ressourcenverteilung stellt sich die Frage, ob und wie schnell ein Lebewesen Zugriff auf neue Quellen erlangen kann, bevor es durch Hunger geschwächt oder geschädigt ist. Transport, Beweglichkeit und Adaptationsfähigkeit spielen eine tragende Rolle im Rahmen der Populationsdynamik.

1.2.3.2 Physikalische Umweltfaktoren

Temperatur, Strahlung, Viskosität, Diffusion, Osmolarität sind einige wichtige physikalische Faktoren, die die Lebensbedingungen der Organismen beeinflussen.

Die Temperatur wirkt direkt auf den Stoffwechsel der Organismen. Moderate Temperaturerhöhungen im Optimalbereich erhöhen Stoffwechselumsätze und Wachstumsraten. Zu niedrige wie zu hohe Temperaturen führen zu Störungen der Homöostase bis hin zur Denaturierung von Eiweißen und Abtötung der Organismen. Molekulare Transportprozesse (Diffusion u.a.) sind ebenfalls temperaturabhängig und damit letztlich die Nahrungsversorgung derjenigen Mikroorganismen, die lösliche Stoffe verwerten.

Strahlung in Form von Licht wird von phototrophen Organismen als Energiequelle genutzt. Intensive UV-Strahlung kann hingegen zur Schädigung der Mikroorganismen führen, was z.B. zur Oberflächensterilisation genutzt wird (BORNEFF 1982).

Die Viskosität des Wassers - auch in Abhängigkeit von der Temperatur und Salinität - besitzt für Mikroorganismen besondere Bedeutung. Sie wirkt sich direkt auf Sinkgeschwindigkeit und Beweglichkeit der Organismen aus. Viele Mikroorganismen haben daher

besonders in Lebensräumen niedriger Viskosität (Süßgewässer) Strategien entwickelt Sinkverluste zu minimieren (Schwebefortsätze; aktive Beweglichkeit). Höhere Viskosität bedeutet dagegen höheren Energieaufwand für die Fortbewegung oder Verankerung.

Diffusion ist ein passiver Transportprozeß. Oft reicht die Diffusionsgeschwindigkeit nicht aus Mikroorganismen mit Nährstoffen zu versorgen. Infolge dessen finden sich verschiedene Anpassungen, die auf Diffusions- bzw. Transportprozesse einwirken.

Die Osmolarität eines Milieus wirkt auf den Wasserhaushalt der Organismen und erfordert ggf. zelluläre Anpassungen (z.B. pulsierende Vakuolen bei hyperosmotischen Süßwasser-Protozoen, um überschüssiges, passiv oder aktiv aufgenommenes Wasser aus den Zellen zu entfernen).

1.2.3.3 Chemische Umweltfaktoren

Wasser ist für die Mikroorganismen das eigentliche "Lebenselement" und stellt den größten Teil der Körpersubstanz (70 - 85%). Es nimmt als direkter Reaktionspartner oder Mittler (Lösungsmittel) an biochemischen Reaktionen teil. Die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Wassers bestimmen Anforderungen und Möglichkeiten der Organismen (detaillierte Darstellung s. z.B. SCHWOERBEL, 1987; ANAGNOSTOPOULOS & DHAVISES, 1982).

Die Körpersubstanz setzt sich vor allem aus den 10 Makronährelementen Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Kalium, Calcium, Magnesium und Eisen (C, H, O, N, S, P, K, Ca, Mg, Fe) zusammen, die jeder Organismus braucht und aus seiner Umwelt aufnehmen muß. Hinzu kommen einige sogenannte Mikronährelemente, die in geringerem Umfang bzw. nur von einigen Organismen benötigt werden.

Um Körpersubstanz auf- oder umzubauen und die Homöostase zu erhalten, benötigen Organismen Energie. Auch die Träger dieser Energie muß der Organismus aus seiner Umwelt aufnehmen. Die Form, in der Zellbaustoffe und Energieträger in einem Lebensraum vorliegen, ist entscheidend für die Biozönose. Autotrophe Organismen nehmen Baustoffe und Energieträger als anorganische Verbindungen bzw. Strahlung auf. Heterotrophe Organismen bedürfen organischer Substrate.

Milieufaktoren wie pH-Wert und Redoxpotential sind entscheidend für Verfügbarkeit der Verbindungen. Z.B.: Das energieliefernde Substrat für das nitrifizierende Bakterium *Nitrosomonas europea* ist Ammoniak (NH_3). Im wässerigen Lebensraum dieses Bakteriums entscheidet der pH-Wert über die Verfügbarkeit von NH_3, denn bei niedrigen pH-Werten liegt es fast ausschließlich protoniert als NH_4^+ vor. Gleichzeitig ist NH_3 jedoch auch ein Zellgift, so daß der tolerierbare pH-Bereich relativ eng ist.

Der pH-Wert beeinflußt die Organismen jedoch nicht nur indirekt, sondern wirkt auch direkt auf energieliefernde und Stofftransport ermöglichende Protonengradienten über

Zellmembranen. In der Umkehrung beeinflussen auch die Organismen je nach ihren physiologischen Leistungen den pH-Wert.

Ähnliches gilt für das Redoxpotential. Am Beispiel der Eutrophierung (s. 1.2.2) wurde bereits auf die Verknüpfung von Redoxpotential und Freisetzung oder Verbrauch verschiedener Substrate und Toxine hingewiesen.

1.2.4 Biologische Faktoren

1.2.4.1 Nährstoffaufnahme der Bakterien, autotrophen Algen und Pilze

Die Nährstoffe der Bakterien, der Pilze und der autotrophen Algen müssen i.d.R. gelöst vorliegen, um für die Organismen verfügbar zu sein. Sekretion von Enzymen (Exoenzyme) (CHRÓST, 1991) und Emulgatoren (ROHNS, 1991) kann zum Aufschluß von Polymeren, Partikel und hydrophoben Tröpfchen beitragen.

Einige niedermolekulare und lipophile Stoffe können die Zellmembranen entlang dem Diffusionsgradienten passiv passieren. Für viele Verbindungen einschließlich der Kationen reicht dieser passive Einstrom in die Zelle zum Wachstum nicht aus, oder es besteht gar ein Konzentrationsgefälle in das Medium. Die Organismen sind also auf "erleichterte Diffusion" oder energieverbrauchende, aktive Stofftransporte angewiesen.

Membranproteine bzw. Proteinkomplexe, die diese Transporte ermöglichen, werden Carrier, Permeasen, Translokasen usw. genannt. Carrier der erleichterten Diffusion verbrauchen keine Stoffwechselenergie während des Transportes. Sie verringern für ein bestimmtes Substrat den Diffusionswiderstand der Zellmembran. Die Geschwindigkeit (u.U. auch die Richtung) des Transportes ist abhängig vom Konzentrationsgradienten.

Aktive Transportmechanismen sind oft von Protonengradienten abhängig. Bakterienzellen halten einen Protonengradienten von außen nach innen aufrecht, indem sie H^+-Ionen aus der Zelle herauspumpen. Einige Enzyme katalysieren dann den gleichgerichteten Membranübergang von H^+ und z.B. Zuckermolekülen in die Zelle hinein (Symport). Daneben gibt es noch sogenannte Anti- (z.B.: H^+ im Gegenstrom zu organischen Säuren) und Uniporte (z.B. für K^+). Wichtige aktive Transportenzymsysteme sind die Phosphoenolpyruvat-abhängigen Transferasen. Sie phosphorylieren Zuckermoleküle während des Transports.

Die Aufnahmesysteme werden durch die Zelle reguliert. Dies hat insbesondere Auswirkungen auf die Nährstoffaufnahme aus Substratgemischen (s.a. 3.6).

(SCHLEGEL, 1985; FISHER & SONENSHEIN, 1991)

1.2.4.2 Nährstoffaufnahme der Protozoen

Protozoen sind heterotrophe Organismen und somit darauf angewiesen, (biogene) organische Nährstoffe für den Bau- und Betriebsstoffwechsel aufzunehmen. Sie verfügen teilweise über ähnliche Mechanismen der Nährstoffaufnahme wie Bakterien. So wurden für den hier untersuchten Ciliaten *Tetrahymena* neben verschiedenen Membrantransportmechanismen für Ionen auch Mechanismen für die Aufnahme gelöster organischer Nährstoffe beschrieben (SLEIGH, 1989). Insbesondere bei histophagen Protozoenarten sind die Aufnahmesysteme so effizient, daß sie ein rasches Wachstum ermöglichen. Bei vielen Vertretern dieser Gruppe ermöglichen Membrantransportmechanismen allein kein effizientes Wachstum. So finden sich leistungsfähigere Nahrungsaufnahmemechanismen (Endocytosen), die nicht mehr stoffspezifisch sind:

Die Pinocytose (Aufnahme von Flüssigkeit, Suspension von Kleinstpartikeln) findet sich insbesondere bei Amöben. Zellulär gesteuert bildet die Membran auf entsprechende Reize hin "Pinocytosekanäle" ins Zellinnere, an deren Ende Vesikel oder Nahrungsvakuolen abgeschnürt werden.

Die Phagocytose (Aufnahme gröberer bzw. großer Nahrungspartikel) findet bei Flagellaten und amöboiden Protisten auf der ganzen Zelloberfläche oder in bestimmten nicht speziell differenzierten Bereichen statt. Die meisten Ciliaten und euglenoiden Formen besitzen spezialisierte Zellorganellen für die Ingestition (Cytostomata, s.a. 1.1.2.1). Die aufgenommene Nahrung wird wie bei der Pinocytose in Nahrungsvakuolen in die Zelle hinein abgeschnürt.

Die Nahrungsvakuolen durchlaufen in der Zelle einen Zyklus des Nahrungsaufschlusses (Digestitionszyklus; 1.1.2.1). Unverdauliche Reste oder nicht aufgeschlossene Nahrungspartikel verbleiben in den Vakuolen und werden am Zellafter (Cytoproct) mit dem Verschmelzen der Vakuolen- und der Zellmembran ins Medium freigesetzt (s.a. Nährstoffrecycling, 1.2.4.5).

Strategien des Nahrungserwerbs

Allein die Möglichkeit, größere Nahrungsmengen auf einmal zu ingestieren, sichert das Wachstum der Protistenzellen nicht. Da partikuläre Nahrung (Detritus, Bakterien, Algen, Protozoen, kleinere Metazoen) durch passiven Transport nur selten an die hungernde Zelle herangeführt wird, haben viele Protozoen spezielle Strategien und ggf. entsprechende Organellen für den Nahrungserwerb entwickelt. Dabei spielt auch ihre Beweglichkeit eine Rolle (s. 1.2.4.3).

SLEIGH (1989) teilt die Arten des Nahrungserwerbs in drei Kategorien ein: Filtration, Fang ("Ergreifen"), Jagd.

Viele Ciliaten und Flagellaten haben Filtrationsmechanismen entwickelt, so auch *Tetrahymena thermophila* (s.1.1.2.1). Cilien(gruppen) bzw. Flagellen dienen als Filter, der anströmende Nahrungspartikel zurückhält. Die notwendige Anströmung des Filterapparates wird durch die Anordnung und Funktion von Cilien bzw. Flagellen gewährleistet. Sie erzeugen eine Strömung, die der Morphologie und der bevorzugten Umgebung (Oberflächen, Freiwasser) der Organismen angepaßt ist. Die energetischen Kosten der Filtrationsleistung beziffert FENCHEL (1986) auf weniger als 2% des Gesamtenergieverbrauchs einer Zelle. Im allgemeinen wird davon ausgegangen, daß der Filtrationsapparat entsprechend seiner Morphologie lediglich eine Selektion der Nahrungspartikel nach Größe zuläßt. Es gibt jedoch einige Hinweise, daß daneben auch andere Mechanismen existieren, die bei Filtrierern zur Beuteselektion führen (WENZEL & WINCKLER, 1984; CURDS & VANDYKE, 1966).

"Beutefänger" nutzen Zellfortsätze und adhäsive Substanzen an der Zelloberfläche, um passierende Beuteorganismen daran festzuhalten. Zu ihnen zählen die Plankton-Foraminiferen, Heliozoen, Radiolarien und die zu den Ciliaten gehörenden Suctorien. (Systematik s. Anhang A). Die Fang- und Nahrungsaufnahmemechanismen sind teilweise an spezialisierte und beuteselektierende Fangorganellen geknüpft. SLEIGH (1989) weist darauf hin, daß diese Art des Beutefangs nur bei Beute oberhalb 10% der Räubergröße rentabel ist. Nur wenige Arten sind daher auf den Fang von Bakterien spezialisiert.

"Jäger" sind Protozoen, die hochentwickelte, zielgerichtete Verhaltensweisen beim Beuteerwerb zeigen. Zu ihnen sind einige Ciliaten und Amöben zu zählen. Sie greifen Bakterien(kolonien), andere Protozoen oder kleine Metazoen an. Einige Ciliaten besitzen komplizierte Fang- und Ingestitionsorganellen.

(Lit.: SLEIGH, 1989; FENCHEL, 1986; NILSSON, 1979; GRELL, 1968)

1.2.4.3 Beweglichkeit

Besondere Bewegungsorganellen finden sich in allen Mikroorganismengruppen. Viele Mikroben zeigen gerichtetes, reizabhängiges Bewegungsverhalten (Taxien).

Beweglichkeit und zielgerichtetes Verhalten (s. 1.2.4.3 - 4) begünstigen Lebewesen, die unter inhomogenen, zeitlich wechselnden Umweltbedingungen leben. So besitzen relativ langsam wachsende, sehr bewegliche Bakterien u.U. einen erheblichen Selektionsvorteil gegenüber rasch wachsenden, relativ unbeweglichen Nahrungskonkurrenten, weil sie neue Nahrungsquellen schneller erreichen (LAUFFENBURGER, 1991).

Viele Bakterien verfügen über Geißeln oder Fibrillen, einige bewegen sich durch Gleiten fort. Die schnellsten können Geschwindigkeiten von mehr als 27 µm/s erreichen. In isotropen Medien zeigen die meisten eine spontane, zufällige Richtungswahl. Sie schwimmen kurze Strecken, taumeln und schwimmen in eine zufällige Richtung weiter. Erst durch äußere Reize

erfolgt eine gerichtete Ortsbewegung (Taxie); z.B. kann sich die Schwimmstrecke in Richtung des Maximums der Konzentration eines Lockstoffes verlängern.

Unter den Protozoen finden sich ebenfalls viele motile Formen. Auch sie verfügen über Geißeln oder Cilien oder bewegen sich gleitend fort. Sie erreichen Schwimmgeschwindigkeiten von 560 µm/s (*Tetrahymena*, HILL & HILL, 1985). Der energetische Aufwand für die Bewegung soll gering sein (ca. 1% des Gesamtenergieumsatzes, JAUKER *et al.*, 1986). Es werden jedoch auch Werte von 10 bis 100% gefordert (CRAWFORD, 1992). Ihr Bewegungsverhalten ähnelt teilweise dem der Bakterien (RICCI, 1990). Einige Arten besitzen aber komplexe Fortbewegungsmuster (SLEIGH, 1989).

1.2.4.4 Reizbarkeit und Adaptationsfähigkeit

Reizbarkeit und Adaptationsfähigkeit (Informationsaufnahme, -verarbeitung und Reaktion) der Organismen sind zwei wesentliche Eigenschaften biologischer Systeme. Die Analyse des in dieser Arbeit betrachteten Räuber-Beute-Systems bietet verschiedene Ansatzpunkte, die die Rolle von Informationsaufnahme und Reaktion für die Dynamik des Systems verdeutlichen (3.6 , 4.3, 4.4).

Verhalten

Auslösende Reize für das gerichtete Bewegungsverhalten aller aktiv beweglichen Mikroorganismen können Berührungen (Thigmotaxis), Schwerkraft (Gravitaxis), chemische Substanzen und Signalstoffe (Chemotaxis), Licht (Phototaxis) u.a. sein. Darüber hinaus gibt es aber auch spontane Verhaltensänderungen (s.o.) und solche, die physiologischen Ursprung haben, z.B. "Hunger" und endogene (z.B. circadiane) Rhythmen (WILLE, 1979). Alle diese Reaktionen stehen im Zusammenhang mit der Wahl des Lebensraumes, der Nahrungs- oder Partnersuche für (para-)sexuelle Vorgänge usw..

Einige Mikroorganismen schalten in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen von sessiler auf aktiv oder passiv bewegliche Lebensweise um, oder sie produzieren in asexuellen und sexuellen Prozessen bewegliche oder unbewegliche Formen (Biofilmbildung; Schwärmer; Übersdauerungsformen: Sporen z.B. bei *Bacillus*-Bakterien, Zysten z.B. bei *Colpoda,* einem Ciliaten; CHARACKLIS & WILDERER, 1989; DELAQUIS *et al.*, 1989; UHLMANN, 1988; MARSHALL *et al.*, 1971).

Im engen Zusammenhang mit der räumlichen Heterogenität oder "patchiness" (s. 1.2.3.1) stehen Verhaltensweisen der Organismen, sich selbststimuliert zu Gruppen zusammenzufinden. So eindrucksvoll wie unverstanden ist beispielsweise die Neigung von *Tetrahymena* (Ciliata), in flachen, mediumbefüllten Gefäßen in gitternetzähnlichen Bahnen zu schwimmen. Im Falle von Schleimpilz-Amöben (z.B.: *Dictyostelium*) sind hingegen

Lockstoffe (Acrasin, c-AMP) bekannt, die die Amöben zur Bildung von Synzytien und Fruchtkörpern veranlassen.

Physiologische Anpassung

Gepaart mit äußeren Verhaltensänderungen, aber auch unabhängig davon, passen Mikroorganismen ihre Physiologie den Umweltbedingungen und inneren Anforderungen an. Sie optimieren ihre physiologische und ökologische Effizienz im genotypisch fixierten Rahmen und können ihren physiologischen und ökologischen Status gegenüber begrenzten Störungen auf angepaßten Niveaus stabilisieren.

Viele lagern unter guten Nahrungsbedingungen verschiedenartige Speicherstoffe ein, die sie bei Nahrungsverknappung aufschließen. Auch die Bildung von Formen mit reduzierter Stoffwechselleistung bei ungünstigen Umweltbedingungen bis hin zur Bildung resistenter Dauerformen ist weit verbreitet (BRADBURY, 1987).

Produktion und Ausscheidung von Enzymen oder lösungsvermittelnden Substanzen ermöglichen den Mikroorganismen, primär nicht verfügbare Nährstoffreserven zu erschließen (CHRÓST, 1991). Produktion von Toxinen kann Feinde und Konkurrenten dezimieren oder Beuteorganismen lähmen und abtöten.

Die Anpassung eines Organismus an neue Umweltbedingungen kann rasch erfolgen (in weniger als 1 s), aber auch infolge weitreichenden physiologischen Umbaus längere Zeiträume beanspruchen (mehrere Stunden). Es kann nicht davon ausgegangen werden, daß in unterschiedlichen physiologischen Zuständen Bau- und Betriebsstoffwechsel der Zellen mit gleicher Intensität ablaufen. Die Populationsdynamik wird also auch von dem jeweiligen physiologischen Zustand bzw. von der Verteilung physiologischer Zustände über die Gesamtpopulation bestimmt (s. 4.3).

Alters- und Größenverteilung in einer Population

Die Alters- und Größenstruktur einer Population beeinflußt insbesondere bei Metazoen (z.B. Daphnien) die Dynamik der eigenen und anderer Populationen (METZ & DIEKMANN, 1986). Auch für Protozoen wurden Zusammenhänge zwischen Alter der Zelle (Phase im Teilungszyklus) und physiologischer Leistung dokumentiert (ZALKINDER, 1979 a/b). Für Bakterien könnten ähnliche Zusammenhänge gelten. Die Zeitskalen der Alterungsprozesse einzelner Mikroorganismen und der Dynamik ihrer Populationen und Biozönosen sind oft sehr unterschiedlich (Minuten bis Tage gegenüber Stunden und Monaten). Es ist daher auf der Ebene der (langzeitigen) Populationsdynamik meist opportun, durchschnittliche physiologische Eigenschaften der Organismen statt differenzierter, zellulärer Strukturen zu betrachten.

(Lit.: SLEIGH, 1989; SCHLEGEL, 1985; LEVANDOWSKY *et al.*, 1979 a/b, 1980; BROWN & STANLEY, 1972; HERBERT, 1961)

1.2.4.5 Nährstofftransfer und Recycling

Nährstoffe werden nicht nur von Organismen aufgenommen, sondern auch produziert und freigesetzt. Diese stehen dann wiederum anderen Organismen zur Verfügung (Nährstofftransfer und Recycling). Dies gilt für anorganische wie für organische Nährstoffe bzw. Energieträger. Aus strukturellen und thermodynamischen Gründen ist ein vollständiges Energieträger-Recycling (ein Perpetuum mobile) unmöglich. Schätzungen der Recyclingquote reichen für organische Kohlenstoffverbindungen bis zu 30% rezyklierten Substrates pro eingesetztem Substrat (SAMBANIS, 1985). Für die Nährelemente lassen sich im mikroskopischen oder makroskopischen (globalen) Rahmen "Stoffkreisläufe" darstellen (ODUM, 1991; LYNCH, 1990; UHLMANN, 1988; SCHWOERBEL, 1987; SCHLEGEL, 1985; STOUT, 1980; u.a.).

Prozesse, die zur biogenen Freisetzung von Nährstoffen führen, sind

- Lysis, Zellschädigung,
- Exkretion (nicht speicherbarer) Zwischen- und Endprodukte des Stoffwechsels,
- Exkretion unverdauter Nahrung,
- Sekretion von funktionalen Produkten (Enzymen, Polysacchariden).

Schädigung und Lysis von Zellen kann durch rein physikalisch-chemische Einflüsse oder biogene Intoxikation hervorgerufen werden, nämlich dann, wenn der Organismus nicht mehr in der Lage ist, seine Homöostase aufrechtzuerhalten. Durch zerplatzte Zellen und beschädigte Zellmembranen werden lösliche und partikuläre Nährstoffe frei. Letztere stellen einerseits Nahrung für Protozoen und Metazoen dar oder können andererseits durch physikalisch-chemische oder enzymatische Prozesse zu niedermolekularen bakterienverfügbaren Nährstoffen umgesetzt werden. Ein Teil der Lysisprodukte agglomeriert mit anderen biogenen und anorganischen Stoffen zu größeren Detritus-Partikel.

Zwischenprodukte, die Zellen nicht speichern können, und Endprodukte des Stoffwechsels werden von den Organismen wieder an die Umwelt abgegeben. Insbesondere gilt dies für die Verstoffwechselung organischer Substrate unter Sauerstoffausschluß (anaerob). Produkte mikrobieller Gärung sind niedermolekulare organische Säuren und Alkohole; hinzu kommen Amine, Wasserstoff und Methan, die dann teilweise durch spezialisierte Mikroorganismen weiter umgesetzt werden können. Auch unter aeroben Bedingungen entstehen organische Zwischen- und Endprodukte (s. 3.1, 3.3, 3.5 & 4.1). Ebenso wie C-Verbindungen werden auch anorganische oder organische Verbindungen der übrigen Nährelemente freigesetzt und rezykliert (SPRENT, 1987; STOUT, 1980).

Räuberische Protozoen und Metazoen geben unverdaute Nahrung ins Medium ab. Insbesondere bei guter Nahrungsversorgung zeigen die Räuber mikrobieller Biozönosen oft nur eine schlechte Ausnutzung der Nahrung ("sloppy feeding", s.a. 4.1; SCHLÜTER, 1984).

Ausgeschiedene Stoffe oder Zerfallsprodukte einer Organismenart sind für sie nur begrenzt wiederverfügbar. Meist ermöglichen sie zunächst das Wachstum anderer Organismen. CLARHOLM (1985) stellt für die Biozönose einer Rhizosphäre dar, wie organische Ausscheidungen der Pflanzenwurzeln zunächst das Wachstum heterotropher Bakterien fördern. Diese Bakterien nehmen mineralisch gebundenen Stickstoff (als NH_4^+ oder NO_3^-) auf, der für die Pflanze nur begrenzt zugänglich ist. Protozoen fressen diese Bakterien und setzen überschüssiges Ammonium frei, das für die Pflanze leichter verfügbar ist (Erhöhung der Aufnahme von N durch die Pflanze um 75%).

Die Ausscheidung funktionaler Substanzen wurde mehrfach angesprochen. Neben dem Effekt, daß diese Stoffe Nahrung für Mikroorganismen verfügbar machen, stellen sie zumindest nach ihrer Denaturierung durch Umwelteinflüsse selber Nährstoffe dar.

Der Nährstofftransfer oder das Recycling muß quantitativ nicht umfangreich sein, um sich auf die Dynamik mikrobieller Populationen auszuwirken. Ausscheidungs- und Zerfallsprodukte einer Räuberpopulation können essentielle Nährstoffe für die Beutepopulation enthalten, die dann erst in der Lage ist, andere, umfangreichere Nahrungsquellen aufzuschließen (HUANG *et al.*, 1981).

Nährstofftransfer und -recycling sind mittlerweile für die Makronährelemente C, N, P und S in natürlichen und artifiziellen mikrobiellen Biozönosen dokumentiert worden. (Kohlenstoff: s.o., NAGATA & KIRCHMANN, 1991; BANKS & BRYERS, 1990; Stickstoff: s.o., WEEKERS *et al.* ,1990; INGHAM *et al.*, 1986 a/b; ANDERSON *et al.*, 1985; Phosphor: BARSDATE *et al.*, 1974; JOHANNES, 1965; Schwefel: GUPTA & GERMIDA, 1989; MONREAL & McGILL,1989 a/b; allgemein: BEAVER & CRISMAN, 1989; STERNER, 1986; STOUT, 1980; LEGNER, 1973). Die Einschätzung der Bedeutung einzelner Organismengruppen (Bakterien, Protozoen, Metazoen usw.) ist bei den Autoren in Abhängigkeit von den untersuchten Systemen teilweise gegensätzlich.

1.2.4.6 Inhibition

Neben den angeführten wachstumsfördernden Wechselwirkungen zwischen den Organismen gibt es auch inhibierende. Einerseits scheiden eine Reihe von Bakterien Toxine aus, die Freßfeinde, Konkurrenten aber u.U. auch die eigene Art im Wachstum behindern, andererseits kann eine Inhibition auch durch toxische Produkte oder Substrate ausgelöst werden. Beide Phänomene spielen bei der mikrobiellen Aufbereitung toxisch belasteter Böden und Gewässer eine wichtige Rolle. Zusätzlich können "normale" Metabolismen zu inhibierenden pH-Wert-Änderungen des Milieus oder zu Endprodukthemmungen führen. So erfolgt im mikrobiellen

Nitrifikationsprozeß durch Bakterien der Gattung *Nitrosomonas* die Umsetzung von NH_3 zu NO_2^- unter Freisetzung von H^+-Ionen. Im schwach gepufferten Milieu ist damit eine pH-Absenkung verbundenen. Das Gleichgewicht zwischen NH_4^+ und $NH_3 + H^+$ wird zugunsten des Ammoniums verschoben, und das energieliefernde Substrat von *Nitrosomonas* wird verknappt. Darüber hinaus sind höhere Substrat- (NH_3) und Endprodukt- (NO_2^-) Konzentrationen toxisch.

1.3 Mikrobielle Räuber-Beute-Systeme

Betrachtet man die Abbildung 1.4, so lassen sich darin schon einige generelle Räuber-Beute-Beziehungen erkennen: Protozoen-Algen, Protozoen-Bakterien, usw.. Hinzu kommen Räuber-Beute-Beziehungen innerhalb der Protozoengruppe, und prinzipiell lassen sich auch Bakterien-Viren-Systeme als Räuber-Beute-Beziehung auffassen. Gedanklich sind diese Beziehungen leicht einzugrenzen. In praxi zeigt sich jedoch, daß nicht nur die jeweilige Räuber-Beute-Beziehung das Verhältnis dieser Populationen bestimmt, sondern auch abiotische oder biotische Rückkopplungen bestehen (Abb. 1.4, s. 1.2.3 - 4).

1.3.1 Koexistenz oder Extinktion ?

Da der Räuber die Beutepopulation dezimiert, impliziert dieser Gedanke die Vermutung, daß effiziente Räuber ihre Beute ausrotten. Es stellt sich das Problem der Koexistenz von Räuber und Beute. Tatsächlich erweisen sich viele solcher Systeme als sehr stabil. In Systemen mit Bakterien oder kleineren Algen und filtrierenden Protozoen als Räuber sind die Beutedichten immer so hoch, daß die Beutepopulation nicht zufällig ausgelöscht werden kann. In Kulturen mit jagenden Protozoen finden sich jedoch auch eindeutige Beispiele (s. 1.3.3) so effizienter "Jäger", daß es zum Aussterben der Beute und schließlich auch der Räuberpopulation kommt. Daraus folgt: Das Überleben eines Räuber-Beute-Systems ist daran gebunden, daß die Effizienz des Erbeutens nicht die Effizienz der Erneuerung der Ressourcen der Beute übersteigt.

Damit Räuber und Beute koexistieren können, muß im zeitlichen Mittel der Zustrom an Energie und Zellbaustoffen für jede der beiden Populationen den jeweiligen Verlusten entsprechen. Da die Organismen allein für den Unterhalt der Zellen Energie und Nährstoffe verbrauchen ("maintenance"), müssen diese von außen zugeführt werden. Eine echte Koexistenz ist daher nur in offenen Systemen möglich. Allerdings haben viele Mikroorganismen Mechanismen entwickelt, die eine Überdauerung (Persistenz) der Zeiten geringen Energie- und Stoffeinstroms in das System ermöglichen.

Viele Protozoen (wie *Colpoda*) bilden Überdauerungsstadien (Zysten), wenn die Beutedichte unter einen Schwellenwert sinkt. Einerseits ist der Stoffwechsel dieser enzystierten Räuber auf ein Minimum des Stoffwechsels eines aktiven Räubers reduziert, andererseits kann die Beutepopulation überleben und durch Zustrom von Nährstoffen anwachsen. Oft haben Beuteorganismen ebenfalls Überdauerungsstrategien entwickelt, die die metabolischen Verluste minimieren, solange keine ausreichende Nährstoffversorgung existiert (s. 1.2.4.4).

Ein wichtiger Faktor, der Koexistenz begünstigt, ist die räumliche Heterogenität vieler Lebensräume (s. 1.2.3.1). Neben einer heterogenen Verteilung von Räubern und Beute im Gesamtlebensraum können auch bestimmte Requisiten den Beuteorganismen Refugien bieten, die dem Räuber nicht erschließbar sind. Beispielsweise können sich Bakterien aktiv oder passiv an Oberflächen anheften und sich so filtrierenden Ciliaten entziehen.

Physikalische und chemische Umweltfaktoren, Toxine, Freßfeinde (Überräuber) können ein übermäßiges Wachstum einer Räuberpopulation und damit den Freßdruck auf eine Beutepopulation begrenzen (s. 1.2.3.2-3 & 1.2.4.6)

FENCHEL & JØRGENSEN (1977) weisen darauf hin, daß die Zersetzung von Detritus durch Bakterien wesentlich rascher erfolgt (erhöhte Umsatzraten), wenn räuberische Protozoen im Kultursystem anwesend sind. Der Mechanismus für dieses Phänomen ist jedoch unklar. Nährstoffrecycling schließen die Autoren aus. Die Räuberaktivität soll dazu führen, daß die Detrituspartikel nicht flächendeckend von Bakterien besiedelt werden, was die Freisetzung von löslichen und bakteriell verwertbaren Stoffen aus den Partikeln erhöhe.

Der Eintrag alternativer Beuteorganismen kann dazu führen, daß Protozoen ihre Beutepräferenz wechseln (WENZEL & WINKLER, 1984; BERGER, 1980), oder daß die eine Population dadurch stärker dezimiert wird, als wenn sie die alleinige Beute wäre (MALLORY *et al.*, 1983). Räuberische Mikroorganismen können damit wesentlichen Einfluß auf die Qualität einer Biozönose ausüben.

(Lit.: ODUM, 1991; FENCHEL, 1987; TAYLOR, 1984)

1.3.2 Natürliche mikrobielle Räuber-Beute-Systeme und Nahrungsnetze

Nachdem einige Charakteristika mikrobieller Räuber-Beute-Systeme vorgestellt wurden, soll nun in bezug auf wichtige mikrobielle Ökosysteme die Bedeutung dargestellt werden.

In allen Ökosystemen sind einige Bakteriengruppen von besonderem Interesse. Destruenten organischen Materials sind oft in großer Artenbreite vorhanden. Pseudomonaden sind aufgrund ihrer Häufigkeit und breit gefächerten Fähigkeiten, persistente Boden- oder Gewässerkontaminationen ab- bzw. umzubauen, vielfach verwendete Untersuchungsobjekte. In einer Schlüsselposition des Stickstoffkreislaufes stehen die Nitrifikanten, eine sehr störungsempfindliche Bakteriengruppe. Hinzu kommen Stickstoffixierer (*Rhizobium* u.a.) und

die artenreichere Gruppe der Denitrifizierer. Sie alle sind potentielle Beuteorganismen in Räuber-Beute-Systemen oder Nutznießer von Nährstofftransfers und Nährstoffrecycling.

1.3.2.1 Böden

Auf die Rolle mikrobieller Räuber-Beute-Beziehungen für den Nährstofftransfer bzw. das Nährstoffrecycling im Bereich der Rhizosphäre wurde bereits unter 1.2.4.5 hingewiesen. Die dominierenden Protozoen sind Amöben. Viele Protozoen enzystieren bei unzureichendem Nahrungsangebot. Eine wichtige Gruppe von Bodenbakterien sind Stickstoffixierer und Pflanzensymbionten wie *Rhizobium*. Allgemein ist anzunehmen, daß auch Metazoen wie Nematoden eine hohe Bedeutung in dem "mikrobiellen" trophischen Gefüge von Böden haben. Die Bewertung der einzelnen Organismengruppen im Rahmen der Umsetzungsprozesse im Boden fällt bei verschiedenen Autoren bzw. Arbeitsgruppen unterschiedlich aus.

Böden stellen mit Porenräumen und unterschiedlichen mineralischen Bestandteilen eine sehr heterogene Umwelt dar. Dies wirkt sich letztlich auf die Verteilung von Organismen im Boden aus. VARGAS & HATTORI (1990) untersuchten die Verteilung einiger Protozoengruppen in Bodenaggregaten (1-2 g d.w.). Sie fanden, daß alle Gruppen konglomeriert vorkamen. Kleine Flagellaten und Amöben fanden sie in großer Dichte an den meisten Aggregaten. Große Ciliaten traten zwar insgesamt in geringer Anzahl, aber an jedem Aggregat auf. Die Autoren stellten ferner dar, daß die Beweglichkeit der Organismen im Boden insbesondere von der Bodenfeuchte abhängt.

Neben der Fähigkeit zum Aufschluß organischen Materials stellen viele Autoren die Bedeutung räuberischer Protozoen für den Transfer der wichtigen Pflanzennährstoffe Phosphat und anorganischen Stickstoff heraus (GRIFFITHS, 1989; INGHAM *et al.*, 1986 a/b; CLARHOLM, 1985; COLE *et al.*, 1978). TAYLOR (1986) führt aufgrund seiner Laborexperimente allerdings an, daß Protozoen nicht nur Nährstoffe rezyklieren, sondern auch bedeutende Senken für Nährstoffe (Phosphat) darstellen.

Anorganische Bodenpartikel beeinflussen die Freßverlustrate einer Bakterienpopulation: Es gibt Hinweise auf Erhöhung (CHAO & ALEXANDER, 1982) wie auf Verminderung (HEYNEN *et al.*, 1988). Die Mechanismen sind bisher nicht eindeutig geklärt (Adsorption der Bakterien, Förderung oder Behinderung des Freßvorganges usw.).

(Lit.: GISI, 1990; LYNCH, 1990; SCHLEGEL, 1985; STOUT, 1980; LOUTIT & MILES, 1978)

1.3.2.2 Gewässer

Die Dynamik der Populationen einer Seenbiozönose in gemäßigten Breiten (z.B. Bodensee; MÜLLER *et al.*, 1991) besitzt eine saisonale Rhythmik. Sie resultiert zum einen aus den jahreszeitlichen klimatischen und chemischen Änderungen (mit ihren Auswirkungen auf

Seendurchmischung, Dichte des Wassers, Nährstoffe usw.), zum anderen aus der sukzedanen Entwicklung von (mikrobiellen) Beute- und Räuberpopulationen.

Die Erhöhung der Lichtintensität im Frühjahr ermöglicht das Anwachsen von Algenpopulationen. In zeitlicher Verzögerung wachsen herbivore Protozooplankter (vor allem Ciliaten) und Zooplankter (Rotatorien, diverse Kleinkrebse) und wiederum deren Freßfeinde (Kleinkrebse, Fische) nach, so daß diese Populationen nacheinander ein Maximum ihrer Dichte durchlaufen. Eine Algenblüte wird von einem Klarwasserstadium gefolgt, das u.a. aus der Freßtätigkeit der Zooplankter resultiert. Neben der Wandlung der chemischen und physikalischen Eigenschaften des Wasserkörpers führt das (größen-)selektive Fressen der (Proto-)Zooplankter (SIMEK & CHRZANOWSKI, 1992; MAZUMDER *et al.*, 1990; FENCHEL, 1980 a/b) auch innerhalb des Bakterio- und Phytoplanktons zu einer Sukzession unterschiedlicher systematischer Gruppen. An deren Ende stehen oft relativ große, fädige Algen, die nur noch von höheren Metazoen (Fische) abgeweidet werden können. Hohe Konzentrationen organischer Substrate führen zu bakteriellen Massenentwicklungen (eutrophe Seen). Als effiziente Freßfeinde der Bakterien werden heterotrophe Nanoflagellaten und/oder Ciliaten angesehen (CHRISTOFFERSEN *et al.*, 1990; BLOEM *et al.*, 1989; SANDERS *et al.*, 1989). Sie sollen auch die Elimination von Fäkalkeimen aus Seen und Flüssen fördern (GONZÁLEZ *et al.*, 1990; GURIJALA & ALEXANDER, 1990).

(Lit. SCHWOERBEL 1987; KERFOOT, 1980; WETZEL, 1975; HUTCHINSON, 1967; NAUWERCK, 1963)

1.3.2.3 Abwasser

Die wichtigsten Räuber in biologischen Abwasserreinigungsanlagen (Belebungsverfahren, Tropfkörper usw.) sind Protozoen, insbesondere Ciliaten, und Rotatorien. Ihre Rolle war zu Beginn der 70er Jahre umstritten. So wurden sie einerseits als "störend" bezeichnet, weil sie die Bakterienpopulationen dezimierten, die die eigentliche Abwasserreinigung durchführen (PIRT & BAZIN, 1972). JONES (1973) wies andererseits darauf hin, daß in Abwasserreinigungsverfahren die meisten Organismen in Biofilmen (Flocken) leben, einem Refugium, das dem Fraß durch Protozoen großteils entzogen ist. Ferner können Protozoen Flockenbildungsprozesse fördern (CURDS, 1963; WATSON, 1945). CURDS (1982) unternahm in den Folgejahren ausgedehntere Untersuchungen zur Rolle der Protozoen in Abwasserreinigungsverfahren und faßte die Ergebnisse in einem Übersichtsartikel zusammen. Er wies nach, daß Protozoen die Reinigungsleistung erhöhen, konnte dieses Phänomen jedoch nicht eindeutig begründen. ESTEBAN *et al.* (1991) konnten mit statistischen Methoden Hinweise auf die Korrelation einzelner Protozoenarten mit Leistungsparametern von Kläranlagen geben. Untersuchungen von HUANG *et al.* (1981) lassen vermuten, daß auch hier Prozesse des Nährstofftransfers bzw. Recyclings von Bedeutung sind.

Die Anregung CURDS, Protozoen als Indikatororganismen für die Leistungsfähigkeit einer Kläranlage zu nutzen, wurde später verschiedentlich aufgegriffen (AL-SHAHWANI & HORAN, 1991), ohne bisher genereller Bestandteil der Kläranlagenüberwachung zu sein. Darüber hinaus konnte WILHELM (1989) zeigen, daß auch organische, subakut toxische Belastungen von Kläranlagen frühzeitig an Änderungen der Protozoenbesiedelung erkannt werden können.

1.3.2.4 Sonstige Lebensräume

Neben den zuvor genannten Ökosystemen finden sich Freßketten mit Protozoen auch im Magen-Darm-Trakt von Zellulose aufschließenden Insekten und Säugetieren (Termiten, Wiederkäuer). Die Räuber- und Beutearten zeichnen sich durch Befähigung zur Anaerobiose aus, die die Sauerstoffatmungsprozesse durch unterschiedliche biochemische Umsätze ersetzt. Die Methanbildung dieser Biozönosen könnte ein fördernder Faktor des Treibhauseffektes sein.

(Lit.: LOUTIT & MILES, 1978)

1.3.3 Mikrobielle Räuber-Beute-Systeme in Laborkulturen

Mikrobielle Räuber-Beute-Systeme wurden bereits vielfach in Laborkulturen unter definierten Bedingungen untersucht. Sie bieten die Möglichkeit, Mechanismen der Dynamik ausgewählter Populationen selektiv zu untersuchen. Ferner können mathematische Modelle zur Populationsdynamik experimentell in angemessenen Zeiträumen überprüft werden. Erste Erfahrungen zeigten dann jedoch, daß diese Laborkulturen weitaus komplexere Systeme darstellen, als vermutet wurde.

1.3.3.1 Kultursysteme

Generell lassen sich stationäre und kontinuierliche Flüssigkultursysteme für Mikroorganismen unterscheiden. In beiden Fällen kann der Experimentator die Startbedingungen vorbestimmen. In stationären Kulturen erfolgt von außen keine Erneuerung der Nahrungsressourcen, während kontinuierliche Kulturen einen steten Zustrom an Nahrung erhalten. Meist stellt ein ausgesuchter Nährstoff die alleinige wachstumsbegrenzende Mediumkomponente für die Beute dar. Alle anderen Nährstoffe werden im Überschuß angeboten. Die Räuberpopulation wird i.d.R. durch das Beuteangebot im Wachstum begrenzt. Die Kulturen müssen möglichst homogen durchmischt sein, da sonst die tatsächlichen Bedingungen in den Kulturen nicht definiert werden können und die Auswertung der Versuche erschwert oder unmöglich wird.

In stationären Kulturen (= batch-Kulturen) ändern sich die Nahrungsbedingungen und physiologischen Zustände der Organismen ständig. In kontinuierlichen Kulturen lassen sich stabile konstante oder schwingende Gleichgewichtszustände erreichen. Im Chemostaten fließt das Medium mit konstanter Rate (normiert auf das Kulturvolumen: Durchflußrate [h^{-1}]) und Nährstoffkonzentration der Kultur zu und die Kultursuspension entsprechend ab. Im Gleichgewicht wachsen die Organismen mit einer Rate, die der Durchflußrate plus den endogenen Verlusten entspricht. Übersteigen Auswaschung und endogene Verluste die maximal mögliche Wachstumsrate der Organismen, werden sie ausgewaschen. Im Turbidostaten wird der Mediumfluß direkt an die Wachstumsrate der Organismen gekoppelt, so daß die Organismendichte (i.d.R. als optische Dichte = O.D., Extinktion gemessen) der Kultur konstant bleibt; bei geringem Wachstum fließt wenig Medium zu. Der Turbidostat eignet sich besonders zur Untersuchung von toxischen Substanzen, während im Chemostaten bestimmte physiologische Zustände der Organismen eingestellt werden können.

Technische Probleme der Arbeiten mit definierten Kulturen sind

- Gewährleistung der Sterilität (insbesondere bei kontinuierlichen Systemen),
- Homogenität der Kultursuspension (Randeffekte, Wandwachstum, organismenschonende Durchmischung),
- Gewährleistung konstanter Milieubedingungen,
- Abstimmung von Probe- und Kulturvolumen (die Probenentnahme sollte den Zustand des Systems nicht verändern).

Diese Probleme lassen sich nur teilweise ausschalten. Meist muß eine für die Kultivierung und die wissenschaftliche Fragestellung hinreichende Kompromißlösung gefunden werden.

Die Entwicklung immer kleinerer, handlicher Kultursysteme (LARSEN & NILSSON, 1985, 1986; SAMBANIS, 1985; NOVICK & SZILARD, 1950) steht fortschreitend komplexeren Fragestellungen entgegen, da vertretbare Probenvolumina zu gering und die Randeffekte dominierend werden. Bei niedrigen Zuflußraten sind kontinuierliche Systembedingungen technisch kaum mehr zu gewährleisten. In zeitlich relativ großen Abständen eintropfendes Medium führt zu einer gepulsten Betriebsweise, die eine Mischung aus stationärer und kontinuierlicher Kultivierung darstellt.

Gerade im Forschungsbereich der mikrobiellen Ökologie wurden einige abgeleitete Kultivierungsmethoden entwickelt: zwei- oder mehrstufige Chemostaten, Gradostaten (zwei oder mehrere verbundene, aber getrennt mit Zu- und Abfluß versorgte Chemostaten, zwischen denen ein Nährstoffgradient aufrechterhalten werden kann, z.B. für Konkurrenzuntersuchungen) u.a..

(Lit.: BAILEY & OLLIS, 1986; VELDKAMP, 1977)

1.3.3.2 Organismen

Mikrobielle Räuber-Beute-Systeme in Laborkulturen bestehen meist aus Protozoen und Bakterien. Weitaus seltener sind Protozoen-Algen und Protozoen-Protozoen-Systeme. Viele Protozoenarten haben sehr spezielle Ansprüche an ihren Lebensraum, so daß sie kaum in definierten Laborkulturen gezüchtet werden.

Die am häufigsten in Versuchen eingesetzte Räuber-Gattung ist *Tetrahymena* (Süßwasser-Ciliaten). In neuerer Zeit finden sich auch mehrere Arbeiten mit heterotrophen Flagellaten. Weitere häufig untersuchte Räuberorganismen sind die Schleimpilzamöbe *Dictyostelium,* der marine Ciliat *Uronema* und einige andere Ciliaten (*Paramecium, Colpoda, Didinium*). Sie alle sind bewegliche Organismen, die sich in durchmischten Laborkulturen kultivieren lassen. Es gibt nur wenige populationsdynamische Untersuchungen mit Protozoen, die sessil sind oder sich auf Oberflächen bewegen. Räuber wie *Tetrahymena, Uronema, Paramecium, Colpoda* u.v.a. sind "Filtrierer", *Dictyostelium* und *Didinium* sind "Jäger" (s. 1.2.4.2, 1.3.3.3).

Ein typisches Beutebakterium in Laborkulturen ist *E.coli*. Da aber auch viele andere Bakterien- und Algenarten relativ einfach kultivierbar sind, gibt es eine Reihe von Untersuchungen die auf andere Organismen zurückgreifen.

Vorteile von Arbeiten mit *Tetrahymena*- und *E.coli*-Stämmen sind:

- leichte, definierte (axenische) Kultivierung,
- weitreichende wissenschaftliche Untersuchungen zur Populationsdynamik sind vorhanden,
- viele weiterführende Informationen (z.B. zur Physiologie) sind verfügbar.

(Lit.: GROVER, 1990; SLEIGH, 1989; CURDS & BAZIN, 1977;DRAKE & TSUCHIYA, 1977; HAMILTON & PRESLAN, 1970; u.a.)

1.3.3.3 Populationsdynamische Ergebnisse von Laborexperimenten mit mikrobiellen Räuber-Beute-Systemen

Untersuchungen an stationären Kulturen

Generell gilt, daß bei Zugabe von räuberischen Protozoen zu einer vorkultivierten, ausreichend hohen Beutepopulation die Beutedichte durch Fraß vermindert wird und die Räuberpopulation mit einer sigmoiden Wachstumskurve anwächst. Bei längerer Kultivierung nimmt die Räuberdichte durch Lysis (und Veratmung) ab. Effektive "Jäger" können die Beutepopulation ausrotten (z.B. *Didinium* auf *Paramecium* gezogen, s. SLEIGH, 1989). Meist verbleiben jedoch höhere Beutedichten in der Kultur. Dies konnte insbesondere für viele Ciliaten (ALEXANDER, 1981), aber auch Amöben (ALEXANDER, 1981) und Flagellaten (GROVER, 1990) mit verschiedenen Beuteorganismen gezeigt werden. Teilweise beruht dieses Phänomen darauf, daß die Räuber enzystieren (nichtfressende Dauerstadien bilden), sobald

die Beutedichte unter einen Schwellenwert sinkt (BRADBURY, 1987). Teilweise persistieren aber auch relativ hohe Beutedichten (10^8-10^{10} Bakterien/l) neben aktiven Räubern (z.B. *Tetrahymena*) in den Laborkulturen. Hier müssen also andere Mechanismen dazu führen, daß die Beuteorganismen überleben. (s. 3.5 & 4.1).

Arbeiten von HABTE und ALEXANDER (1978 a/b) mit *Tetrahymena* und verschiedenen Beutebakterienarten zeigten, daß die überlebende Beutedichte um so größer ist, je mehr Räuber im System sind. Analog dazu veröffentlichten SAITOH & ASAI (1982) Ergebnisse, die auf eine Behinderung der Nahrungsaufnahme durch hohe Räuberdichten hinweisen. HABTE & ALEXANDER (1978 a/b) zeigten außerdem, daß bei Zugabe von Wachstumsinhibitoren für Bakterien sich deren Dichte ständig verminderte. Ferner gibt es Hinweise darauf, daß Teile der Beutepopulation an den Kulturgefäßwänden haften und so dem Räuberzugriff entzogen sein können (RATNAM *et al.*, 1982), und daß einige Bakterienarten ungünstig oder toxisch für die Ernährung von Protozoen (Ciliaten) sind (CURDS & BAZIN, 1977).

Hinreichende Erklärungen für die beobachtete Persistenz einer stationären Räuber-Beute-Kultur mit ständig aktiven Räubern konnten bisher nicht gegeben werden. Erklärungsansätze finden sich in den unter 1.2.3-4 beschriebenen Wechselwirkungen bzw. Einflußfaktoren auf die Populationsdynamik (s.a. ALEXANDER, 1981).

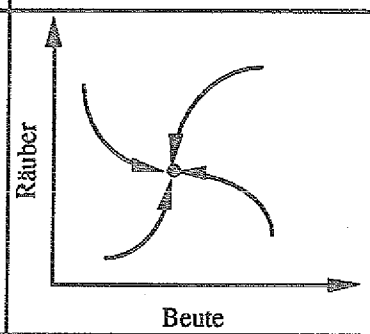
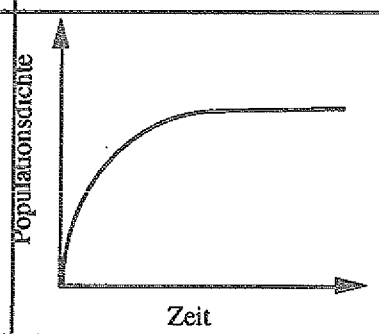
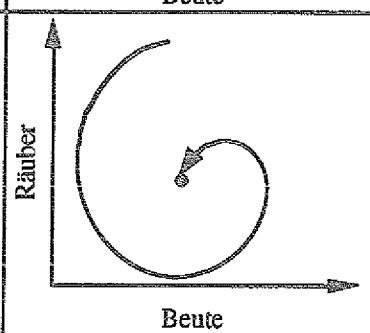
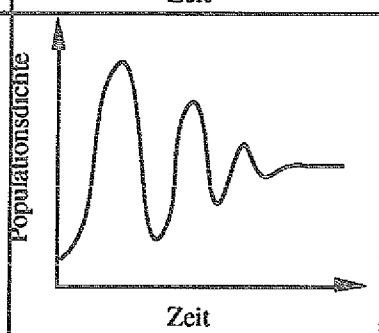
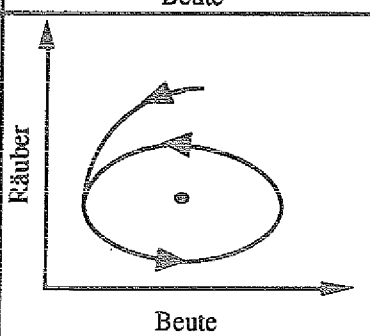
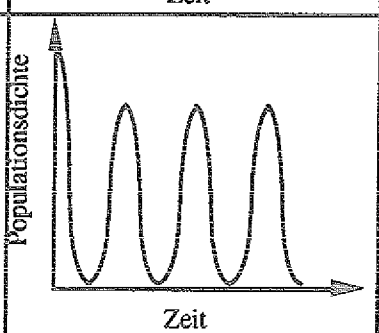
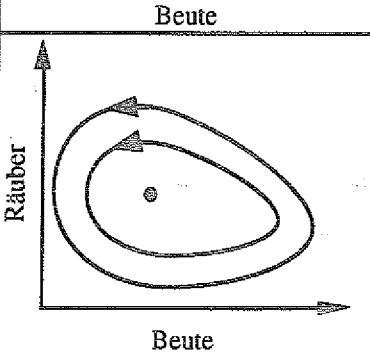
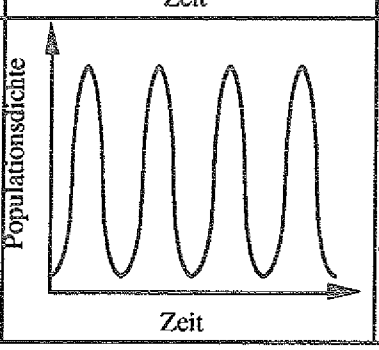
Untersuchungen an kontinuierlichen Kulturen

Auch bei kontinuierlichen Kulturen (ein- und zweistufige Chemostaten) zeigte sich, daß vielfach relativ hohe Beutedichten mit aktiven Räubern koexistieren können (SAMBANIS 1985; BAZIN *et al.*, 1983; DRAKE & TSUCHIYA, 1977, 1976; ASHBY, 1976; CANALE *et al.*, 1973; JOST *et al.*, 1973; CURDS & COCKBURN, 1971, 1968; u.a.).

Bei zweistufigen Chemostaten wird in einer ersten Stufe die (bakterielle) Beute mit einem geeigneten Substrat angezüchtet, und dann diese Suspension kontinuierlich dem zweiten, die Räuberpopulation enthaltenden Chemostaten zugeführt. Theoretisch wird für beide Chemostatenstufen ein stabiler Gleichgewichtszustand erwartet. Die veröffentlichten Versuche zeigten jedoch lang andauernde Drifts (> 200 h), bis ein "Gleichgewicht" erreicht wurde (SAMBANIS & FREDRICKSON, 1987), oder gedämpfte und ungedämpfte Schwingungen (BAZIN *et al.*, 1983; ASHBY, 1976). HAMILTON & PRESLAN (1976) berichteten hingegen, daß sich rasch ein stabiles Gleichgewicht in einem Chemostaten mit *Uronema* spec. und dem Beutebakterium *Serratia marinoruba* einstellte. Sie dokumentierten ein Auswaschen der Räuberpopulation bei niedrigen Beutedichten, und wiesen darauf hin, daß Zellzahl- und Biomasseausbeute von *Uronema* nicht proportional sind.

Einstufige Chemostaten enthalten eine Beute- (Bakterien) und eine Räuberpopulation (Protozoon). Der Beutepopulation wird über den Zulauf der wachstumslimitierende Nährstoff zugeführt. Übersteigt die Durchflußrate die Nettowachstumsrate der Organismen, werden sie

ausgewaschen und es treten räuber- oder organsimenfreie Gleichgewichtszustände auf. Es wurden noch vier prinzipiell unterschiedliche, stabile Gleichgewichtszustände für die Koexistenz von Räubern und Beute beschrieben. Sie sind in Tabelle 1.2 dargestellt.

Art des Gleichgewichtpunktes	Phasendiagramm	Zeitliche Veränderung der Räuberpopulation	Verhalten der Populationsdichten nach dem Start
stabiler Knoten			asymptotische Annäherung an die Gleichgewichtsdichte
stabiler Fokus			gedämpfte Schwingungen
Grenzzyklus			Hineinlaufen in ungedämpfte Schwingungen
Vortex			ungedämpfte Schwingungen in Abhängigkeit von den Startbedingungen

Tab. 1.2: Theoretisch mögliche stabile Gleichgewichtszustände eines Räuber-Beute-Systems.

In einstufigen Chemostaten wurde eine Reihe dynamischer Phänomene beobachtet (zusammengefaßt von SAMBANIS, 1985; BAZIN *et al.*, 1983; DRAKE & TSUCHIYA, 1976; JOST *et al.*, 1973 a; CANALE *et al.*, 1973; u.a.):

- In einem Protozoen und Bakterien enthaltenen Chemostaten koexistieren immer (?) so hohe Beutedichten mit den Räubern, daß eine zufällige Elimination der Beute nicht möglich ist.
- In Abhängigkeit von Durchflußrate und Konzentration des zufließenden, limitierenden Nährstoffes (allochthones Substrat) werden Koexistenzgleichgewichte des stabilen Fokus- und Grenzzyklus-Typus erreicht.
- Bei Koexistenz der Populationen führt eine Verminderung der Durchflußrate (bei konstanter allochthoner Substratkonzentration im Zulauf) dazu, daß ein oszillierender Gleichgewichtszustand in einen gedämpft oszillierenden übergeht.
- Bei niedrigen Durchflußraten ist die Konzentration des allochthonen Substrates im Chemostaten konstant und annähernd so hoch wie die Zulaufkonzentration (SAMBANIS, 1985). Bei hohen Durchflußraten scheint die Konzentration des allochthonen Substrates zu oszillieren.
- Gleichgewichtszustände mit gedämpften oder ungedämpften Schwingungen zeigen bei konstanter Durchflußrate, aber hohen und niedrigen Zulaufkonzentrationen des allochthonen Substrates denselben Typ von Gleichgewichtszustand. Mit der Verminderung der Substratkonzentration im Zulauf werden die Maxima der Schwingungen der Populationsdichten verringert.

Modelle eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems (Protozoen-Bakterien-System) sollten diese verschiedenen Beobachtungen hinreichend erklären können.

1.4 Mathematische Modelle zur Analyse der Dynamik von Räuber-Beute-Systemen

Mikrobielle Räuber-Beute-Systeme mit Protozoen und Bakterien lassen sich mathematisch gut mit Differentialgleichungssystemen beschreiben und analysieren: Die Populationsdichten sind hoch, so daß durchschnittliche Eigenschaften der Organismen und die Populationsdichten als kontinuierliche Variable betrachtet werden können. Reaktionen der Organismen erfolgen meist "momentan" im Verhältnis zur Zeitskala populationsdynamischer Ereignisse. Außer in Synchronkulturen ändern sich die Populationsdichten kontinuierlich. Ein Räuber-Beute-System ist im stabilen Gleichgewicht, wenn die Populationsdichten im zeitlichen Mittel konstant sind. Für die Betrachtung von Gleichgewichtszuständen gilt daher,

daß (im Mittel) die zeitliche Änderung jeder Population des Systems 0 sein muß. Für einfache Modelle lassen sich die Bedingungen für die verschiedenen stabilen (s. Tab. 1.2) und instabilen Gleichgewichtszustände mathematisch analytisch bestimmen. Das Verhalten komplexerer Systeme kann jedoch meist nur mit numerischen Methoden (Simulationen) untersucht werden. Analytische Methoden werden von WISSEL (1989), EDELSTEIN-KESHET (1987), BAILEY & OLLIS (1986), HOWELL (1983) u.a. beschrieben.

Die Werte der Modellparameter müssen experimentell ermittelt oder geschätzt werden, wobei biologisch ein sinnvoller Rahmen vorgegeben ist. Populationsdichten werden oft in Biomasse- oder Zellzahlparametern ausgedrückt. Einige Autoren erachten diese beiden Größen als (annähernd) äquivalent. Substrate werden mit Konzentrationen oder Stoffmengen beschrieben. Um die verschiedenen Größen miteinander zu verrechnen und um die Prozesse stöchiometrisch darzustellen, müssen Äquivalenzfaktoren in die Modelle eingefügt werden.

Besonders einfach ist ein Lotka-Volterra-Modell (nach CURDS & BAZIN, 1977). Es beschreibt nur die zeitliche Änderung der Räuber- (c) und der Beutepopulation (b) :

$$\frac{dc}{dt} = g_c \; b \; c - d_c \; c \qquad (1.1.1)$$

$$\frac{db}{dt} = g_b \; b - g_c' \; b \; c \qquad (1.1.2)$$

wobei g_c die spezifische Wachstumsrate des Räubers, g_b die spezifische Wachstumsrate der Beute, d_c die spezifische Absterberate der Räuber und g_c' die spezifische Freßrate darstellen. Dieses Modell sagt für stationäre Kulturen ein Koexistenzgleichgewicht vom Vortex-Typ (s. Tab. 1.2) vorher, was nicht realistisch ist (vgl. 1.3.3.3). Die Mängel dieses Modells sind offenkundig. Erstens müssen Laborkulturen von außen mit Energie und Nährstoffen versorgt werden. Damit gibt es kein unbegrenztes Wachstum, was aber im Modell durch die Konstante g_b suggeriert wird. Zweitens gibt es auch räuberunabhängige Verluste (Lysis, Veratmung) der Beutepopulation.

In Parallelität zu den experimentellen Systemen kann das Gleichungssystem 1.1.1, 1.1.2 um eine Gleichung für die Substratkonzentration erweitert werden. Die konstanten Wachstums- und Freßraten lassen sich durch kinetische Funktionen (Monod- oder Michaelis-Menten-Kinetiken; s.1.4.2) ersetzen (z.B.: CANALE, 1970). So ergibt sich das Gleichungssystem:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{\mu_{max_c}\ b}{L + b}\ c - D\ c \tag{1.2.1}$$

$$\frac{db}{dt} = \frac{\mu_{max_b}\ s}{K + s}\ b - \frac{1}{Y_c}\ \frac{\mu_{max_c}\ b}{L + b}\ c - D\ b \tag{1.2.2}$$

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{1}{Y_b}\ \frac{\mu_{max_b}\ s}{K + s}\ b + D\ (s_D - s) \tag{1.2.3}$$

(s ist die Substratkonzentration, s_D ist die Zulaufsubstratkonzentration, μ_{max} bezeichnet die maximalen spezifischen Wachstumsraten der Organismen, K und L sind die Halbsättigungskonstanten der Wachstumskinetiken der Beute und der Räuber, Y kennzeichnet die Ausbeutekoeffizienten zur Umrechnung von Wachstums- in Freß- bzw. Aufnahmeraten, D die Durchflußrate; Monod-Kinetik vgl. Tab. 1.3)

Auch die Vorhersagen, die dieses Modell macht, decken sich nicht mit der experimentell nachgewiesenen Stabilität des Systems. So sagt es für stationäre Kulturen die Ausrottung der Beute vorher und für schwingende, kontinuierliche Kulturen so geringe Beutedichten, daß ein zufälliges Aussterben möglich wäre. Auch die weiteren experimentellen Beobachtungen an kontinuierlichen Kulturen (s. 1.3.3.3) lassen sich nicht reproduzieren.

Verschiedene Autoren untersuchten Modifikationen dieses Modells. Einerseits wurden Erweiterungen für Flockenbildung (SUDO *et al.*, 1975) oder Wandwachstum (SAMBANIS & FREDRICKSON, 1989; BONOMI & FREDRICKSON, 1976; TOPIWALA & HAMMER, 1971) der Bakterien eingefügt. Obwohl diese Modelle einige qualitative Übereinstimmungen mit den experimentellen Beobachtungen an einstufigen Chemostatenkulturen zeigten, ist nicht belegt, daß alle experimentellen Beobachtungen auf Wandwachstum oder Flockenbildung beruhten. Insbesondere für kurzfristige, stationäre Kulturen ist anzunehmen, daß dieser Einfluß gering war. Hinzu kommt, daß die beobachtete Abhängigkeit der spezifischen Freßrate von der Räuberdichte (HABTE & ALEXANDER, 1978 a/b; s. 1.3.3.3) nicht reproduziert wurde.

Andererseits wurde versucht, die Wachstums- und Freßkinetiken zu ersetzen. JOST *et al.* (1973 a/b) setzten sigmoide Nahrungsaufnahme- und Wachstumskinetiken für die Räuber und Beutepopulation ein. Sie wurde aus einer hypothetischen Altersstrukturierung der Räuberpopulation (*Tetrahymena*) hergeleitet. Für diesen Ansatz sind in den Gleichungen 1.2.1-3 die Monod-Funktionen durch

$$\frac{\mu_{max_c}\ b}{(L_1 + b)\ (L_2 + b)} \quad \text{bzw.} \quad \frac{\mu_{max_b}\ b}{(K_1 + b)\ (K_2 + b)} \tag{1.3.1}$$

zu ersetzen. Das Modell beschreibt weitgehend zutreffend das dynamische Verhalten einer einstufigen Chemostatenkultur. Allerdings ließen sich keine Übereinstimmungen mit den

Versuchsergebnissen stationärer Kulturen erzielen. DRAKE und TSUCHIYA (1976) schlagen nach ihren Versuchen mit dem Ciliaten *Colpoda* und dem Bakterium *E.coli* eine sigmoide Wachstumskinetik für die Räuberpopulation und eine Monod-Kinetik für die Beute vor.

CUNNINGHAM & NISBET (1983) weisen auf eine Freß- und Wachstumskinetik mit einem Schwellenwert für die Aktivität der Räuberpopulation hin:

$$\mu_c = \frac{\mu_{max_c}\ (b - b_0)}{(L + b - b_0)} \qquad \text{und} \qquad \mu_c = 0 \text{ wenn } b_0 > b \tag{1.3.2}$$

Diese Funktion sagt auch für stationäre Kulturen eine Persistenz der Beute vorher. Enzystierende Protozoen zeigen tatsächlich einen Beuteschwellenwert für Fraß und Wachstum. Fortwährend freßaktive Arten wie *Tetrahymena* besitzen eine solche Schwelle dagegen nicht!

CANALE *et al.* (1973) und später SAMBANIS (1985) griffen den Gedanken des Nährstoffrecyclings auf. SAMBANIS erweiterte das Gleichungssystem 1.2.1-3 um eine Gleichung für organismenbürtige (autochthone) Substrate, führte einen zusätzlichen Verlustterm für die Protozoen ein, und analysierte dieses Gleichungssystem mit verschiedenen Modifikationen:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{\mu_{max_c}\ b}{L + b}\ c - (D + \gamma_c)\ c \tag{1.4.1}$$

$$\frac{db}{dt} = \left(\frac{\mu_{max1b}\ s_1}{K_1 + s_1 + \Lambda_1\ s_2} + \frac{\mu_{max2b}\ s_2}{K_2 + s_2 + \Lambda_2\ s_1} \right) b - \frac{1}{Y_c} \frac{\mu_{max_c}\ b}{L + b}\ c - D\ b \tag{1.4.2}$$

$$\frac{ds_1}{dt} = -\frac{1}{Y_{1b}} \frac{\mu_{max1b}\ s_1}{K_1 + s_1 + \Lambda_1\ s_2}\ b - D\ s_1 + Z_c\ \gamma_c\ c \tag{1.4.3}$$

$$\frac{ds_2}{dt} = -\frac{1}{Y_{2b}} \frac{\mu_{max2b}\ s_2}{K_2 + s_2 + \Lambda_2\ s_1}\ b + D\ (s_D - s_2) \tag{1.4.4}$$

(Λ ist ein Faktor, der die Einflußnahme des einen Substrates auf die Umsetzung des anderen quantifiziert).

Ein wesentliche Problematik dieses Modells besteht darin, das Wachstum der Beutepopulation (Bakterien) auf zwei Substratklassen (des autochthonen Substrats s_1 und des allochthonen s_2) zu definieren. Es gibt verschiedene Ansätze, diese Fragestellung zu modellieren. Sie wird im Rahmen dieser Arbeit noch im Zusammenhang mit dem bakteriellen Wachstum erörtert (s. 3.6).

Das Modell SAMBANIS sagt für spezifische Startbedingungen und eine spezielle Auswahl der Parameterwerte ein Persistieren von Räuber und Beute in stationären Kulturen vorher. Die Ergebnisse von HABTE & ALEXANDER (1978 a/b, s.o.) kann es nicht reproduzieren. In bezug auf einstufige Chemostaten prognostiziert es nur für relativ wenige Kombinationen der Betriebsparameter (Durchflußrate und Zulaufsubstratkonzentration) die tatsächlich beobachtbare Koexistenz von Räuber und Beute.

Neben diesen Modellen gibt es einige Ansätze zur strukturierten Modellierung von Populationen. Theoretisch kann die Biomasse einer Population in einen "strukturellen" und eine "genetisch aktiven" Biomasseanteil unterteilt werden (s. BAILEY & OLLIS, 1986; FREDRICKSON *et al.*, 1970; RAMKRISHNA *et al.*, 1967). Allerdings können diese Strukturen kaum in meßbare Parameter umgesetzt werden. Es wurden schließlich einige stoffwechselphysiologische Modelle entwickelt (DOMACH, 1983; HUNT *et al.*, 1977), die für einzelne Populationen gute Vorhersagen treffen. Mit z.T. über 20 Differtialgleichungen pro Population sind sie jedoch im Rahmen von Räuber-Beute- oder komplexeren Systemen kaum anwendbar. Allein die Datenbeschaffung der einzelnen Parameterwerte für diese Modelle erfordert einen erheblichen Aufwand.

VILLARREAL *et al.* (1976, 1975) untersuchten ein nach Altersklassen strukturiertes Differentialgleichungsmodell eines *Tetrahymena*-Bakterien-Systems und kamen, soweit getestet, zu guten Resultaten. Allerdings wurden die Parameter des Modells weitgehend willkürlich gewählt und nicht durch spezifische Experimente verifiziert.

PAVLOU (1983) stellte ein Zeit- und Individuen-diskretes Modell für die Räuberpopulation (*Tetrahymena*) vor. Die Zellgröße betrachtet er als Indikator für den physiologischen Zustand der Zellen. Die Räuber können drei physiologische Zustände (Schwimmen, Fressen, Vermehren) einnehmen. Das Modell erlaubt auch die Simulation teilsynchroner Kulturen und zeigt einige qualitative Übereinstimmungen mit experimentellen Beobachtungen. Ansätze dieses Modells werden in der vorliegenden Arbeit aufgegriffen.

In jüngerer Zeit wurden rechnergestützte Mikrosimulationen unter anderem zur Analyse von Räuber-Beute-Systemen eingesetzt (WOLFF, 1988). Sie definieren das Verhalten einzelner Räuber- bzw. Beuteorganismen insbesondere auch in bezug auf räumliche Strukturierung. Prinzipiell sind diesen Modellen von der Kapazität der Datenverarbeitung Grenzen gesetzt. Sie eignen sich zur Untersuchung der Dynamik zahlenmäßig geringer Populationen unter Berücksichtigung von "Überlebensstrategien".

1.4.1 Nahrungsaufnahme und Wachstum

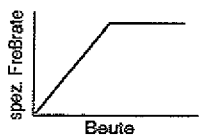
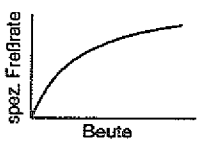
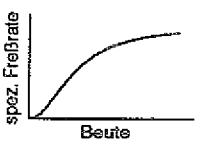
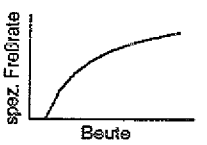
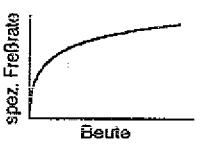
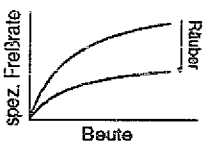
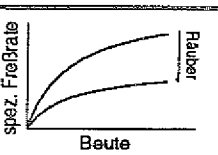
Viele Differentialgleichungsmodelle sehen Nahrungsaufnahme- und Wachstumskinetiken in Proportionalität zueinander. In Tabelle 1.3 sind einige kinetische Funktionen der Nahrungsaufnahme (functional response) dargestellt, wie sie teilweise im Zusammenhang mit mikrobiellen Räuber-Beute-Systemen veröffentlicht wurden. Analoge mathematische Formulierungen gelten auch für Wachstumskinetiken. Diese Kinetiken sind teilweise aufgrund mechanistischer Vorstellungen oder rein deskriptiv hergeleitet worden. Die Variablen in diesen Formeln repräsentieren die Populationsdichten bzw. Nährstoffkonzentrationen im jeweiligen Lebensraum.

DROOP (1973) entwickelte für die Nährstoffaufnahme der Algen ein Modell, das die zellinterne Nährstoffkonzentration zur Grundlage der spezifischen Nährstoffaufnahmerate macht. Das Modell trifft insbesondere für die mineralischen Nährstoffe der Algen zu (Silizium usw.), bietet aber keinen guten Ansatz für die Betrachtung der Aufnahme organischer Verbindungen (BUTTON, 1985).

1.4.2 Metabolische Verluste und Tod

Metabolische (endogene) Verluste an Zellsubstanz (Veratmung, Exkretion usw.) und Tod der Organismen werden in einfachen Modellen oft vernachlässigt. Insbesondere bei der Betrachtung von Nährstofftransfer und -recycling müssen diese Phänomene jedoch in Modellen berücksichtigt werden. Ein mathematischer Ansatz ist $\frac{dx}{dt} = -\gamma \circ x$, wenn x die Biomassedichte darstellt und γ die spezifische Verlustrate (z.B. für den Grundstoffwechsel eines Organismus). Stellt x dagegen eine Individuendichte dar, so läßt sich die Lysis von Zellen mathematisch beschreiben.

Aufgenommene (organische) Nahrung wird nur teilweise zum Aufbau neuer Zellsubstanz benutzt. Wesentliche Anteile werden dem Energiestoffwechsel zugeführt und letztlich mineralisiert bzw. veratmet. Dem wird in den zitierten mathematischen Ansätzen durch Proportionalitätsfaktoren (Ausbeutekoeffizienten) Rechnung getragen, die die aufgenommene Nahrung in die entsprechende Biomasseausbeute konvertieren. Betrachtet man kurze Zeiträume, so ist dieser Ansatz unzureichend, da nicht davon ausgegangen werden kann, daß die Nahrung augenblicklich in Energie und Biomasse umgesetzt wird (vgl. 1.1.2.1). Ausscheidungen, die parallel zur Nahrungsaufnahme erfolgen, lassen sich ebenso durch Proportionalitätsfaktoren zur Nahrungsaufnahmekinetik erfassen. Ferner können durch den Betriebs- und Baustoffwechsel Produkte entstehen, die die Zellen ausscheiden.

Formel	Graph	Bezeichnung der Freß-und der analogen *Wachstumskinetik* ; (Charakteristik)	Quelle
$u = u_c\ b$; für $b>b_g$ $u=u_{max_c}$		functional response (FR) Holling Typ I; (linearer Anstieg)	WISSEL (1989)
$u = \frac{u_{max_c}\ b}{L + b}$		FR Holling Typ II, *Michaelis-Menten, Monod;* (hyperbolische Funktion)	WISSEL (1989)
$u = \frac{u_{max_c}\ b^n}{L^n + b^n}$; $n>1$		FR Holling Typ III, kooperatives Modell; (sigmoide Funktion)	WISSEL (1989); CUNNINGHAM & NISBET (1973)
$u = \frac{u_{max_c}\ b^2}{(L_1 + b)\ (L_2 + b)}$		*Multiple Saturation Model* (sigmoide Funktion)	JOST *et al.* (1973)
$u = \frac{u_{max_c}\ (b - b_0)}{L + b - b_0}$		*offset-Monod;* (hyperbolische Funktion)	CUNNINGHAM & NISBET (1973)
$u = \frac{u_{max_c}\ \sqrt{b}}{\sqrt{L} + \sqrt{b}}$		*BADER-Funktion;* (stärker ansteigend als die hyperbolische Funktion)	CUNNINGHAM & NISBET (1973)
$u = \frac{u_{max_c}\ b}{L\ c + b}$		(Räuber-abhängige hyperbolische Funktion)	CURDS & COCKBURN (1968)
$u = \frac{u_{max_c}\ b}{c\ (L + b)}$		(Räuber-abhängige hyperbolische Funktion)	ASHBY (1976)

Tab. 1.3: Kinetiken der Nahrungsaufnahme, die für die Beschreibung der Nahrungsaufnahme (bzw. des Wachstums, s. Text) mikrobieller Organismen verwendet wurden. c bezeichnet die jeweils fressende bzw. wachsende Population, b die Nahrungspopulation, u_{max_c}, u_c, L , b_g und b_0 sind Modellkonstanten.

2 Material und Methoden

2.1 Organismen und Stammkulturen

Tetrahymena thermophila 1768 A II; 17. Inzuchtkreuzung des Stammes A (1968), Paarungstyp II; Bruns, Cornell. Zur Verfügung gestellt vom Institut für Tierphysiologie der Universität Gießen, Prof. Jauker.

Tetrahymena thermophila wurde axenisch, verdunkelt, bei Raumtemperatur in Reagenzgläsern mit PPY-Medium (s. 2.3.3) gehalten und nach jeweils 2 Monaten in frisches Medium überimpft.

Escherichia coli DSM 30083, vom Institut für Biotechnologie 3, Dr. Webb, Forschungszentrum Jülich. *E.coli* wurde bei 4°C auf NA I-Standard-Agarplatten (s. 2.3.1) gehalten und alle 2 Monate und vor Versuchen überimpft.

2.2 Sterilität

Medien, Kulturgefäße, Probennehmer und sonstige zum sterilen Arbeiten notwendigen Geräte wurden bei 121°C und 200 kP 15 min autoklaviert. Soweit möglich wurden sterile Arbeiten unter einer Clean-Bench durchgeführt.

2.3 Medien

Stammlösungen wurden bei 4°C aufbewahrt, und die Medien jeweils erst direkt vor dem Verbrauch angesetzt. Die Chemikalien wurden nach Herstellerangaben gelagert.

2.3.1 NA-Agarplatten

für *E.coli*-Stammkulturen und CFU-Bestimmung (s. 2.5.1).

Standard 1-Nährагar (Merck) wurde nach Herstellerangaben angesetzt.

2.3.2 DEF ENDO-Agarplatten

zur Überprüfung auf Kontamination der Versuche.

DEF ENDO-Agar (Merck) wurde nach Herstellerangaben angesetzt. *E.coli* bildet auf diesem Agar metallisch gold-grün glänzende Kolonien. Bei axenischen Versuchen ist die Zahl der Kolonien auf ENDO- und Standard-I-Nährагar gleich.

2.3.3 PPY-Medium

für *Tetrahymena*-Stammkulturen. Die Zusammensetzung ist:

Proteose-Pepton (Merck)	10 g
Hefe-Extrakt (Merck)	1 g
A. dest.	ad 1000 ml .

Das Medium wurde mit 1 N NaOH-Lösung auf pH 7.2 ± 0.1 eingestellt.

2.3.4 BC-Medium

Das BC-Medium ist in den letzten 20 Jahren als Kulturmedium für die Mischkultur von *Tetrahymena*- und *E.coli*-Stämmen entwickelt worden. Es muß in vier Chargen autoklaviert werden, um unerwünschte temperaturabhängige Nebenreaktionen der Komponenten auszuschließen. Die Chargen wurden vor dem Autoklavieren filtriert (0.2 µm Porendurchmesser, Fa. Sartorius Cellulosenitratfilter, Unterdruckfiltration), um zur elektronischen Zellzahlbestimmung Medium mit wenig Fremdpartikeln einsetzen zu können (s. 2.5.2). In Tabelle 2.1 ist die Zusammensetzung des Mediums aufgelistet.

Charge	Komponenten	Endkonz.	Anmerkungen
BC I	KH_2PO_4	0.335 g	
	$K_2HPO_4 . 3 H_2O$	2.19 g	
BC II	$(NH_4)_2SO_4$	1.25 g	
	$MgSO_4 . 7 H_2O$	0.1 g	
	$Na_2MoO_4 . 2 H_2O$	1.0 ml	Stammlsg. à 1 g/l
BC III	NaCl	1.0 ml	Stammlsg. à 10 g/l
	$CaCl_2 . 2 H_2O$	2.0 ml	Stammlsg. à 13.24 g/l
	$Na_2(EDTA).2 H_2O$ $FeCl_3 . 6 H_2O$	1.0 ml	Stammlsg. à 2.8 g/l und 1.0 g/l lichtgeschützt aufbewahrt
BC IV	Glucose . H_2O	0.55 g	
	A.dest.	ad 1000 ml	

Tab. 2.1: Zusammensetzung des BC-Mediums (modifiziert nach SAMBANIS, 1985).

2.4 Kulturtechnik

2.4.1 Versuchskulturen

Bei den Versuchen (Batch) wurden die Organismen in Kulturröhren (2.5 l, 0.3 l oder 0.25 l) kultiviert (GROENEWEG & SOEDER, 1978). Der Aufbau ist in Abbildung 2.1 dargestellt. Begasung und Durchmischung erfolgte über sterile Druckluft (Filter, Fa. Gelmann). Bei Kulturen mit Volumina unter 0.3 l wurden 40 l/h Luft gegen 1.80 m Wassersäule eingeblasen, Kulturen bis 1.5 l Volumen wurden mit 60 l/h belüftet. Das gewährleistete auch bei wachsenden Kulturen eine O_2-Sättigung. Für kurzfristige Versuche (bis 2 Tage) und bei Vorkulturen wurde auf eine Befeuchtung der Zuluft verzichtet, da der Wasseraustrag insgesamt unter 10% lag. Die Abluft wurde über einen Sterilfilter abgeführt. Probennehmer waren über einen VA-Stahlstab und Silikonschläuche mit dem Kulturgefäß verbunden. Durch Ausglühen des Stahlstabes konnte der Probennehmer steril gewechselt werden.

Die Kultivierung erfolgte im Wasserbad bei 25°C. Auf eine Verdunkelung der Kulturen wurde letztlich verzichtet, da sie in Vorversuchen gegenüber der Kultivierung bei künstlichen Raumbeleuchtung keinen Effekt zeigte.

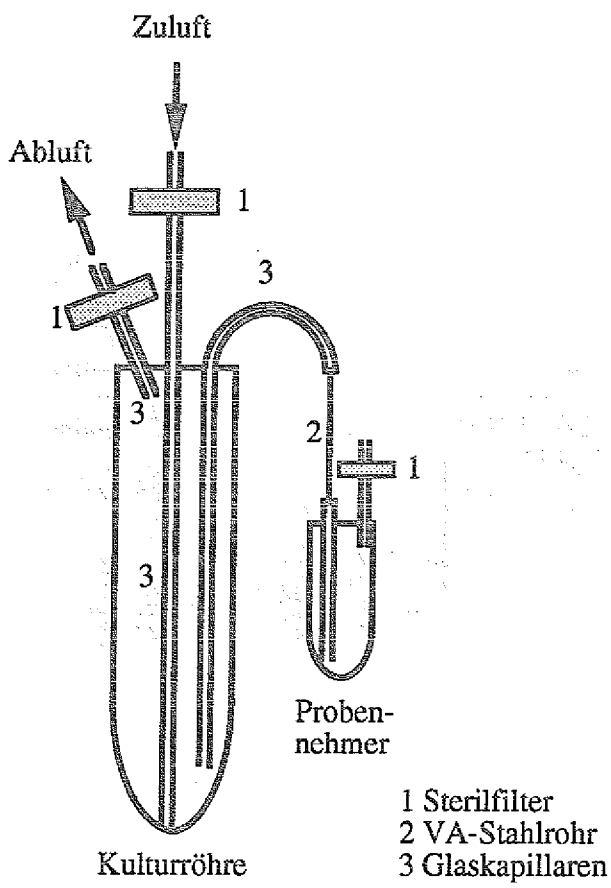


Abb. 2.1: Kultursystem für Batch-Kulturen.

2.4.2 Vorkulturen

Vor den eigentlichen Versuchen wurden die Organismen in Vorkulturen an das BC-Medium bzw. *E.coli* adaptiert.

E.coli-Vorkulturen wurden von den Stammplatten auf ca. 10^{10} Zellen/l in BC-Medium überimpft und ca. 24 h inkubiert. Aus dieser Vorkultur wurde dann das Inokulum für die Versuchskultur entnommen.

Zur Vorkultivierung von *Tetrahymena* auf *E.coli* wurden 1 ml bis 5 ml PPY-Stockkultur in eine vorgezogene *E.coli*-Kultur inokuliert und 24 h inkubiert. Davon wurden 5 ml bis 10 ml in eine vorgezogene E.coli-Kultur überimpft und 24 h inkubiert. Aus dieser Vorkultur wurde dann das Inokulum für den Versuch entnommen.

Die Versuchskulturen, bei denen Ciliaten eingesetzt wurden, wurden mit einer 18-stündigen Vorkultivierung von *E.coli* begonnen und anschließend mit *Tetrahymena* beimpft. Die gewünschten Beutezelldichten wurden über Wahl der Glucosekonzentration im Medium und nach Zellzahlbestimmung in den Vorkulturen eingestellt.

2.4.3 Probennahme und Aufbereitung

Die Probennahme aus einer Kultur erfolgte nach mehrmaligem Befüllen und Rückspülen des Probenahmegefäßes und anschließendem sterilen Austausch des Probennehmers. Die Probenvolumina lagen zwischen 5 ml und 10 ml. Sie wurden direkt nach Probennahme für die verschiedenen Analysen aufgeteilt. 2-3 ml wurden für die DOC- und Glucosebestimmung 0.2 µm filtriert (Cellulosenitrat-Filter, Fa. Sartorius) und bei -20°C gelagert. Die eingesetzten Filter wurden zuvor 3 mal 20 min in A.dest. ausgekocht, um lösliche Kohlenstoffreste aus den Filtern zu entfernen (ca. 5 - 10 µg/Filter).

2.5 Mikrobiologische Grundgrößen

2.5.1 Plattenkeimzahl (CFU)

Neben der elektronischen Partikelzählung der Bakterien wurde die Plattenkeimzahl (CFU, colony forming units) auf Standard 1-Nähragar ermittelt. Dazu wurden Aliquote der Proben so verdünnt, daß etwa 100 bis 300 Kolonien auf den Platten zu erwarten waren. Es wurden 3-fach Bestimmungen durchgeführt.

Die Übereinstimmung von CFU und Partikelzahl im bakteriellen Größenbereich hing von der Wachstumsphase der Kultur ab. In den lag-Phasen des bakteriellen Wachstums wurden Unterschiede bis zu einem Faktor 4 (Partikel:CFU) gemessen. In den folgenden Wachstumsphasen lag der Faktor um 1.25± 0.25.

2.5.2 Elektronische Partikelzählung und Größenanalyse

Sowohl die Bakterien wie die Ciliaten wurden mittels eines elektronischen Partikelanalyzers (Particle Data, Elzone 280 PC) mit gekoppelten Computer (PC, IBM-kompatibel; Fa. Sontag) gezählt und vermessen. Das Meßprinzip beruht darauf, daß Partikel mit hohem elektrischen Widerstand in einer Elektrolytlösung eine Kapillare (Orifice, Apertur) passieren, über die ein konstanter Strom fließt. Dabei ändert sich der Widerstand über die Kapillare (etwa) dem Partikelvolumen entsprechend und erzeugt ein meßbares Spannungssignal (s. ADAMS & GREGG, 1972; GROVER *et al.*, 1969, 1972; KUBITSCHEK, 1969).

Partikelzählung und Aufnahme der Größenverteilung konnten gleichzeitig vorgenommen werden. In die Größenverteilung gingen im Wesentlichen nur der "ideale" Signaltyp, in die Partikelzählung alle Signale des ausgewählten Signalbereichs ein. Größenverteilungen wurden in logarithmischen Größenklassen abgebildet. Das erlaubte es, Partikel, die größer oder kleiner als die Zellen waren, gleichzeitig mit dem Größenspektrum der Organismen zu erfassen (vgl. SAMBANIS 1985). Änderungen der Zellvolumina zwischen zwei Messungen konnten so ohne Änderung der Geräteeinstellung und Zeitverzögerung verfolgt werden.

Das für eine Zählung genutzte Probenvolumen wurde über eine "Volumenmeßstrecke" ermittelt bzw. gesteuert: Quecksilber fließt aus einem Reservoir durch eine Glaskapillare an einer das Zählwerk einschaltenden und einer ausschaltenden Elektrode vorbei. Entsprechend dem Volumenfluß des Quecksilberfadens wird Probenlösung durch das Orifice gesaugt. Eine Erfassung der Laufzeiten ermöglichte die Kontrolle der Zählung auf Verstopfung des Orifice oder andere Störungen.

Die zur Analyse benutzten Elektrolyt- und Verdünnungslösungen wurden zuvor mit 0.1 µm Filter (Millipore) filtriert, um störende Partikel aus den Lösungen zu entfernen. Die Eichung des Geräts erfolgte mit Latexpartikeln bekannter Größe. Um methodische Verfälschungen bei den Zählungen und Aufnahmen der Größenverteilungen zu vermeiden, wurden die Proben soweit verdünnt, daß Koinzidenz bei weniger als 1% der Ereignisse zu erwarten war (nach Herstellerangaben). Damit konnte auf relativ aufwendige Fehlerabschätzungen verzichtet werden (vgl. JAKSCHIK & SCHULZE, 1990 a/b/c).

Bei der Zählung von Bakterien wurde vor der Probenmessung eine Messung mit der Verdünnungsvorlage durchgeführt (Background). So konnten neben Partikeln in der Verdünnungslösung auch elektronische Störungen erfaßt werden, die insbesondere die Zählung kleiner Partikel in der Probe beeinflußten. Dieser Background wurde von der Probenzählung und Größenverteilung anschließend subtrahiert. Bei der Zählung der Ciliaten spielte der Background keine Rolle.

2.5.2.1 *Zählung und Größenverteilung von Bakterien*

Die Analyse von Partikeln bakterieller Größe wurde zunächst nach Literaturangaben durchgeführt (SAMBANIS 1985, DRAKE & TSUCHIYA 1976, JOST *et al.* 1973 a). Die damit zu erreichende Auflösung (unter Einhaltung moderater Stromstärken) war jedoch relativ schlecht. Insbesondere konnten keine exakten Größenverteilungen ermittelt werden.

Die zunächst gewählte Einstellung war: 24 µm Orifice, Probe in 1% NaCl-Lösung verdünnt. Aufgrund vieler Störsignale im unteren Bereich der Größenskala konnten mit der alten Version des Steuerprogramms nur "geschnittene" Verteilungen der Zellgröße ausgewertet werden (Abb. 2.2 a). Die kleinsten Zellen lagen am Rande der Auflösungsgrenze (der optimale Analysebereich für Partikelgrößen liegt zwischen 2 (5) und 60 (80) % des Orificedurchmessers; KUBITSCHEK, 1969; Geräte-Handbuch, Particle-Data). Mit einer neueren, überarbeiteten Software der Herstellerfirma konnten die Größenverteilungen und Zählergebnisse etwas exakter ausgewertet werden, so daß für einige Messungen verwertbare Schätzungen der Zellvolumina möglich waren. Eine leicht verbesserte Auflösung bot der Einsatz einer 3%igen NaCl-Lösung als Elektrolyt und Verdünnung. Die Bakterienzellen schrumpften zwar, aber ihre Größe blieb während der Messung konstant.

Letztendlich wurde ein 18 µm Orifice und 3% NaCl-Lösung verwendet. Damit konnte eine gute Auflösung der Größenverteilung (Abb. 2.2 b) auch für kleinste *E.coli*-Zellen erzielt werden, und zudem die Zählungen rasch durchgeführt werden (ca. 19 s/Zählung). Das analysierte Volumen betrug 20.4 µl pro Zählung. Die Proben wurden so verdünnt, daß zwischen 4000 und 20000 Partikel in 20.4 µl gezählt wurden. Die Reproduzierbarkeit der Zählergebnisse lag über 95%.

Die verschiedenen Einstellungen des Partikelanalyzers ergaben unterschiedliche Ergebnisse in den ermittelten absoluten Zellvolumina für *E.coli*, jedoch änderte sich ihre Verteilung nur unwesentlich (HELLER, 1992). Die Ergebnisse waren also qualitativ gleich. Die Größenverhältnisse bei den verschiedenen Gerätekonfigurationen stellt Tabelle 2.2 dar. Im Folgenden werden die unterschiedlichen Geräteeinstellungen an den entsprechenden Stellen angegeben.

Konfiguration	min. Zellvolumen (μm^3)	max. Zellvolumen (μm^3)
24 µm Orif./ 1% NaCl	< 0.313	0.702
24 µm Orif./ 3% NaCl	< 0.298	0.676
18 µm Orif./ 3% NaCl	0.227	0.596

Tab. 2.2: Gemessene mittlere Zellvolumina von *E.coli* bei unterschiedlichen Einstellungen des Partikelzählgerätes. Näheres s. Text.

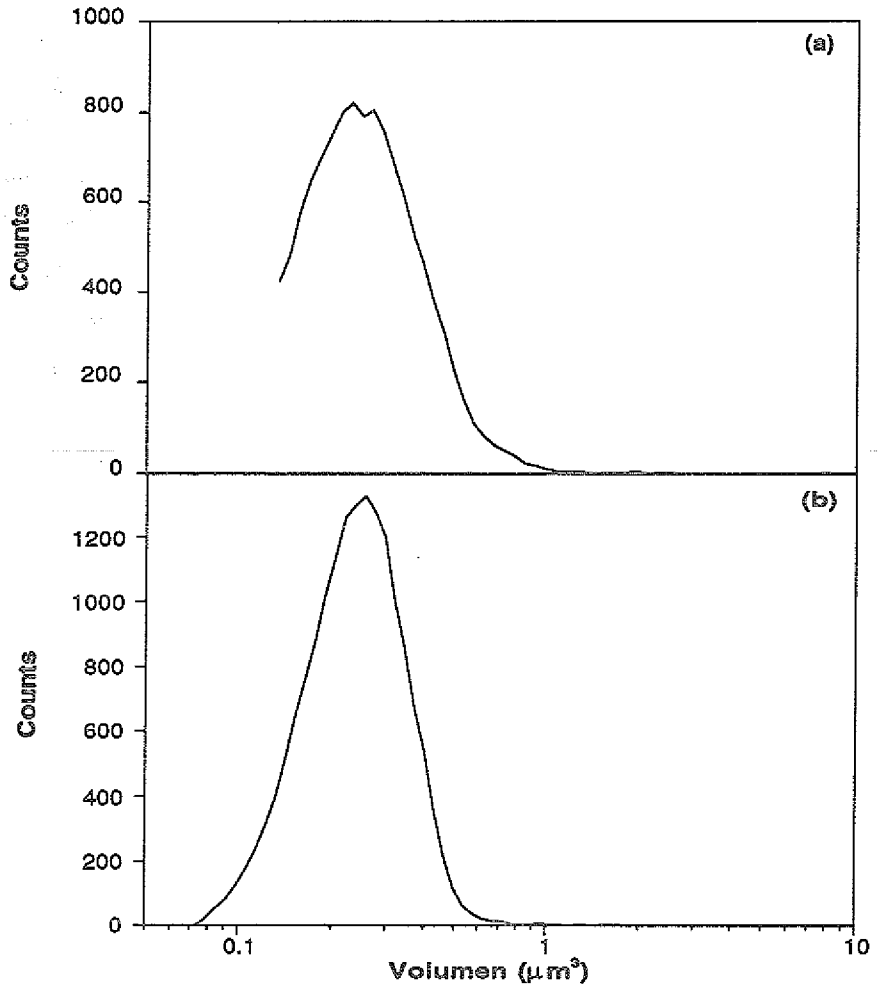


Abb. 2.2: Größenverteilung von *E.coli* bei zwei unterschiedlichen Ausrüstungen und Einstellungen des Partikelanalysators. a) 24 µm Orifice, 1% NaCl-Lösung; b) 18 µm Orifice, 3% NaCl-Lösung. Näheres s. Text.

2.5.2.2 Zählung und Größenverteilung von Tetrahymena thermophila

Die Auszählung und Vermessung der Ciliaten-Zellen konnte ohne Backgroundkorrektur vorgenommen werden, da nur selten Fremdpartikel entsprechender Größe im Elektrolyten auftraten. Es wurde mit einem 95 µm Orifice und 0.25% NaCl-Lösung als Elektrolyt- und Verdünnungslösung gearbeitet. Bei geringen Zelldichten wurden unverdünnte Proben ausgezählt. Angeregt durch die Arbeiten von MORRISON & TOMKINS (1973) und ROBERTS (1980) wurde die einzusetzende Elektrolytkonzentration in Vorversuchen ausgetestet, da schwankende Änderungen der Zellgröße zu erwarten waren. Bei Verdünnung der Probe in 0.25% NaCl-Lösung blieb das meßbare Zellvolumen der Ciliaten über 5 bis 10 min konstant

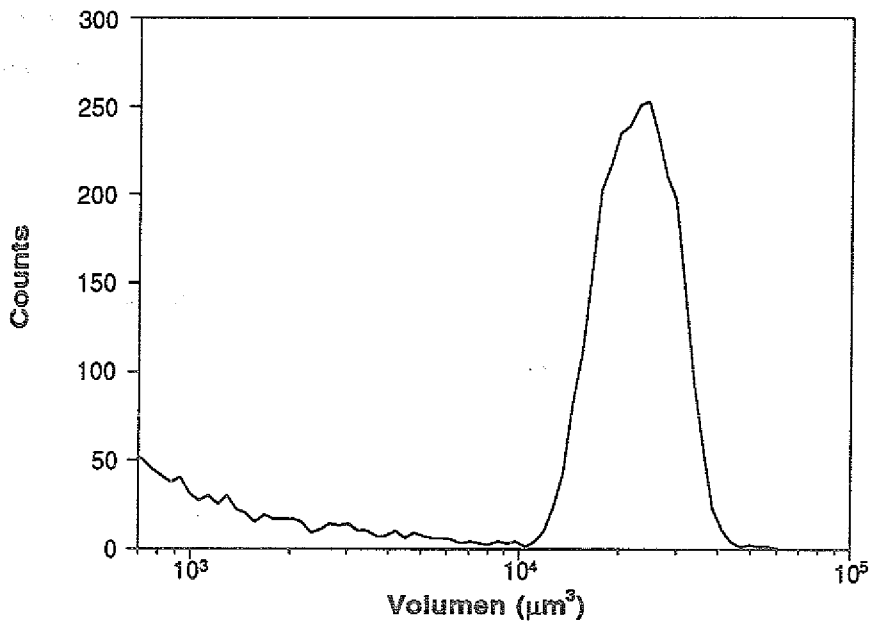


Abb. 2.3: Größenverteilung von *Tetrahymena thermophila* in 0.25% NaCl-Lösung. Gemessen mit einem 95 µm Orifice.

und es war möglich, bei geringen Stromstärken zu messen (Abb. 2.3). Das gemessene Zellvolumen war um 10 - 15 % niedriger als in einer unverdünnten Probe. Da sich das mittlere Zellvolumen von *Tetrahymena* in den Kulturen jedoch um ca. 90 % physiologisch bedingt änderte, ist dieser Fehler akzeptabel.

Bedeutendere Fehler (bis 30%) ergaben sich bei der Zellzählung. Die Ciliaten hatten das Bestreben, im Probengefäß nahe der Oberfläche zu schwimmen. Deshalb wurde die Probe während der Zählung ständig gerührt (Magnetrührer). Insbesondere nach dem Überimpfen in beutereiche Kulturen waren die Zellen aber labil, so daß nur die ersten beiden Zählungen Werte mit geringer Abweichung (< 10%) von einander ergaben. Wieviel Zellen tatsächlich zerstört wurden bzw. wie gut die Probe durchmischt war, ließ sich oft nur im nachhinein abschätzen.

Je Zählung wurden 0.5 ml Probe analysiert, die Meßzeit betrug ca. 14 s. Es wurden die Verdünnungen so gewählt, daß nicht mehr als 3000 Zellen/0.5 ml gezählt und vermessen wurden.

2.5.3 Mikroskopische Analyse

Die Kulturen wurden auf Kontaminationen und zum Vergleich mit den Partikelzählungen mikroskopisch untersucht. Zudem sollte das Schwimmverhalten der Ciliaten mikroskopisch beobachtet werden, um daraus Vergleiche zu ihrem Freßverhalten ziehen zu können. Die Probe (ca. 0.2 - 0.5 ml) wurde auf den Objekträger aufgebracht und ohne Deckglas bei 125-facher Vergrößerung im Dunkelfeld untersucht. Da *Tetrahymena* unter dem Mikroskop rasch das Schwimmverhalten änderte, blieben zur Abschätzung des Bewegungstypus maximal 30 s. Innerhalb dieser Zeit gelang es nicht, mit der zur Verfügung stehenden fotografischen Ausstattung das Bewegungsverhalten zu dokumentieren.

Die Bakterien wurden im Phasenkontrast bei 600-facher Vergrößerung beobachtet. Die mikroskopische Analyse wurde mit einem Mikroskop der Firma Leitz durchgeführt.

2.5.4 Kontrolle der Bakterienkulturen

Zur Kontrolle der Bakterienkulturen auf Kontaminanten bzw. taxonomische Zuordnung des Stammes wurde neben Routineausstrichen auf DEF ENDO-Agar zu Beginn der Arbeiten der Stamm mit einer "Bunten Reihe" (Enterotube II, Roche) und mit "Sensititre" (Fa. Radiometer) auf seine Einordnung überprüft. Es wurde jeweils *E.coli* identifiziert.

2.6 Biochemische Analysen

2.6.1 Glucosebestimmung

Die Glucosebestimmung wurde zur Ermittlung der Wachstumscharakteristika des verwendeten *E.coli*-Stammes und zur Kontrolle auf Glucosereste in den Versuchskulturen eingesetzt.

Glucose wurde mit einem colorimetrisch-enzymatischen Nachweisverfahren gemessen (modifiziert nach HÖFLE, 1981). Der Nachweis beruht auf einer Reaktionskette mit den Enzymen Glucoseoxidase (GOD) und Peroxidase (POD) und dem Chromogen o-Dianisidin-di-hydro-chlorid (DH_2). Die GOD-Reaktion hat eine hohe Substratspezifität, so daß störende Reaktionen mit dem Kulturmedium unbedeutend sind. Die Reaktionsabfolge ist

$$\beta\text{-D-Glucose} + H_2O + O_2 \xrightarrow{GOD} \text{Gluconat} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + DH_2 \xrightarrow{POD} D + 2\,H_2O$$

Phosphat-Puffer (pH 7.0)	
Na_2HPO_4	13.8 g
$Na_2H_2PO_4$	7.26 g
A.dest.	ad 1000 ml
Enzym-Reagenz	
GOD ca. 200 U/mg (Boehringer, 646423)	16.1 mg
POD ca. 200 U/mg (Boehringer, 127361)	7.5 mg
Chloroform	4 Tropfen
Phosphat-Puffer	ad 1000 ml
Chromogen-Reagenz	
o-Dianisidin-di-hydro-chlorid (Sigma)	5 g
A. dest.	ad 1000 ml

Tab. 2.3: Bestandteile des GOD-Reagenz

Das GOD-Reagenz wurde jeweils vor der Messung frisch angesetzt, indem 1 Teil Enzym-Reagenz zu 99 Teilen Chromogen-Reagenz gegeben wurde (Tab. 2.3). Das Enzym-Reagenz war bei 4°C ca. 4 Wochen haltbar.

Zur Messung wurden die gefrorenen filtrierten Proben (s. 2.4.3) aufgetaut und 10 min gekocht, um native Enzyme zu denaturieren. 0.1 bzw. 0.5 ml vorbehandelte Probe wurden zu 2.5 ml GOD-Reagenz gegeben, gemischt, 70 min bei Raumtemperatur inkubiert und danach die Reaktion durch Zugabe von 10 µl konzentrierter Schwefelsäure gestoppt (pH 2). Anschließend wurde die Extinktion bei 405 nm gegen deionisiertes Wasser gemessen (1 cm Glasküvette; Photometer: Uvikon 820, Fa. Kontron). Die Eichung erfolgte mit BC-Medium verschiedener Glucosekonzentration. Die Nachweisgrenze lag bei 0.001 g/l (Doppelbestimmungen).

2.6.2 Bestimmung des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC)

Die Konzentration gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) wurde bei einigen Versuchen bestimmt, um die Ausschüttung autochthoner Substrate durch die Organismen abzuschätzen.

Die Analysen wurden mit einem Xertex/Dohrmann Carbon Analyzer DC 80 durchgeführt. Der Aufschluß des DOC erfolgt über UV-Bestrahlung. Das entstandene CO_2 wird mit einem IR-Detektor (PIR-2000, Fa. Horiba) registriert, und das Ergebnis über einen Integrator ausgedruckt. Die Eichung erfolgte mit Kaliumhydrogenphthalat-Standards (0.4 g/l für Proben-DOC von 0.01 g/l bis 0.8 g/l oder 0.01 g/l für Proben-DOC von 0.001 g/l bis 0.05 g/l). Nach Herstellerangaben sollte eine Einpunkteichung für einen Meßbereich ausreichen. Es stellte sich jedoch heraus, daß die Linearität des IR-Detektors nur kurzzeitig nach Einstellung

durch den Hersteller erhalten blieb. Fortlaufender Betrieb führte zum Teil zu unregelmäßigen Abweichungen (10% bis 20%) von der Linearität. Deshalb wurde bei den Messungen zusätzliche Standards in den DOC-Konzentrationen der Proben mitgemessen, um die Meßwerte entsprechend zu korrigieren.

Die (aufgetauten) filtrierten Proben wurden mit 10 µl konzentrierter Schwefelsäure angesäuert (pH 2) und der anorganische Kohlenstoff ca. 5 min mit Sauerstoff ausgegast. 0.2 ml bzw. 1 ml Probe (Messungen im Bereich von 0.01 g DOC/l bis 0.8 g DOC/l bzw. 0.001 g/l bis 0.05 g/l) wurden mit einer "Unimetrics"-Spritze in einen Trägersubstratstrom (20 g/l Kaliumperoxodisulfat-Lösung, angesäuert mit 1 ml/l konzentrierter Salpetersäure) über 3 s eingespritzt. Mit der Trägerflüssigkeit gelangte die Probe in den UV-Aufschlußreaktor, der mit Sauerstoff begast wurde (2400 hP). Das entstandene CO_2 wurde mit dem Gasstrom über eine Trocknung und Zinkkörner, die der Chloroxidbindung dienen, in den IR-Detektor geleitet. Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt; der Fehler lag unter 2%.

2.7 Methodik zur Trennung von *E.coli* und *Tetrahymena thermophila*

Um das verdeckte Wachstum der *E.coli*-Population bei Anwesenheit fressender Ciliaten darstellen zu können, ist es notwendig, den Räuber zu einem ausgewählten Zeitpunkt aus der Mischkultur zu entfernen. Das folgende Anwachsen der Bakterienpopulation sollte dann Aufschluß über die spezifische Wachstumsrate und bakterienverfügbaren Substratmengen geben.

Ein zunächst einfach erscheinendes Filtrationsverfahren wurde von SAMBANIS (1985) vorgeschlagen. Seine Ergebnisse, eine quantitative Trennung von *Tetrahymena* und *E.coli* ohne offensichtliche qualitative Änderungen des Kulturmediums, konnten jedoch nicht reproduziert werden. Dabei muß angemerkt werden, daß die hier verwendeten Organismen anderen Stämmen angehörten und andere Filter eingesetzt wurden. Ferner wurde bei anderen Zelldichten gearbeitet.

Einfache Überdruck- oder Unterdruckfiltration führte zu umfangreicher Lysis der *Tetrahymena*-Zellen und damit zum Eintrag von Zellinhaltsstoffen ins Filtrat. Dies spiegelte sich in einem 10-fachen Anstieg der Partikeldichte im Filtrat gegenüber dem unfiltrierten Kulturmedium wieder.

Als methodische Alternativen wurden getestet:

- Trennung durch Anlegen eines elektrischen Feldes. (*T. thermophila* besitzt die Eigenschaft, auf die Anode zuzuschwimmen; SLEIGH, 1975)
- Trennung durch Sedimentation-Gravitaxis/Aerotaxis.
- Trennung mit einer zweistufigen Filtrationskolonne aus Satorius-Filtrationseinheiten mit einem ersten 5 µm Filter (Cellulosenitrat; Sartorius) und einem zweiten 3 µm Filter nur unter Ausnutzung des hydrostatischen Drucks der aufgegebenen Kultursuspension.

Die erste Alternative konnte rasch verworfen werden, da der elektrische Strom zur Zersetzung des Mediums führte.

Bei Untersuchung der zweiten Alternative wurde die Probe einer Kultur in einen 100 ml Scheidetrichter überführt und 15 min bzw. 30 min stehengelassen. Anschließend wurden aus dem Scheidetrichter Proben à 10 ml in Reagenzgläser abgefüllt und ausgezählt. Das Ergebnis für 15 minütiges Stehenlassen ist in der Abbildung 2.4 dargestellt. Es wurde nur eine unzureichende Trennung erzielt. Die DOC-Werte der einzelnen Fraktionen lagen zwischen 0.055 g/l und 0.07 g/l und zeigten keine Tendenz über die Fraktionen. Der 30-minütige Testansatz ergab eine schlechtere Trennung.

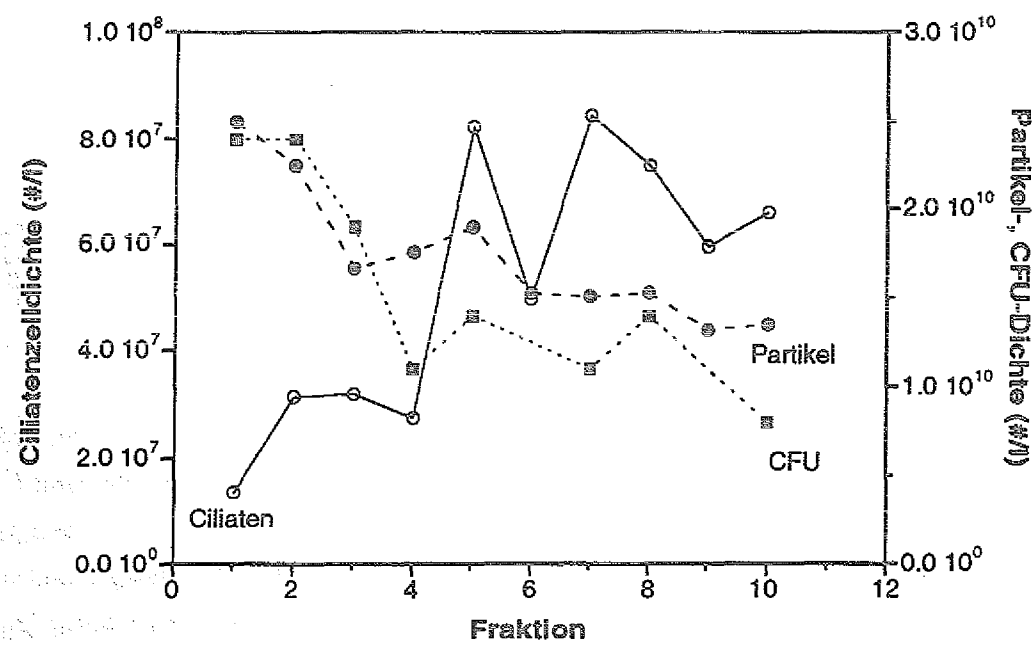


Abb. 2.4: Trennung von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* durch Gravitaxis/Aerotaxis (15 min. im Scheidetrichter). Fraktionsvolumen 10 ml.

Bei der Untersuchung der dritten Alternative war es notwendig, eine zweistufige Filtration vorzunehmen. Die alleinige Verwendung eines 3 µm-Filters war ausgeschlossen, da dieser bei höheren Zelldichten rasch verstopfte und der hydrostatische Druck nicht ausreichte, die Filtration durchzuführen. Die alleinige Verwendung eines 5 µm-Filters war ebenfalls ausgeschlossen, da einige *Tetrahymena*-Zellen den Filter passieren konnten. Deshalb wurde die Filtration letztlich mit einer Filtrationskolonne durchgeführt.

Das Versuchsergebnis stellt Abbildung 2.5 dar.

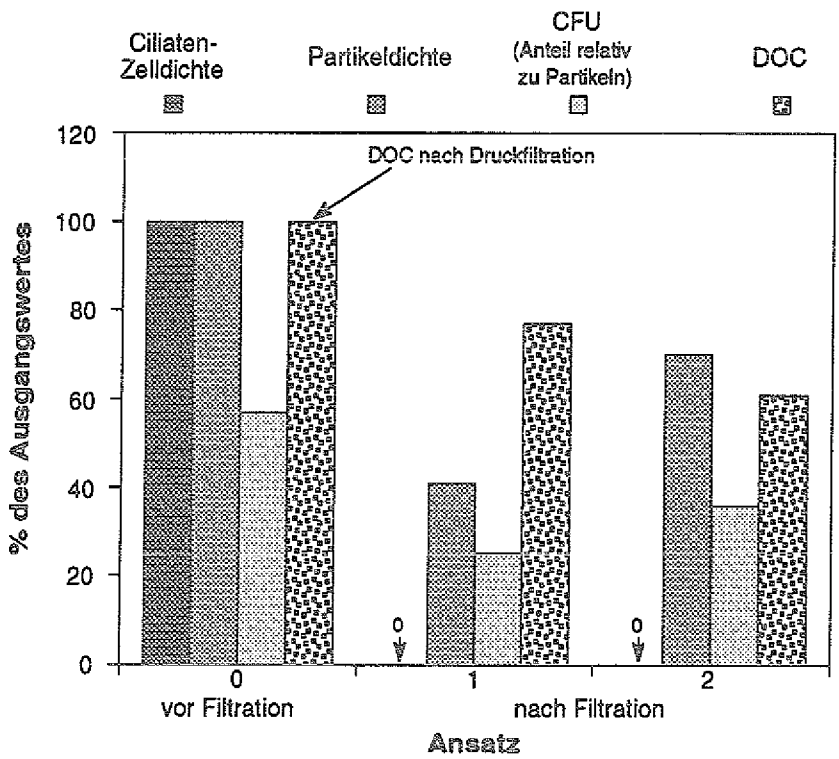


Abb. 2.5: Trennung von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* aus einer Mischkultur durch Filtration. Probe 0 gibt die Anzahl an Zellen und Partikeln in der Kultur vor der Filtration sowie den DOC nach Druckfiltration (0.2 µm) an. Probe 1 und 2 kennzeichnen parallele Filtrationsversuche. Die CFUs sind als prozentuale Einheiten gegenüber der Partikeldichte in Probe 0 angegeben.

Einerseits ist ersichtlich, daß es hierbei gelungen ist, *Tetrahymena*-Zellen aus dem Medium zu entfernen. Andererseits verringert sich jedoch auch die Dichte der Partikel und CFU im Filtrat. Bakterien werden also auf dem Filter ebenfalls zurückgehalten. Hinzu kommt, daß sich auch das Verhältnis von Partikel zu CFU verschob (Abb. 2.5, vgl. Ansatz 1 und 2). Dies kann auf Partikeleintrag durch Lysis der Ciliaten hindeuten. Es konnte jedoch keine Zunahme an Partikel im Filtrat nachgewiesen werden. Auch zeigte der DOC-Wert nach Druckfiltration deutlich höhere Werte (Abb. 2.5, Ansatz 0) als bei schonendem Verfahren (Abb. 2.5, Ansätze 1 und 2).

Die Methode ist die schonendste und effektvollste bei der Abtrennung von *Tetrahymena*-Zellen aus einer Kultur. Die Ciliaten wurden quantitativ aus dem Medium entfernt, und die Wachstumsrate der Bakterien läßt sich trotz der eingetretenen Bakterienverluste schätzen. Eine Überschätzung von bakteriell verfügbaren Substratmengen und Wachstumsraten kann jedoch nicht ausgeschlossen werden.

2.8 Computergestützte Auswertung und Modellierung

2.8.1 Anpassen mathematischer Funktionen an Meßdaten

Funktionen wurden mit dem Programm "KaleidaGraph" (Vers. 2.1.2, Adelbeck Software) über die Methode der kleinsten Fehlerquadrate an Meßdaten angepaßt. Als Kriterium für die Güte der Anpassung einer Funktion wurde die Summe der Fehlerquadrate (RSS) benutzt.

2.8.2 Simulationen

Rechnergestützte Simulationen und Sensitivitätsanalysen wurden mit dem Programm "STELLA II"(Version 1.02, High Performance Systems) durchgeführt. Die Eingabe eines Differentialgleichungsmodells erfolgte über graphische Symbole, die stellvertretend für die mathematischen Größen die Beziehung der Komponenten untereinander definierten. Gleichzeitig wird im Hintergrund eine mathematisch formulierte Auflistung der Größen generiert.

Die Simulation lief nach einer auswählbaren Iterationsmethode (Euler, Runga-Kutta 2. oder 4. Ordnung) und mit vorwählbaren Iterationsschritten ab. Das Ergebnis kann tabellarisch und graphisch ausgegeben werden.

3 Wachstum von *E.coli*

Dieses Kapitel behandelt Versuche zum Wachstum von *E.coli* unter den von mir gewählten Bedingungen. Zunächst wird das Wachstum von *E.coli* auf Glucose als limitierendem, allochthonen Nährstoff untersucht (3.1-3). Damit lassen sich Vergleichsdaten zu Literaturangaben von anderen Stämmen ermitteln, und es können Hinweise auf Wachstumsprozesse erarbeitet werden, die bei der Kultivierung und Modellierung von Räuber-Beute-Systemen mit allochthonen Substraten relevant sind (s. 5.5). In Kapitel 3.3 wird untersucht, ob bei der Kultivierung toxische Substanzen produziert werden. Die Kapitel 3.4 und 3.5 widmen sich der Frage, ob und in welchem Umfang autochthone Substrate von den Organismen (*E.coli* und *Tetrahymena thermophila*) freigesetzt und durch die Bakterien verwertet werden. Abschließend werden die Ergebnisse diskutiert (3.6).

3.1 Wachstum von *E.coli* auf Glucose

E.coli-Kulturen wurden, wie in Kapitel 2.4 erwähnt, auf Glucose als limitierender Kohlenstoffquelle (C-Quelle) vorkultiviert. Das Inokulum für diese Versuche entstammte jeweils einer Kultur in der frühen stationären Wachstumsphase.

3.1.1 Wachstumskinetik

Glucose, in vielen Versuchen standardmäßig eingesetzt, erzeugt komplexe Wachstumsphänomene bei Bakterien. Es ist bekannt, daß bei hohen Glucosekonzentrationen (> 10 g/l) eine Substrathemmung und daß bei überschüssigen C-Quellen eine Produkthemmung (über pH) durch ausgeschiedene Ketosäuren auftreten kann (BERGTER, 1983). Das verwendete Medium schließt diese beiden negativen Effekte aus: Die Glucosekonzentration liegt mit maximal 0.52 g/l deutlich unter der genannten Schwelle, und das Medium ist hinreichend stark gepuffert, so daß der pH-Wert in den Versuchen nur zwischen pH 7.0 und pH 7.2 schwankte.

Beim Einsatz geringer Glucosemengen (< 0.001 g/l) führen diffuse, allochthone C-Quellen zur Beeinflussung der Bestimmung der Wachstumsraten auf Glucose. SAMBANIS (1985) hat dieses Problem bereits beschrieben und diskutiert. So zeigen die Wachstumskurven der Kontrolle (0 g Glc/l, Abb. 3.1 a-b, Tab 3.1) ein deutliches Teilungs- und Biovolumenwachstum an (Biovolumen = mittleres Zellvolumen • Zelldichte). Die DOC-Werte beim Start der Kulturen deuten ebenfalls auf diffuse C-Quellen hin (Abb. 3.1 d). Der im Medium enthaltene Chelator EDTA hat daran nur einen geringen Anteil ($9 \cdot 10^{-4}$ g/l).

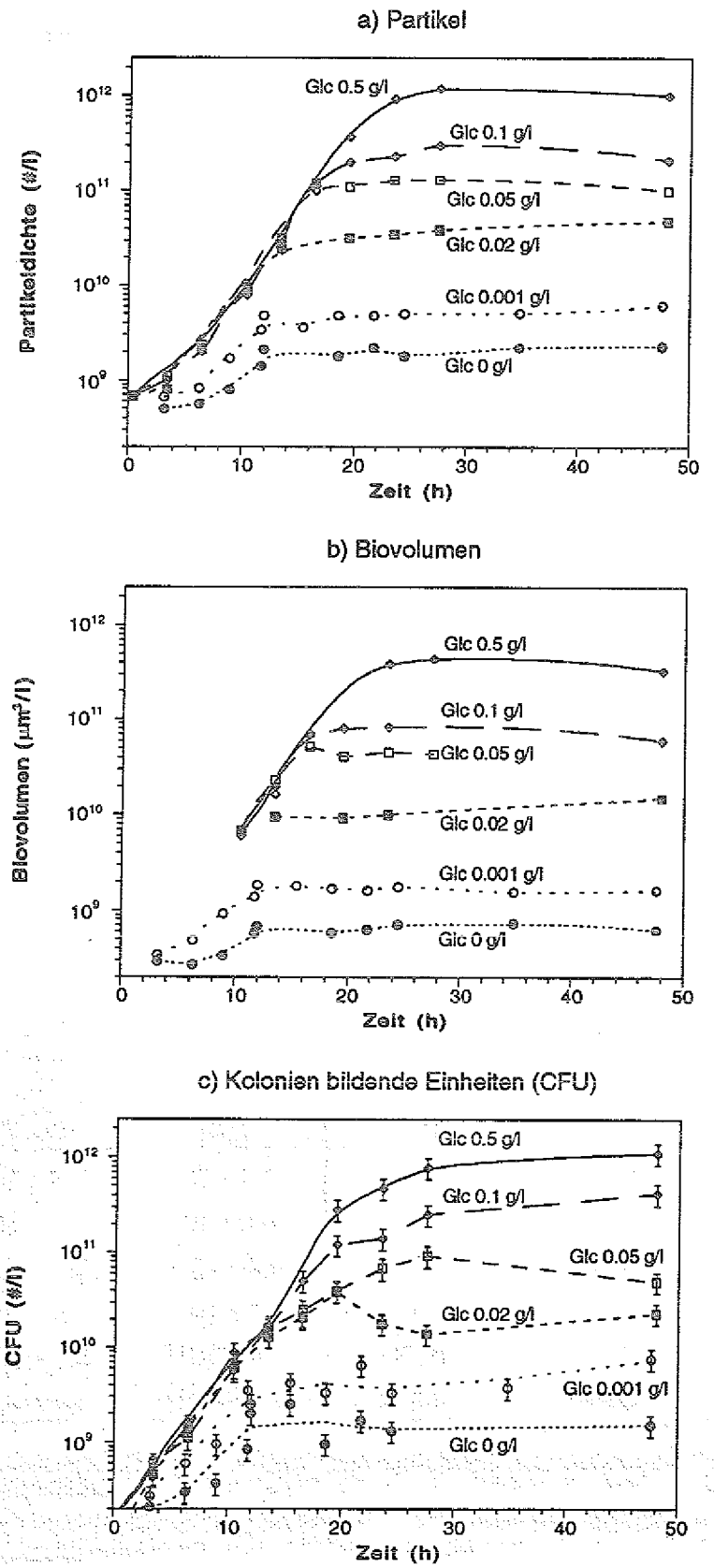


Abb. 3.1 a-c:
Batch-Versuche zur Wachstumskinetik von E.coli auf Glucose (Startkonz. s. Grafik). Gemessene Parameter:
Partikeldichte,
Biovolumen,
CFU.
(Die Bestimmung der Partikelzahl und -volumina erfolgte mit einem 24 µm Orifice in 1% NaCl-Lösung; s. 2.5.2.1)

d) Gelöster organischer Kohlenstoff

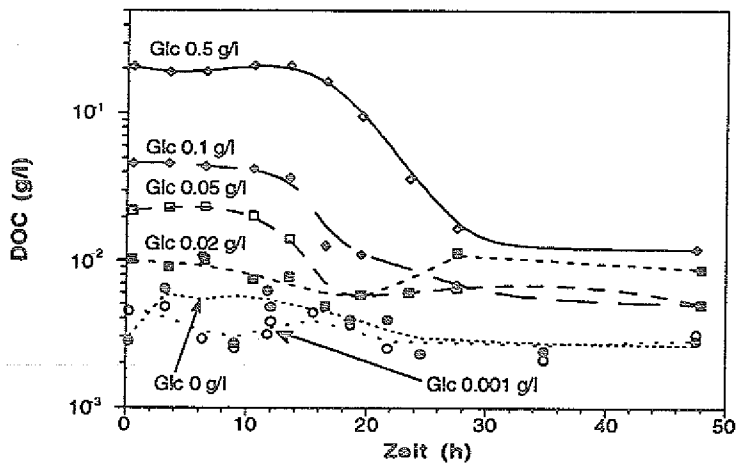
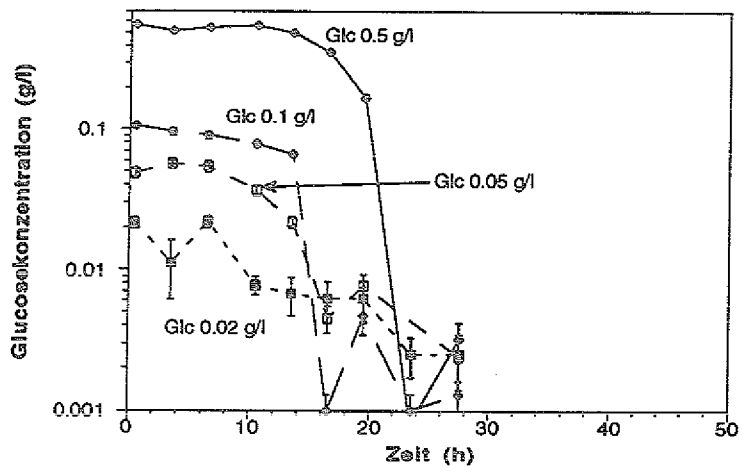


Abb. 3.1 d-e: Batch-Versuche zur Wachstumskinetik von E.coli auf Glucose (Startkonz. s. Grafik). Gemessene Parameter:

DOC

Glucose-Konzentration.

e) Glucose



Glucose (g/l)	DOC (g/l)	μ_{effN} (h^{-1})	μ_{effNv} (h^{-1})	E_N (#/l)	E_{Nv} ($\mu m^3/l$)
0	0.0028	0.208	0.217	$2.2 \cdot 10^9$	$7.2 \cdot 10^8$
0.001	0.0045	0.289	0.198	$6.0 \cdot 10^9$	$1.8 \cdot 10^9$
0.021	0.0102	0.335	-	$4.8 \cdot 10^{10}$	$1.5 \cdot 10^{10}$
0.053	0.023	0.339	0.337	$1.3 \cdot 10^{11}$	$4.5 \cdot 10^{10}$
0.105	0.0458	0.341	0.385	$3.0 \cdot 10^{11}$	$8.1 \cdot 10^{10}$
0.520	0.210	0.347	0.410	$1.3 \cdot 10^{12}$	$4.4 \cdot 10^{11}$

Tab. 3.1: Spezifische Nettowachstumsraten und Zellerträge nach Abb. 3.1 a-b: Für Glucose und DOC sind jeweils die gemessenen Startwerte angegeben. μ_{effN} = spezifische Nettoteilungsrate, μ_{effNv} = spezifische Netto-Biovolumenwachstumsrate (soweit berechenbar, s. Text), E_N = Netto-Zellzahlertrag, E_{Nv} = Netto-Biovolumenertrag (je beim Maximum der Zell- bzw. Biovolumendichte).

Der Eintrag von Substraten aus den Vorkulturen kann aufgrund der 1000-fachen Verdünnung vernachlässigt werden. Die Verwendung gesondert gereinigter Glasgeräte bei einem Kontrollversuch hatte auf diese Beobachtungen keinen Einfluß.

Aus den Versuchen, die in den Abbildungen 3.1 a-e dargestellt sind, wurden die Parameter der Wachstumskinetik für *E.coli* auf Glucose ermittelt und tabelliert (Tab. 3.1: spezifische Nettowachstumsraten, Erträge; Tab. 3.2: alle extrahierten Wachstumsparameter). Die Werte für Berechnungen mit CFU-Daten sind nicht aufgeführt, da ihre Streuung relativ groß ist, und sie keine Unterschiede zu den auf Partikel gestützten Daten lieferten.

Parameter	Teilungswachstum	Biovolumenwachstum
Monod-Kinetik		
μ_{max} (h^{-1})	0.342 ± 0.002	0.424 ± 0.010
K (g/l)	$(1.8 \pm 0.18) \cdot 10^{-4}$	0.013 ± 0.044
RSS	$4.6 \cdot 10^{-5}$	0.048
sigmoide Kinetik		
μ_{max} (h^{-1})	0.341 ± 0.003	0.409 ± 0.003
K (g/l)	$(4.2 \pm 0.25) \cdot 10^{-4}$	0.025 ± 0.041
RSS	$7.3 \cdot 10^{-5}$	0.047
Offset-Monod-Kinetik		
μ_{max} (h^{-1})	0.134 ± 0.004	0.224 ± 0.022
μ_0 (h^{-1})	0.209 ± 0.005	0.204 ± 0.012
K (g/l)	$(6.7 \pm 0.83) \cdot 10^{-4}$	0.033 ± 0.013
RSS	$3.7 \cdot 10^{-5}$	$4.9 \cdot 10^{-4}$
sigmoide Offset-Kinetik		
μ_{max} (h^{-1})	0.133 ± 0.005	0.204 ± 0.011
μ_0 (h^{-1})	0.208 ± 0.005	0.207 ± 0.007
K (g/l)	$(8.0 \pm 0.65) \cdot 10^{-4}$	0.040 ± 0.005
RSS	$7.2 \cdot 10^{-5}$	$1.8 \cdot 10^{-4}$
hochaffine Monod-Kinetik		
μ_{max} (h^{-1})		(0.206)
K (g/l)		(0.0009 - 0.0018) *)
γ (h^{-1})	0.001	0.008 ± 0.006
Y (#/g)	$(2.51 \pm 0.26) \cdot 10^{12}$	
(μm^3/g)		$(7.92 \pm 0.71) \cdot 10^{11}$

Tab. 3.2: Parameter des Wachstums von *E.coli* auf Glucose. μmax und K = maximale spezifische Wachstumsrate und Halbsättigungskonstante der Kinetiken, γ= spezifische Verlustrate (Lysis, Metabolismus), Y = Ertragskoeffizient "Yield" ; *) : Literaturwerte; Counter - Messung mit 24 µm Kapillare in 1% NaCl-Lösung).

Für die Berechnung der Wachstumskinetiken wurden die durch Regression an die exponentielle Wachstumsphase ermittelten spezifischen Nettowachstumsraten benutzt. Den spezifischen Wachstumsraten wurde eine Monod- und eine sigmoide Kinetik (mit und ohne Offset) angepaßt (vgl. Tab. 1.4):

$$\mu = \frac{\mu_{max}\, s}{K + s} + \mu_0 \quad \text{und} \quad \mu = \frac{\mu_{max}\, s^2}{K + s^2} + \mu_0 ,$$

bzw.

$$\mu = \frac{\mu_{max}\, s}{K + s} \quad \text{und} \quad \mu = \frac{\mu_{max}\, s^2}{K + s^2} ,$$

wobei s für die Glucosekonzentration steht und μ die spezifischen Wachstumsraten kennzeichnet.

Die Einführung eines Offset-Wertes (μ_0) der spezifischen Wachstumsrate ermöglicht die Einbeziehung aller aus den Versuchen abgeleiteten Werte in die Berechnung (Summe der Fehlerquadrate = RSS < 10^{-3}). Sie kann damit begründet werden, daß sich zumindest in den Versuchen ohne und mit geringen Mengen Glucose das Wachstum auf diffusen C-Quellen und Glucose addiert und/oder ein hochaffines Aufnahmesystem für Glucose induziert war.

Um eine befriedigende Kurvenanpassung ohne Offset zu erhalten, mußten die Werte für die Versuche mit 0 g Glc/l vernachlässigt werden, so daß für die Teilungskinetiken RSS-Werte von unter 10^{-3} erreicht wurden. Die Qualität der Kurvenanpassungen von Monod- und sigmoider

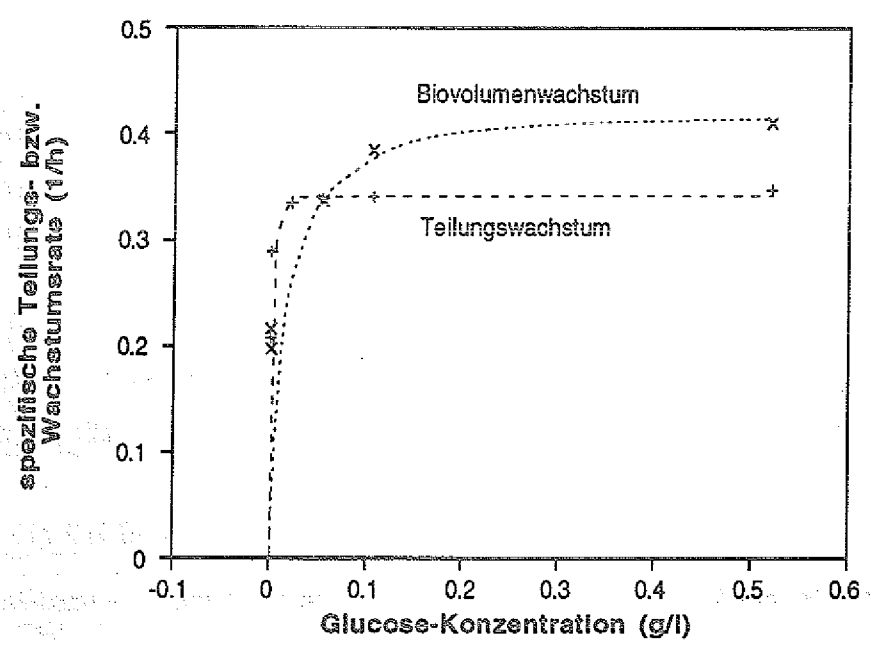


Abb. 3.2: Meßwerte aus Tabelle 3.1 mit nichtlinearen Kurvenanpassungen von Monod-Kinetiken (Tab. 3.2) an die Teilungs- und Biovolumenwachstumsraten.

Kinetik ist gleichwertig, jedoch kann dieser Unterschied dynamische Konsequenzen haben (PAVLOU, 1985; DRAKE & TSUCHIYA, 1976; JOST *et al.*, 1973 a), so daß er an dieser Stelle auch berücksichtigt werden soll.

Die Werte der Halbsättigungskonstanten (K; Tab. 3.2) zeigen Unterschiede in der Affinität der Teilungs- und der Biovolumenwachstumskinetik an (Abb. 3.2). So scheint die Teilungskinetik generell einen niedrigen K-Wert zu besitzen. Für das Biovolumenwachstum ist die Unterscheidung hoch- und niedrig affiner Kinetiken möglich, was von verschiedenen Autoren gefordert wurde (TEMPEST & NEIJSSEL, 1978; HÖFLE, 1981; CHESBRO *et al.*, 1979).

3.1.2 Freisetzung von DOC beim Wachstum auf Glucose

Die Daten, die die Grundlage der bisher zur Wachstumskinetik gemachten Aussagen bilden, sind mit den üblichen Verfahren ausgewertet worden (Regression an den exponentiellen Teil der Wachstumskurven zur Bestimmung der spezifischen Wachstumsraten). Daß dieses im vorliegenden Fall kritisch ist, verdeutlicht die gerichtete Änderung der spezifischen Wachstumsraten über jedem Meßintervall (Abb. 3.3). Im Gegensatz zu der Annahme, daß die spezifische Teilungsrate in der exponentiellen Wachstumsphase hinreichend konstant ist, läßt sich dies zumindest für die drei Versuche mit hohen Glucosekonzentrationen nicht bestätigen. Ähnliches gilt wahrscheinlich auch für das Biovolumenwachstum, zu dem aber keine hinreichend genaue Daten vorliegen (s. 2.5.2.1).

Die Kulturen niedriger Glucosekonzentrationen erreichten in kürzerer Zeit ihre maximalen spezifischen Teilungsraten als Kulturen mit höheren Glucosekonzentrationen. Parallel zum Anstieg der Teilungsraten erfolgte die Zunahme von DOC, der nicht äquivalent zur gemessenen Glucosekonzentration war. Anteilmäßig zum Start-DOC war im Ansatz mit nominal 0.02 g Glc/l die höchste Nicht-Glucose-DOC-Konzentration nachzuweisen; absolut verhielten sich die Nicht-Glucose-DOC-Konzentrationen etwa der eingesetzten Glucosekonzentration entsprechend (Tab. 3.3).

Start-Glucose-Konzentration (g/l)	max. autochthoner DOC (g/l)
0.021	0.005
0.058	0.005
0.105	0.008
0.52	0.036

Tab. 3.3: Maximale Konzentrationen des autochthonen DOC in Batch-Kulturen beim Wachstum von *E.coli* auf Glucose.

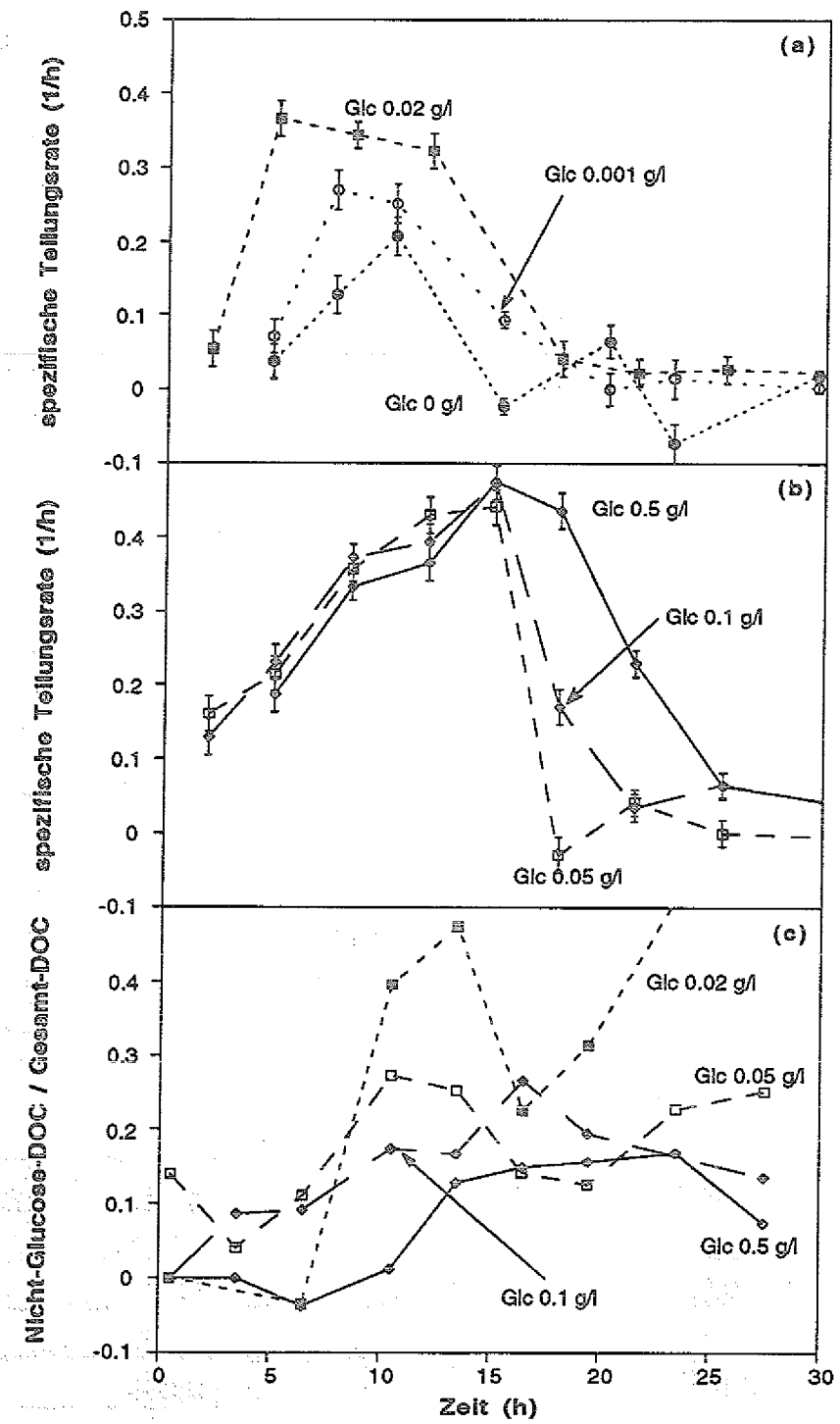


Abb. 3.3: Wachstum von *E.coli* auf Glucose. Zeitlicher Verlauf der spezifische Teilungsraten und des Nicht-Glucose-DOC-Anteils. Vgl. Abb. 3.1 a-e. Die Kurven sind mit den zugehörigen nominalen Startkonzentrationen an Glucose gekennzeichnet.

Dieser autochthone DOC war zumindest teilweise für die Bakterien wiederverwertbar, da die Konzentration ein erstes Maximum bei ca. 10 h Versuchsdauer durchlief. Die rechnerisch nicht der Glucose oder der Startkonzentration zuzuschreibenden DOC-Anteile müssen letztlich aus dem Glucosemetabolismus oder der Lysis von *E.coli* stammen. Mögliche Entstehungs- und Umsetzungsprozesse und Kinetiken werden im Kapitel 3.6.1-3 diskutiert.

Die physiologische Wechselwirkung dieses autochthonen DOCs mit der Glucose läßt sich nicht eindeutig beschreiben. Es wurden hohe Teilungsraten bei hohen Konzentrationen des autochthonen DOCs ermittelt. Bei niedrigen Glucosekonzentrationen und niedrigen Konzentrationen des Nicht-Glucose-DOCs wurden die jeweils möglichen maximalen Teilungsraten hingegen schneller erreicht. Es ist daher schwierig, eine für Glucose spezifische Wachstumsrate oder Kinetik zu definieren. Neben dem zuvor eingeschlagenen Weg könnte auch die Berücksichtigung der maximalen Wachstumsraten begründet sein. Es ergäben sich höhere spezifische Wachstumsraten und eine Angleichung der Werte der Halbsättigungskonstanten von Teilungs- und Biovolumenwachstumskinetiken. Nach den Ergebnissen rechnergestützter Simulationen (s. Kap. 3.6) erscheint die hier ausführlich dargestellte Auswertung jedoch als sinnvoller.

Neben der Korrelation von Wachstumsparametern zur eingesetzten Glucosekonzentration wurden auch Korrelationen zur mittleren Glucose- und DOC-Konzentration im Meßintervall der jeweils höchsten spezifischen Wachstumsraten ermittelt. Die Ergebnisse zeigten aber keine bedeutenden Unterschiede zu den bisher gemachten Angaben.

Alle hergeleiteten kinetischen Werte für das Wachstum von *E.coli* auf Glucose decken sich mit Literaturangaben (SAMBANIS, 1985; TEMPEST & NEIJSSEL, 1978; VILLARREAL *et al.*, 1976; JOST *et al.*, 1973; u.a.).

Im weiteren Verlauf der Kultivierung, nach dem ersten DOC-Maximum und nach Verbrauch der Glucose, ist weiterhin DOC nachweisbar (Abb. 3.1 d-e; 3.3 c), der ebenfalls ein autochthones C-Reservoir darstellt. Da dieses DOC-Niveau in den Kulturen langfristig bestehen bleibt, kann vermutet werden, daß nur geringe Anteile davon unmittelbar für die Bakterien verfügbar sind. Kapitel 3.4 widmet sich der Wiederverwertbarkeit dieser Auscheidungsprodukte.

3.2 Heterogenität in *E.coli*-Kulturen, "autokatalytisches Wachstum"

Im Anhang C wird darauf hingewiesen, daß und wie suboptimale Durchmischung von Laborkulturen kinetische Experimente verfälschen kann. Entsprechend dem dort vorgestellten Verfahren sollte die Heterogenität in den Kulturröhren (0.3 l) überprüft werden. Dazu wurden aus einer früh-stationären Kultur per Zentrifugation (7500 rpm; 15 min) die *E.coli*-Zellen geerntet, in BC-Medium mit 1g Glucose/l auf $4 \cdot 10^{12}$ Zellen/l resuspendiert und davon fünf Versuchskulturen (BC-Medium mit 1g Glc/l) auf verschiedene Zelldichten angeimpft. Aus den Zelldichten und Zellvolumenbestimmungen (Abb. 3.4; Counter-Messungen mit 18 µm Orifice, in 3% NaCl-Lösung) wurden die in Tabelle 3.4 aufgelisteten spezifischen Wachstumsraten errechnet.

Zelldichte (#/l)	μ_N (1/h)	Biovolumen (μm^3/l)	μ_{Nv} (1/h)	Meßpunkte
$1.3 \cdot 10^9$	0.311	$6.3 \cdot 10^8$	0.311	2 - 4
$6.8 \cdot 10^9$	0.345	$3.6 \cdot 10^9$	0.355	2 - 4
$6.3 \cdot 10^{10}$	0.399	$3.6 \cdot 10^{10}$	0.411	2 - 4
$3.0 \cdot 10^{11}$	0.320	$1.4 \cdot 10^{11}$	0.361	2 - 4
$7.4 \cdot 10^{11}$	0.323	$3.9 \cdot 10^{11}$	0.342	2 , 3

Tab. 3.4: Spezifische Teilungs- (μ_N)und Biovolumenwachstumsraten (μ_{Nv}) in Abhängigkeit von der mittleren Zelldichte bzw. vom mittleren Biovolumen des Meßintervalls. (Glucosekonzentration bei Start: 1 g/l)

Ein Optimum der Wachstumsrate im Ansatz mit $6.3 \cdot 10^{10}$ Zellen/l ist deutlich für das Teilungs- und für das Biovolumenwachstum ausgeprägt. Ebenso zeigt das Zellvolumen ein Optimum in der Kultur mit den höchsten spezifischen Wachstumsraten. Damit läßt sich die hergeleitete Formel (s.Anhang C.1, Formel C.9.1) zur Abschätzung der Homogenität nicht anwenden.

Wie ist die scheinbare Autokatalyse des bakteriellen Wachstums zu erklären? Wie bereits erwähnt, scheidet *E.coli* beim Wachstum auf Glucose Substanzen aus (s. Kap. 3.1.2). Zumindest teilweise stehen diese Substanzen allen Organismen als Nahrungsreserve zur Verfügung. Je mehr Bakterien in der Kultur sind, desto höher sind der Substrateintrag und Umsatz. Analog weisen die Ergebnisse der DOC-Bilanz in Kapitel 3.1.2 auf diesen Zusammenhang hin. Man kann sich vorstellen, daß im Fall dieses Versuchs Adaptation, Exkretion und Heterogenität der Kultursuspension zusammenwirkten. Die Bedingungen, unter denen man ein solches Resultat erwarten kann, werden anhand von Simulationen im Kapitel 3.6.3 dargestellt.

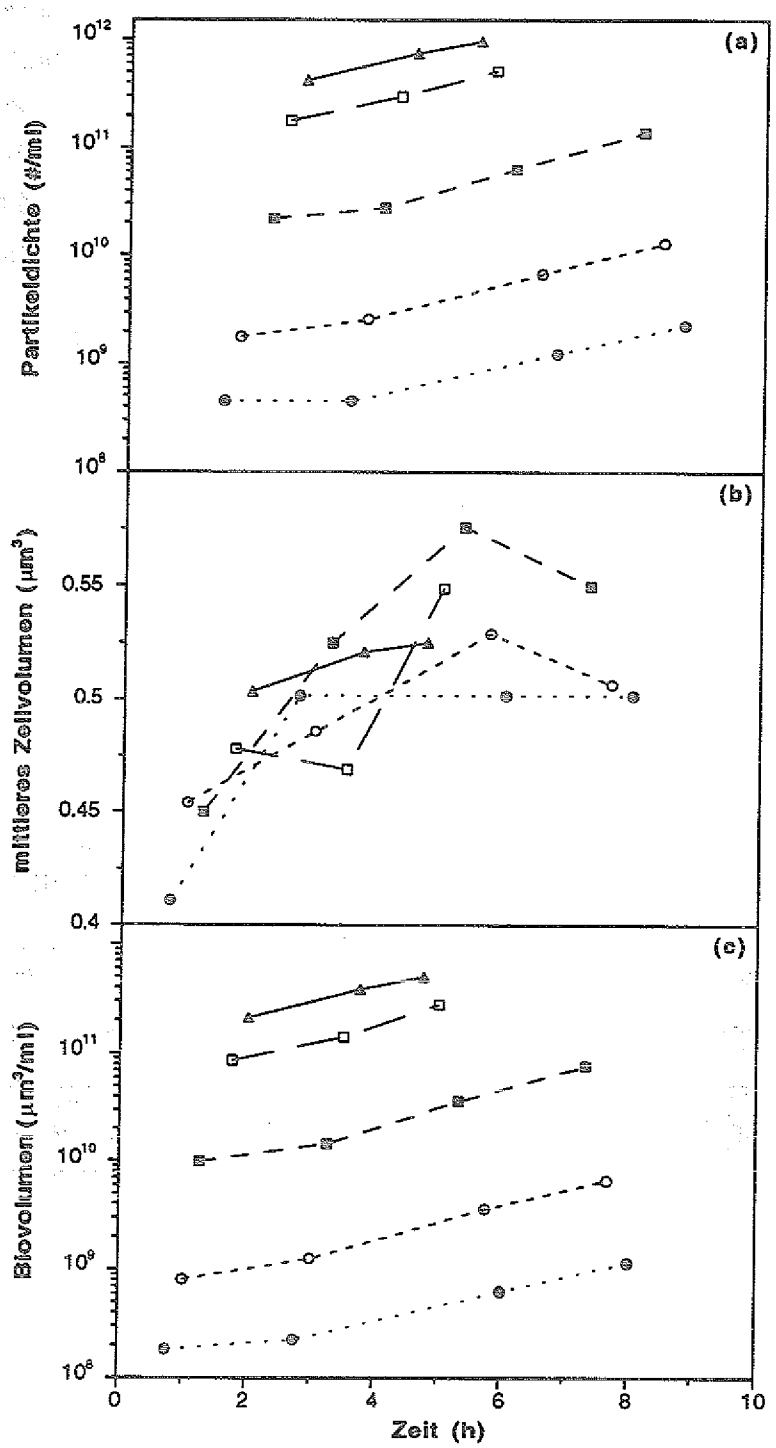


Abb. 3.4: Wachstum von E.coli auf BC-Medium mit 1 g Glc/l und bei verschiedenen Startzelldichten. (Das Zellvolumen wurde mit einem 18 µm Orifice und 3% NaCl-Lösung bestimmt.)

3.3 Wachstum von *E.coli* im konditionierten Medium

Substratausscheidungen der Bakterien wurden bereits mehrfach erwähnt. Gerade bei Enterobacteriaceen muß jedoch auch mit Ausscheidung von Toxinen gerechnet werden, die das Wachstum ebenfalls beeinflussen. Für diesen Versuch wurden die *E.coli* -Zellen einer spät logarithmischen Kultur per Zentrifugation und Filtration (0.2 µm) aus dem Medium entfernt. Das zellfreie Filtrat wurde erneut mit Glucose angereichert (0.02 l Glucose-Lösung auf 0.250 l), so daß die übliche Glucose-Endkonzentration von 0.5 g/l erreicht wurde. Parallel dazu wurde eine Kulturröhre (0.250 l) mit frischem BC-Medium angesetzt. Beide Kulturen wurden mit Bakterien aus einer vor der Aufarbeitung gezogenen Probe gestartet und Partikeldichte und Größe gemessen.

Abbildung 3.5 zeigt das Versuchsergebnis. Signifikante Unterschiede zwischen Wachstum im konditionierten und frischen Medium zeigten sich nicht. Die Werte der spezifischen Wachstumsraten der Kultur im konditionierten Medium waren etwas niedriger als die für die Kultur im frischen Medium (Tab. 3.5). Das maximale Zellvolumen war hingegen in den Kulturen mit konditioniertem Medium um ca. 6% größer und der zeitliche Verlauf der Zellvolumina war im Vergleich zur Kultur auf frischem Medium verschoben.

Die Daten ergeben also keinen Hinweis auf Selbsthemmung durch arteigene Toxine oder dergleichen.

Ansatz/Parameter	spez. Wachstumsraten	Korrelation	Meßpunkte
konditioniertes Medium			
spez. Teilungsrate (h^{-1})	0.297 ± 0.005	r=0.9998	5
spez. Biovolumenwachstumsrate (h^{-1})	0.315 ± 0.008	r=0.9996	4
frisches Medium			
spez. Teilungsrate (h^{-1})	0.326 ± 0.008	r=0.9996	5
spez. Biovolumenwachstumsrate (h^{-1})	0.330 ± 0.016	r=0.9997	4

Tab 3.5: Wachstum von *E.coli* auf Glucose im konditionierten und frischen BC-Medium (Kontrolle, ob autotoxische Produkte freigesetzt werden).

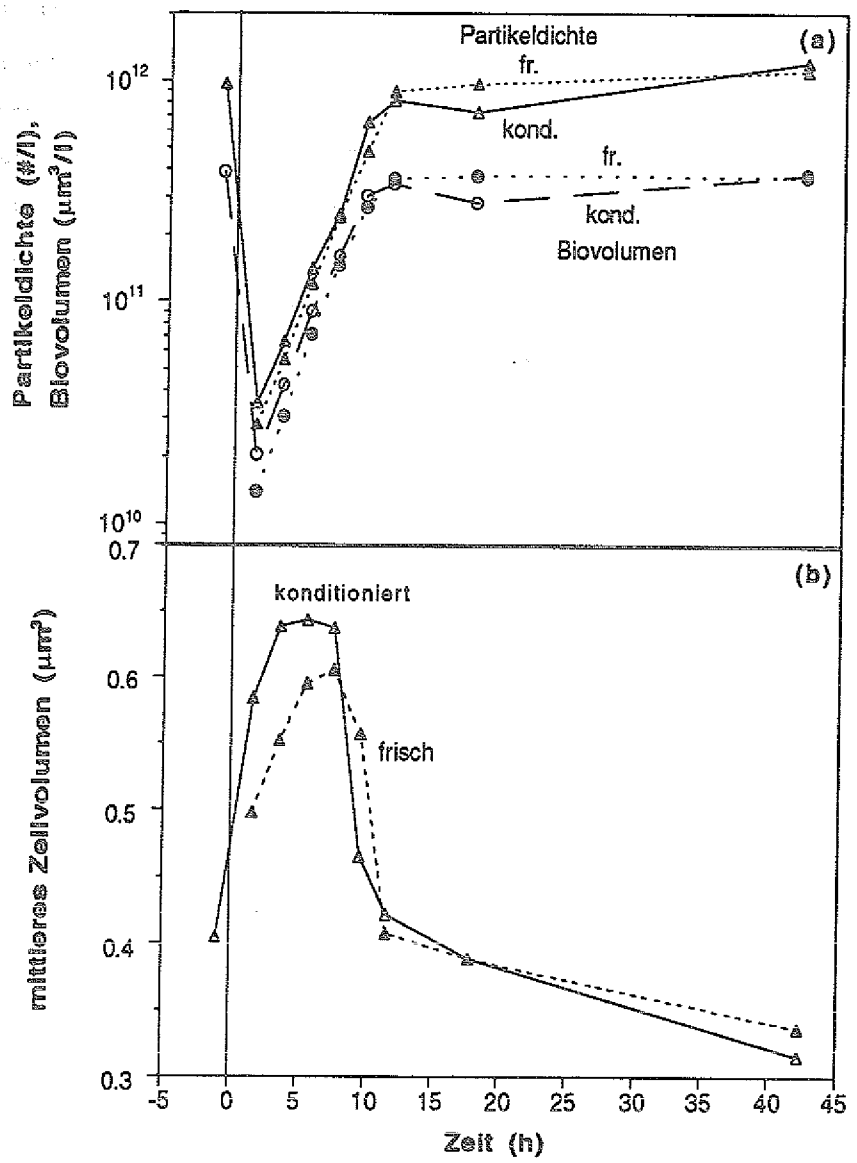


Abb. 3.5: Wachstum von *E.coli* im konditionierten und frischen BC-Medium. (Partikelvolumen mit 18 µm Orifice, 3% NaCl-Lösung gemessen). *kond.* und *fr.* kennzeichnen die Daten des konditionierten und frischen BC-Mediums. Zum Zeitpunkt t=–1 h wurde eine Probe entnommen und die Vorkultur aufgearbeitet. Bei 0 h wurden die Kulturen gestartet.

3.4 Wachstum von *E.coli* auf eigenen Ausscheidungsprodukten

Im vorigen Kapitel wurde festgestellt, daß *E.coli* keine persistenten autotoxischen Ausscheidungsprodukte im signifikanten Ausmaß bildet. Nunmehr wird die Möglichkeit untersucht, ob arteigene Ausscheidungsprodukte als Nahrungsquellen (C-Quellen) genutzt werden können. Dazu wurden parallel zwei Versuchskulturen angezogen, denen nach Erreichen der maximalen Zelldichte ($1.2 \cdot 10^{12}$ #/l; Glucose colorimetrisch nicht nachweisbar) nach 17 h bzw. 186 h je eine Probe entnommen, die Restkultur durch Zentrifugation und Filtration (s.3.3) von *E.coli*-Zellen befreit und mit Bakterien der zuvor gezogenen Probe auf 10^7 Zellen/l bzw. etwa 10^8 Zellen/l inokuliert wurde. Von der ersten Kultur (nach 17h geerntet) wurden nur DOC-Proben und CFU-Proben gezogen, da bei den geringen Zelldichten keine exakte Bestimmung mit dem Counter möglich war.

Die Versuchsergebnisse sind in den Abbildungen 3.6-7 dargestellt. Die errechenbaren spezifischen Teilungs- bzw. Biovolumenwachstumsraten in den exponentiellen Wachstumsphasen wurden in Tabelle 3.6 wiedergegeben.

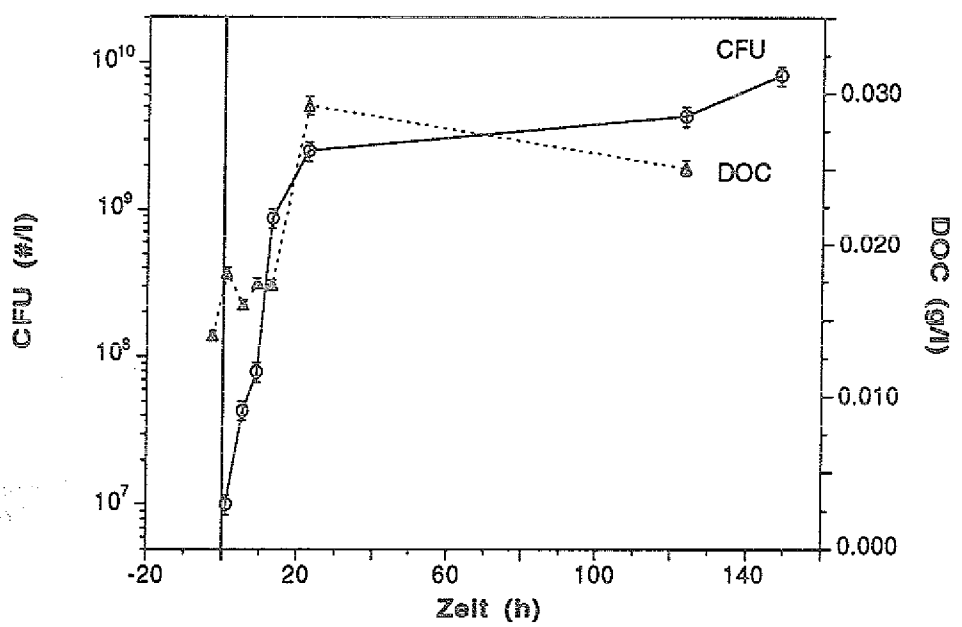


Abb. 3.6: Wachstum von *E.coli* auf arteigenen Ausscheidungsprodukten in einer nach 17 h Kultivierung in der frühen stationären Phase geernteten Kultur. Ernte zum Zeitpunkt t=0 h.

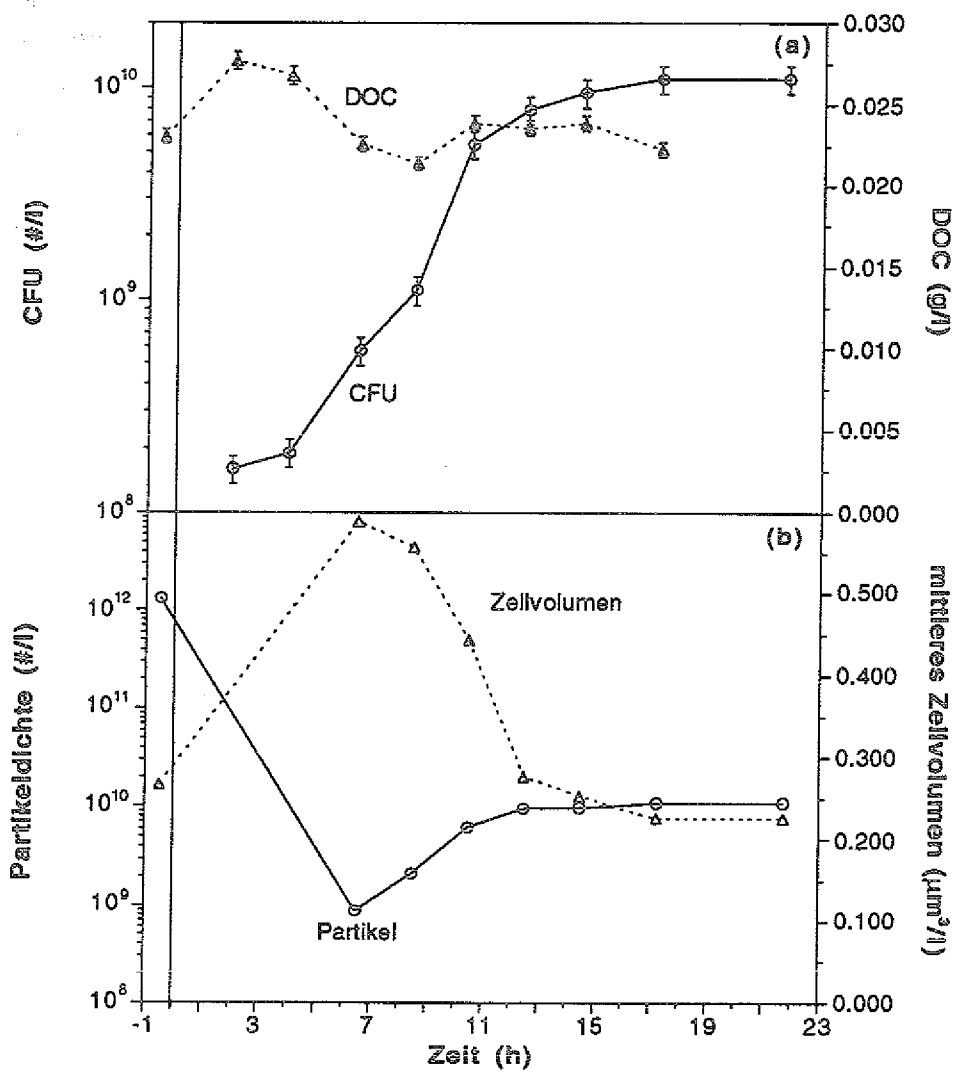


Abb. 3.7: Wachstum von *E.coli* auf arteigenen Ausscheidungsprodukten in einer nach 186 h Kultivierung in der späten stationären Phase geernteten Kultur. (Partikelzählung mit 18 µm Orifice in 3% NaCl, s. 2.5.2.1). Ernte zum Zeitpunkt t=0 h.

Zeitpunkt d. Ernte	Berechnung mit	spez. Teilungsrate μ (h^{-1})	Korrelation
17 h	CFU	0.501 ± 0.067	r=0.998
186 h	CFU	0.554 ± 0.018	r=0.9999
	Partikel	0.521 ± 0.027	r=0.9995

Tab. 3.6: Spezifische Teilungsraten von *E.coli* in der exponentiellen Wachstumsphase beim Wachstum auf autochthonen Substraten. Der Zeitpunkt der Ernte gibt an, in welcher Phase einer *E.coli*-Kultur das Medium für das Experiment gewonnen wurde (s.a. Text).

Betrachtet man den Verlauf der DOC-Werte, so müssen die Wachstumsraten als überschätzt angesehen werden: Es kam zu einer DOC-Freisetzung bei und nach der Aufarbeitung und in der nach 186 h geernteten Kultur zu einer Verringerung des DOC in folgenden Messungen bis etwa auf das Niveau der Probe vor der Aufarbeitung. Das tatsächlich in einer Kultur vorhandene Bakterien-verfügbare Substrat ist also geringer als es das Versuchsergebnis suggeriert. Vergleicht man für die nach 186 h geerntete Kultur den DOC-Wert der Vorprobe mit dem minimalen DOC-Wert nach der Aufarbeitung, so läßt sich für diese Kultur ein tatsächlich verfügbarer DOC-Gehalt von ca. 0.001 g/l schätzen. Die erreichbare Zelldichte wäre dann nur etwa $2 \cdot 10^9$/l. Zentrifugation oder Sauerstoffmangel während der Aufarbeitung scheinen also zu einem erheblichen Teil zur DOC-Freisetzung geführt und die Aussagen über die Verfügbarkeit autochthoner Substrate verfälscht zu haben.

Es wird für die Auswertung der Versuche in Kapitel 4 und für die Modellierung davon ausgegangen, daß das Wachstum von *E.coli* auf C-Quellen, die von den Bakterien ausgeschieden wurden, vernachlässigbar ist.

3.5 Wachstum von *E.coli* auf Ausscheidungsprodukten von *Tetrahymena thermophila*

Autochthone Substrate können in Mischkulturen von *E.coli* und *Tetrahymena thermophila* durch beide Organismen freigesetzt werden. Die Mechanismen (Extrusion, Lysis, Exkretion, Zersetzung extruierter Partikel) werden im folgenden summarisch behandelt. Es wird abgeschätzt, welche Menge an autochthonen Substraten für *E.coli* verfügbar ist und welche Wachstumsraten die Bakterien erreichen.

Für diese Untersuchungen wurden die Protozoen durch Filtration aus stationären Mischkulturen entfernt, die mit ca. 10^{12} *E.coli*/l gestartet waren. Auf die Problematik dieses Verfahrens wurde bereits zuvor eingegangen (s. Kap. 2.7; Lysis, Substratverteilung, Überschätzung der bakteriellen Ausbeute und des Wachstums). Abbildung 3.8 zeigt anhand einer Beispiel-Batch-Kultur die Zeitpunkte, zu denen aus den tatsächlichen Versuchskulturen die Räuber entfernt wurden. (Das Kriterium für die Parallelität der Beispiel- und der Versuchskulturen war die Ciliaten- und CFU-Dichte.) Die elektronisch bestimmten Zellzahlen und Größenverteilungen (24 µm Kapillare, 1% NaCl-Lösung) konnten mit einer neueren Programmversion, die es ermöglichte, exakt den Größenpeak der Bakterien zu vermessen, überarbeitet und teilweise korrigiert werden.

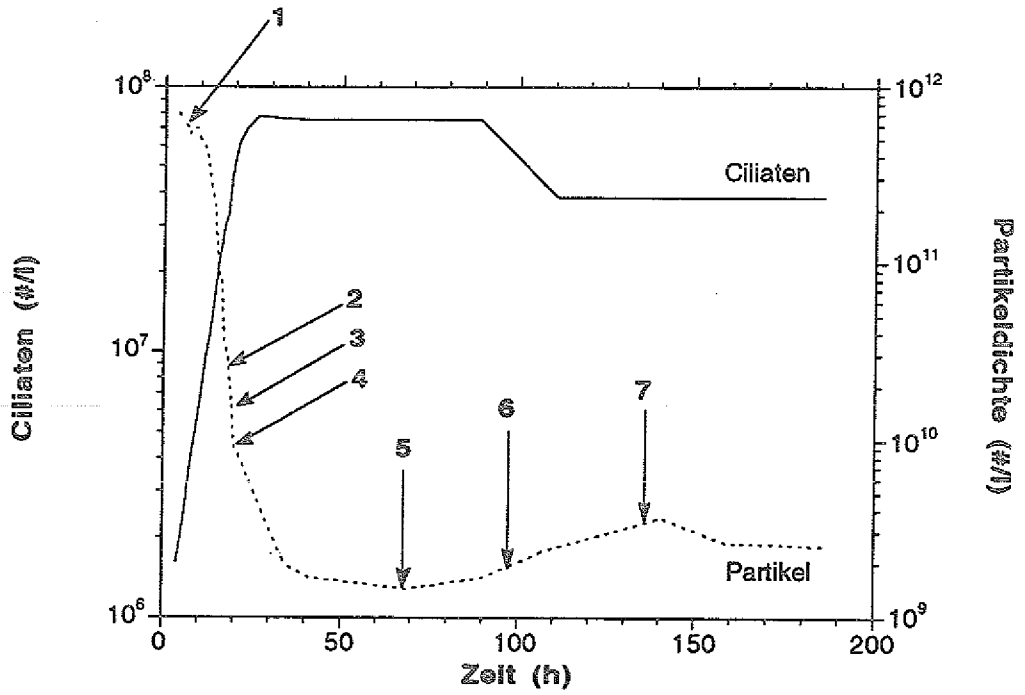


Abb. 3.8: Zeitpunkte (Pfeile) der Entfernung von *Tetrahymena thermophila* aus Mischkulturen mit *E. coli* verdeutlicht an einer schematisierten Beispielkultur (nach Abb. 4.2-3).

Einen Überblick über alle Ergebnisse gibt Tabelle 3.7. Nicht aufgeführt sind die ebenfalls ermittelten DOC-Werte. Hier wurden - bis auf eine Ausnahme - Werte von 0.043 ± 0.002 g/l zu Versuchsbeginn und 0.054 ± 0.002 g/l bei Versuchsende gemessen. Lediglich in Versuch 3 lagen die Werte zwischen 0.017 und 0.020 g/l. Da bei den DOC-Werten generell eine leichte Zunahme zu verzeichnen war, konnte das bakterielle Wachstum also nicht mit einem DOC-Verbrauch korreliert werden. Der Anstieg der DOC-Werte deutet darauf hin, daß Kohlenstoffquellen noch zusätzlich in gebundener Form (partikulär) vorlagen (vgl. SAMBANIS & FREDRICKSON, 1988). Besondere Ergebnisse stellen die Abbildungen 3.9 und 3.10 für Versuch 4 und 7 (vgl. Abb.3.8) dar. In Versuch 4 konnte die höchste spezifische Teilungsrate ermittelt werden, und in Versuch 7 wurde neben einer hohen spezifischen Teilungsrate ein zweiter Anstieg der Zellzahl (Partikel und CFUs) gemessen. Auch dies ist als Hinweis zu werten, daß neben rasch verwertbaren Substraten (zumindest die Zellgrößen deuten keine längere lag-Phase des Wachstums an) auch schwer verwertbare oder sekundär verwertete Substrate oder ein Reservoir vorlagen. Hier könnten Exkrete (unverdaute Vakuoleninhalte) der Ciliaten von Bedeutung sein, die sowohl lichtmikroskopisch als auch bei der elektronischen Größenbestimmung als Partikel mit mehr als 2 µm Durchmesser auffielen.

Vers.	μ_N (1/h)	n	r	E_N (#/l)	μ_{Nv} (1/h)	n	r	E_{Nv} (μm^3/l)
1	0 *)			*)	0 *)			
2	0.06	3	0.86	$3.0 \cdot 10^9$	-	-	-	-
3	0.159	3	0.97	$3.2 \cdot 10^9$	0.099	3	0.983	$5.9 \cdot 10^8$
4 min	0.288	2		$2.2 \cdot 10^{10}$	0.158	2		$4.0 \cdot 10^9$
4 max	0.353	1		$2.2 \cdot 10^{10}$	0.264	1		$4.0 \cdot 10^9$
5	0.183	4	0.985	$5.8 \cdot 10^{10}$	0.154	6	0.97	$9.2 \cdot 10^9$
6	0.123	5	0.98	$8.0 \cdot 10^9$	0.081	5	0.982	$2.0 \cdot 10^9$
7 min	0.241	4	0.989	$8.3 \cdot 10^9$	0.174	4	0.992	$2.6 \cdot 10^9$
7 max	0.274	2		$8.3 \cdot 10^9$	0.236	2		$2.6 \cdot 10^9$
7.2	0.078	1		$9.0 \cdot 10^9$	-			

Tab. 3.7: Wachstumsparameter für *E. coli* auf ciliatenbürtigen, autochthonen Substraten entsprechend den in Abb. 3.8 indizierten Experimenten (näheres s. Text). μ_N, μ_{Nv}: spezifische Teilungs- bzw. Biovolumenwachstumsrate während der exponentiellen Wachstumsphase; *n*: berücksichtigte Meßintervalle; *r*: Korrelationskoeffizient; E_N, E_{Nv}: Ertrag an Zellzahl bzw. Biovolumen; *min, max*: Kennzeichnung minimaler und maximaler Werte für Versuche in denen die Festlegung des Bereichs exponentiellen Wachstums schwierig war.*) es konnten keine sinnvollen Daten ermittelt werden, da die Startzelldichte bereits zu hoch lag.

In allen Versuchen dieser Serie, die ausgewertet werden konnten, zeigten die Bakterien nicht nur ein Teilungswachstum, sondern auch eine Zunahme des mittleren Zellvolumens. Setzt man eine Monod-Kinetik des Wachstums voraus, so wäre zu erwarten, daß die Wachstumsrate nur von der Substratkonzentration abhängig ist. Die Bakterien sind bereits mit den Substraten in Kontakt gewesen, also sollte auch keine Adaptation zu beobachten sein. Die Größenzunahme der Zellen deutet jedoch an, daß der Einzelzelle mehr Substrat zur Verfügung stand als vor der Filtration in der Mischkultur. Drei mögliche Mechanismen bieten eine Erklärung des Phänomens:

- Lysis eines Teils der Ciliaten,
- heterogene Verteilung der Substrate in der Kultur;
- Synchronisation der Bakterien durch Selektion kleiner Zellgrößen bei der Filtration (vgl. Abb. 3.10).

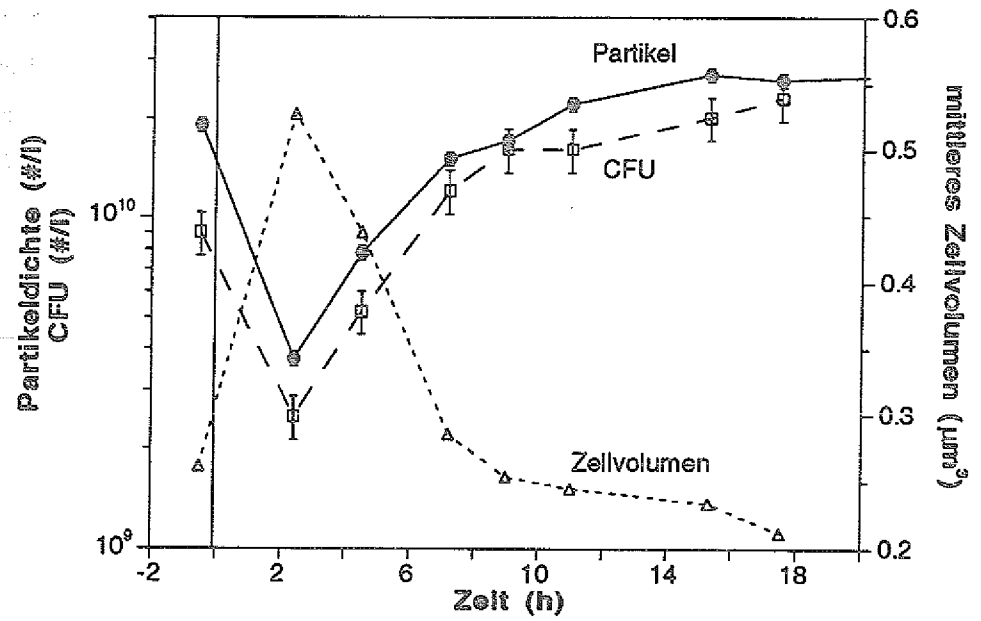


Abb. 3.9: Wachstum von *E.coli* auf autochthonen C-Quellen nach Entfernen von *Tetrahymena thermophila* aus der Mischkultur (vgl. Nr. 4 in Abb. 3.8).

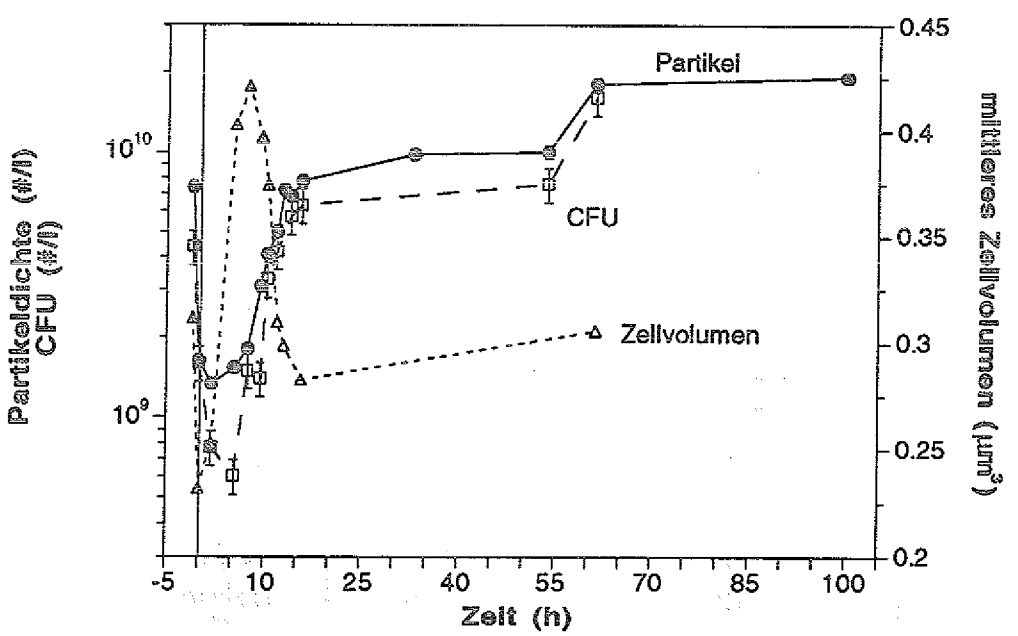


Abb. 3.10: Wachstum von *E.coli* auf autochthonen C-Quellen nach Entfernen von *Tetrahymena thermophila* aus der Mischkultur (vgl. Nr. 7 in Abb. 3.8).

Die Wachstumskinetik der Bakterien für autochthone Substrate kann nur indirekt abgeleitet werden, da kein DOC-Verbrauch ermittelt werden konnte. Ein Äquivalent für die gegebene Substratmenge ist die in den Kulturen erreichte maximale Zelldichte (s. Tab. 3.8: E_N, E_{Nv}). Ordnet man ihr die entsprechenden spezifischen Wachstumsraten zu, so läßt sich insgesamt kein Zusammenhang erkennen, der einer bekannten Wachstumskinetik entsprechen würde. Insbesondere die niedrigen spezifischen Wachstumsraten der Versuche 5 und 6 fallen hier heraus. Gerade diese wurden aber mit Kulturfiltraten ermittelt, bei denen die Bakteriendichte in der Mischkultur ein deutliches Minimum durchlief. Zudem zeigt die im Versuch 5 erreichte Zelldichte, daß relativ viel Substrat zur Verfügung stand. Es lagen also in der Mischkultur in diesem Zeitraum qualitativ andere Substrate oder inhibitorisch wirkende Substanzen vor, so daß durch Fraßverluste und verringertes Bakterienwachstum ein relativ niedriges Niveau der Bakterienzelldichte erreicht wurde.

Werden die Werte der Versuche 5 und 6 nicht berücksichtigt, so ergibt sich die Möglichkei, aus den restlichen Daten sigmoide und Monod-Kinetiken für das Teilungswachstum abzuschätzen (Abb. 3.11 & Tab.: 3.8). Die Halbsättigungskonstanten (K) wurden mit den *Yield*-Werten aus Tabelle 3.2 (s. Kap. 3.1.1) in Glucoseäquivalente umgerechnet. Die Unterscheidung zwischen Monod- und sigmoider Kinetik ist auch hier theoretischer Natur. Beide können nur als Orientierung dienen, da der Datenumfang sehr beschränkt ist. Kinetiken für das Biovolumenwachstum wurden nicht dargestellt, da sie aus 3 Daten geschätzt werden müßten und daher kaum einen Aussagewert hätten.

Die Herkunft und der Umsatz der hier behandelten Substrate im Hinblick auf die Ciliaten werden im Kapitel 5.3.2 diskutiert.

Teilungskinetik	$\mu = \frac{\mu_{max}\, s}{K + s}$	$\mu = \frac{\mu_{max}\, s^2}{K^2 + s^2}$
für Minimalwerte Tab.3.7		
μ_{max} (1/h)	0.378 ± 0.120	0.292 ± 0.044
K_E (#/l)	6.5 ± 5.1	4.0 ± 1.1
$K_{äqGlc}$ (g/l)	$2.6 \cdot 10^{-3}$	$1.6 \cdot 10^{-3}$
RSS	0.0057	0.0041
für Maximalwerte Tab.3.7		
μ_{max} (1/h)	0.526 ±0.172	0.368 ± 0.047
K_E (#/l)	9.8 ± 6.9	4.8 ± 1.1
$K_{äqGlc}$ (g/l)	$3.9 \cdot 10^{-3}$	$1.9 \cdot 10^{-3}$
RSS	0.0061	0.0040

Tab. 3.8: Kinetiken für das Teilungswachstum von *E.coli* auf autochthonen Substraten (aus Mischkulturen mit *Tetrahymena*). K_E bezeichnet den K-Wert, der auf der Grundlage von Zellzahlerträgen berechnet wurde (s. Abb. 3.11); $K_{äqGlc}$ bezeichnet den Glucose-äquivalenten K-Wert (s. Text).

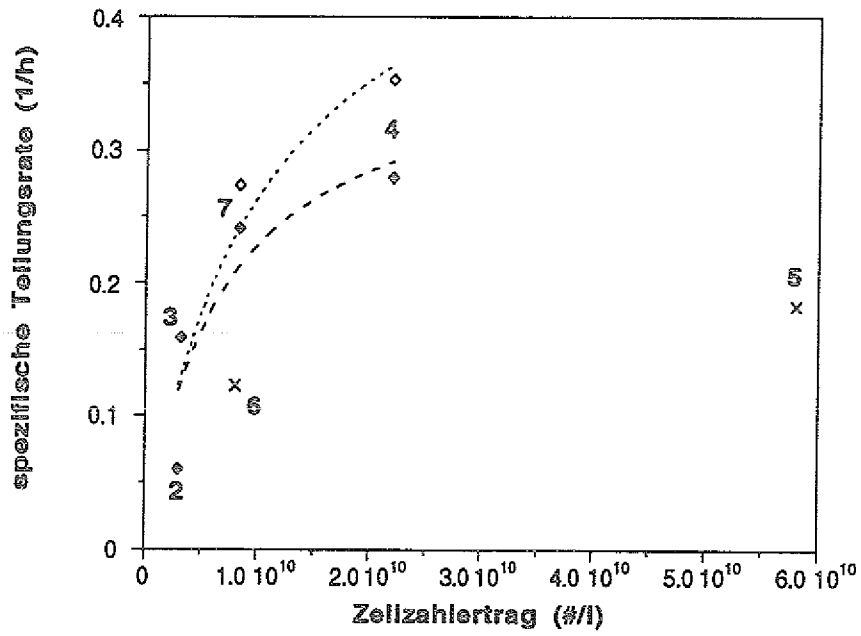


Abb. 3.11: Mögliche Wachstumskinetiken (nach Monod) von *E.coli* auf Ausscheidungsprodukten von *Tetrahymena thermophila*. Da einige Versuche keine eindeutige Aussage zuließen, wurden Kinetiken aufgrund von Minimal- und Maximalwerten errechnet. Die mit "x" gekennzeichneten Meßwerte wurden aus der Berechnung herausgenommen (Näheres s. Text). Die Ziffern markieren die Experimente entsprechend Abb. 3.8.

3.6 Weiterführende Betrachtungen und Modelle zum Wachstum von *E.coli*

Zu Beginn dieses Kapitels seien die bisherigen experimentellen Ergebnisse noch einmal stichwortartig dargestellt:

- Beim Wachstum auf Glucose scheidet *E. coli* Kohlenstoffquellen aus, die das Wachstum beeinflussen.
- Es konnten keine Inhibitoren und Toxine nachgewiesen werden, die durch *E.coli* freigesetzt wurden.
- *E.coli* kann autochthone Substrate verwerten, die in Mischkultur mit *Tetrahymena thermophila* gebildet werden.
- Es gibt erhebliche methodische Probleme, das tatsächliche Wachstum auf autochthonen Substraten abzuschätzen (Durchmischung der Kulturen, Aufbereitung der Proben).

Für populationsdynamische Betrachtungen (Räuber-Beute-Systeme, Netzwerke) lassen sich

daraus drei allgemeinere Problemstellungen herleiten, die an dem vorliegenden System betrachtet werden müssen und im folgenden erörtert werden:

1. Substrate, Substratverwertung und Wachstum der Bakterien im Zusammenspiel der verschiedenen Systemkomponenten,
2. methodische und strukturelle Einflüsse auf die ermittelten Daten,
3. Darstellung der Dynamik und Prozesse in mathematischen Modellen.

3.6.1 Substrataufnahme, -verwertung und Wachstum

3.6.1.1 Wachstum von Bakterien auf einzelnen Substraten

Substrataufnahme und Biomassewachstum werden in der Regel als proportionale Prozesse betrachtet. Ein Proportionalitätsfaktor (Ausbeutekoeffizient, Yield) setzt die Aufnahmekinetik in Beziehung zu einer prinzipiell gleichen Wachstumskinetik. Im Bereich hoher Wachstumsraten mit relativ konstanten metabolischen Verlusten bei der Umsetzung der Substrate und relativ geringen Verlusten für den Erhaltungsstoffwechsel ist diese Annahme auch gerechtfertigt. Grenzen sind dieser Betrachtung bei geringen Wachstumsraten bzw. bei wechselnden Umweltbedingungen und wechselnden physiologischen Zuständen der Organismen gesetzt (s. 1.2.4.4; 1.4.2; FREDRICKSON *et al.*, 1970; BUTTON, 1985).

In den meisten Versuchen zum Wachstum von *E.coli* auf Glucose und autochthonen Substraten wurden relativ hohe Teilungsraten ermittelt, so daß annähernd die Proportionalität von Substrataufnahme- und Teilungskinetiken gilt. Es kann jedoch in Abhängigkeit von dem physiologischen Zustand des Inokulums zu zeitlichen Verschiebungen zwischen Biovolumen- und Teilungswachstum kommen (HELLER, 1992). Ferner scheinen diese beiden Wachstumsprozesse nicht mit proportionalen Kinetiken abzulaufen (s. Abb. 3.2). Auch bestehen Zweifel, ob in den Kulturen alle Bakterien tatsächlich mit diesen hohen Raten auf autochthonen Substraten wachsen (s. 3.2; 3.5; Anhang C).

Die Adaptationsfähigkeit der Substrataufnahmesysteme von Mikroorganismen an verschiedene Substratkonzentrationen ist mehrfach beschrieben worden (z.B. TEMPEST & NEIJSSEL, 1978; HARDER & DIJKHUIZEN, 1983). Für *E.coli* sind ein niedrigaffines und ein hochaffines Aufnahmesystem für Glucose (K = 0.018 g/l und K = 0.0009-0.0018 g/l) und eine Reihe anderer Substanzen dokumentiert. Die gemessenen, relativ hohen Wachstumsraten in Kulturen mit geringen Glucosekonzentrationen (s.3.1.2) können auf derartige Phänomene hinweisen. Die ermittelten Werte der Halbsättigungskonstanten für das Biovolumenwachstum, liegen im Bereich der hochaffinen Kinetiken (s.o. TEMPEST & NEIJSSEL, 1978; Tab. 3.2, Abb.3.2). Die Spanne der in meinen Versuchen eingesetzten Glucosekonzentrationen und die ermittelten Kinetiken überlagern aber den Konzentrationsbereich der hoch- und niedrigaffinen

Kinetiken. Die in Kapitel 3.1.1 aus den Versuchen abgeleiteten Kinetiken können also nur eine durchschnittliche Aussage über das Wachstum von *E.coli* im untersuchten Konzentrationsbereich machen. Gleiches gilt für die Wachstumskinetiken in bezug auf autochthone Substrate. Für die Fragestellung, welche *wesentlichen* Wechselwirkungen die Stabilität des Räuber-Beute-Systems von *Tetrahymena* und *E.coli* begründen (s. 1.1.1), sind die gewonnen Daten zunächst hinreichend.

3.6.1.2 Bakterielles Wachstum auf Substratgemischen

Neben der Steuerung der Aufnahme eines Substrates bei unterschiedlichen Konzentrationen stellt sich die Frage der Steuerung von Aufnahme und Wachstum bei Vorliegen unterschiedlicher Substrate (Substratklassen). Dies ist für alle vorgestellten Versuchsergebnisse relevant.

Diauxisches oder oligoauxisches Wachstum (s. 3.5) konnte nur bei langfristigen stationären Kulturen mit autochthonen Substraten dokumentiert werden (s. Abb. 3.10). Wahrscheinlich wurden zunächst leicht verfügbare und später schwer verfügbare Substrate verbraucht. "Kybernetische Modelle" (KOMPALA *et al.*, 1984, 1986), die die optimale Strategie für das Zellwachstum modellieren, bieten einen möglichen Ansatz, derartige Phänomene rechnerisch zu erfassen. Auf der Ebene von Mischkulturen und Mischsubstraten sind sie jedoch sehr komplex und entziehen sich daher oft experimentellen Vergleichen (s. 6.2). Außerdem ist aus den durchgeführten Versuchen ersichtlich, daß beim Wachstum von *E.coli* auf dem Gemisch autochthoner Substrate Diauxiephänomene selten auftreten (s.a. HARDER & DIJKHUISEN, 1983). Dies legt nahe, essentielle Substratklassen statt einzelner Substrate zu betrachten, wie dies z.B. bei der Diskussion von Versuchen zu Abwasserreinigungsverfahren geschehen ist (BÖHNKE, 1989; DAIGGER & GRADY, 1977; CURDS, 1971, 1973 a/b). Für die weiteren Betrachtungen sollen die autochthonen Substrate (C-Quellen) ebenfalls als eine Substratklasse aufgefaßt werden. Dem gegenüber steht das allochthone Substrat Glucose, das bei der Kultivierung in vergleichsweise hohen Konzentrationen eingesetzt wurde und insbesondere bei der Betrachtung kontinuierlicher Kulturen von Bedeutung ist (s. 1.3.3.3 & 5.5).

Rückblickend auf eine Reihe älterer Veröffentlichungen untersuchten PAVLOU & FREDRICKSON (1989), BALTZIS & FREDRICKSON (1987) und SAMBANIS (1985) unstrukturierte Modelle über die Nutzung zweier Substrate in mikrobiologischen Kulturen. Sie unterscheiden in bezug auf das bakterielle Wachstum 4 Nährstofftypen (SAMBANIS, 1985; Tab.3.9):

- komplementäre Substrate, die sich ergänzen aber nicht ersetzen können (z.B.: Glucose und Sauerstoff),
- antagonistische Substrate, die sich gegenseitig, aber einander hemmend, ersetzen können (s. Katabolit-Repression, SCHLEGEL 1985),
- substituierbare Substrate, die sich gegenseitig ersetzen können,
- augmentative Substrate, die sich additiv ergänzen.

komplementäre Substrate	substituierbare Substrate
$\mu(s_1,s_2) = \frac{\mu_{max}\, s_1}{K_1 + s_1} \circ \frac{s_2}{K_2 + s_2}$	$\mu(s_1,s_2) = \frac{\mu_{max}\,(s_1 + \zeta\, s_2)}{K + s_1 + \zeta\, s_2}$
antagonistische Substrate	augmentative Substrate
$\mu(s_1,s_2) = \frac{\mu_{max1}\, s_1}{K_1+s_1+s_2\, K_{i2}} + \frac{\mu_{max2}\, s_2}{K_2+s_2+s_1\, K_{i1}}$	$\mu(s_1,s_2) = \frac{\mu_{max1}\, s_1}{K_1 + s_1} + \frac{\mu_{max2}\, s_2}{K_2 + s_2}$
s_1, s_2	Substrate
μ	spezifische Wachstumsraten
μ_{max}	maximale spezifische Wachstumsraten
K	Halbsättigungskonstanten
K_i	Inhibitor-Konstante
ζ	Gewichtungsfaktor

Tab. 3.9: Wachstumskinetiken für die Interaktion zweier Substrate auf der Basis von Monod-Funktionen (s. Text).

Bei Verwendung von Glucose als allochthones Substrat bietet das antagonistische Modell einen guten Ansatz, die gegenseitige Beeinflussung von Glucose und autochthonen Substraten zu beschreiben: Im Rahmen der Katabolit-Repression hemmt Glucose die Verstoffwechselung einer Reihe anderer C-Quellen (NEIDHARDT, 1987; FISHER & SONENSHEIN, 1991; s.5.5). Untersuchungen von HUANG *et al.* (1981) weisen darauf hin, daß autochthone Substrate u.U. essentielle Nährstoffe enthalten und den Aufschluß anderer C-Quellen erst ermöglichen. In diesen Fällen ist der Einsatz des Komplementär-Modells begründet. Dieses Beispiel unterstreicht auch, daß eine Einstufung autochthoner Substrate als reine C-Quelle zu eng gefaßt ist. Gerade für Mischkulturen und komplexe Biozönosen in biotechnologischen Verfahren (Boden- und Gewässersanierung) könnte eine differeziertere Betrachtung wichtig sein.

3.6.2 Freisetzung bakterienbürtiger, autochthoner Substrate

Neben dem Zusammenwirken von Substraten in bezug auf das bakterielle Wachstum ist ihre Herkunft für die Dynamik einer Kultur von Bedeutung. Sie können metabolisch (katabolisch) ausgeschieden, durch Lysis und aus primär nicht abbaubarem Detritus durch biologische, aber auch chemisch-physikalische Reaktionen freigesetzt werden. Diese Freisetzungen können zu völlig unterschiedlichen Zeitpunkten der Kultivierung eine Rolle spielen und müssen auch qualitativ nicht identisch sein.

Bedeutung, potentielle Herkunft und Wechselwirkungen von Substraten können mit den zuvor dargestellten Versuchen und mit vergleichenden computergestützten Simulationen erörtert werden. Aufgrund fehlender Daten wurden Prozesse der Substratfreisetzung aus Detritus ausgeklammert. (Detrituspartikel - Schwebstoffe mit überwiegend organischem Anteil - stellen

wahrscheinlich ein Reservoir an Nährstoffen dar, die nur langsam freigesetzt werden. Es sind ähnliche, aber zeitverzögerte Effekte gegenüber primär verfügbaren Substanzen lytischen Ursprungs zu erwarten.)

Die zur Simulation eingesetzten mathematischen Modelle sind in Anhang D formuliert. Sie greifen das antagonistische Modell für das bakterielle Wachstum auf. Vereinfachend wurde angenommen, daß die Wachstumskinetik für autochthone Substrate der Wachstumskinetik für allochthone Substrate entspricht. Es wurden Monod- und sigmoide Wachstumskinetiken simuliert, was aber hier keinen wesentlichen Einfluß auf die Ergebnisse hatte. Hoch- und niedrigaffine Kinetiken wurden nicht berücksichtigt.

Es wurden nur die Substrataffinitäten variiert (s. Anhang D). Die Simulationsergebnisse werden verallgemeinernd (skaliert) dargestellt, da sie auf einer Reihe vereinfachender Annahmen beruhen. In den Graphiken sind die Meßergebnisse zur Orientierung eingezeichnet.

Die Freisetzung autochthoner Substrate durch die Protozoen wird in Kapitel 5.3.1 diskutiert.

3.6.2.1 An Lysis oder Grundstoffwechsel gekoppelte Substratausscheidungen

Zunächst soll die Freisetzung autochthoner Substanzen durch Lysis und Grundstoffwechsel, d.h. proportional zu Biomasseverlusten (Biovolumenverlusten) der Bakterien, erörtert werden: Das allochthone Substrat wird mit einer gewissen Effektivität (Yield; hier: $Y_2 = 7.92 \cdot 10^{11}$ $\mu m^3/g$; s. Tab. 3.2) in bakterielles Biovolumen überführt. Mit einer spezifischen Verlustrate ($\gamma_b = 0.008$ /h; s.Tab. 3.2) nimmt das Biovolumen durch Lysis und katabolische Prozesse (endogene Verluste) ab. Einen Anteil dieser Verluste (Z_b) stellt das autochthone Substrat dar.

Die Ausbeute autochthoner Substrate aus den Verlusten kann mit der in dieser Arbeit verwendeten Methodik nur indirekt bestimmt werden. Wachsen Bakterien (b) auf autochthonem Substrat (s_1; vgl. 3.4.5), so kann im Idealfall die Dynamik mit einem Differentialgleichungssystem beschrieben werden:

$$\frac{db}{dt} = (\mu(s_1) - \gamma_b)\, b \qquad (3.1)$$

$$\frac{ds_1}{dt} = \left(-\frac{1}{Y_1}\,\mu(s_1) + Z_b\,\gamma_b\right) b \qquad (3.2)$$

Beim Erreichen maximaler Biovolumendichte gilt dann

$$\frac{db}{dt} = 0 = (\mu(s_1) - \gamma_b)\, b \iff \mu(s_1) = \gamma_b \qquad (3.3)$$

und damit

$$\frac{ds_1}{dt} = \left(-\frac{1}{Y_1} + Z_b\right)\gamma_b\, b \qquad (3.4)$$

wobei $\mu(s_1)$ die spezifische Wachstumsrate ist.

Es sei angenommen; daß $\frac{1}{Y_1} = Z_b$ (d.h.: die Umsetzung von Substrat in Biomasse und von Biomasse in Substrat erfolgt mit gleicher Effizienz !) und $Y_1 \approx Y_2$ ist. Mit dieser einfachen Näherung ergibt sich dann $Z_b = 1.26 \cdot 10^{-12}$ g/µm³. Biologisch realistischer sind niedrigere Werte, da Substrate, die in Biomasse umgewandelt wurden, nicht wieder in die gleiche Menge Substrate zurücküberführt werden können. Simulationen, die auf diesem Wert beruhen, beziehen sich daher auf eine Überschätzung der Substratausschüttung, d.h. sie beschreiben diesbezüglich einen "günstigsten Fall".

Die Abbildung 3.12 gibt die Simulationsergebnisse für eine Kultur mit 0.5 g Glc/l (analog Abb. 3.1 a-d) auf der Grundlage des antagonistischen Modells mit Monod-Kinetiken wieder. Die tatsächlichen (skalierten) Meßwerte (für die autochthonen Substrate nur der Nicht-Glucose-DOC in der mittleren Kultivierungsphase, s. 3.1.2, Abb. 3.3) wurden den Simulationen gegenüber gestellt.

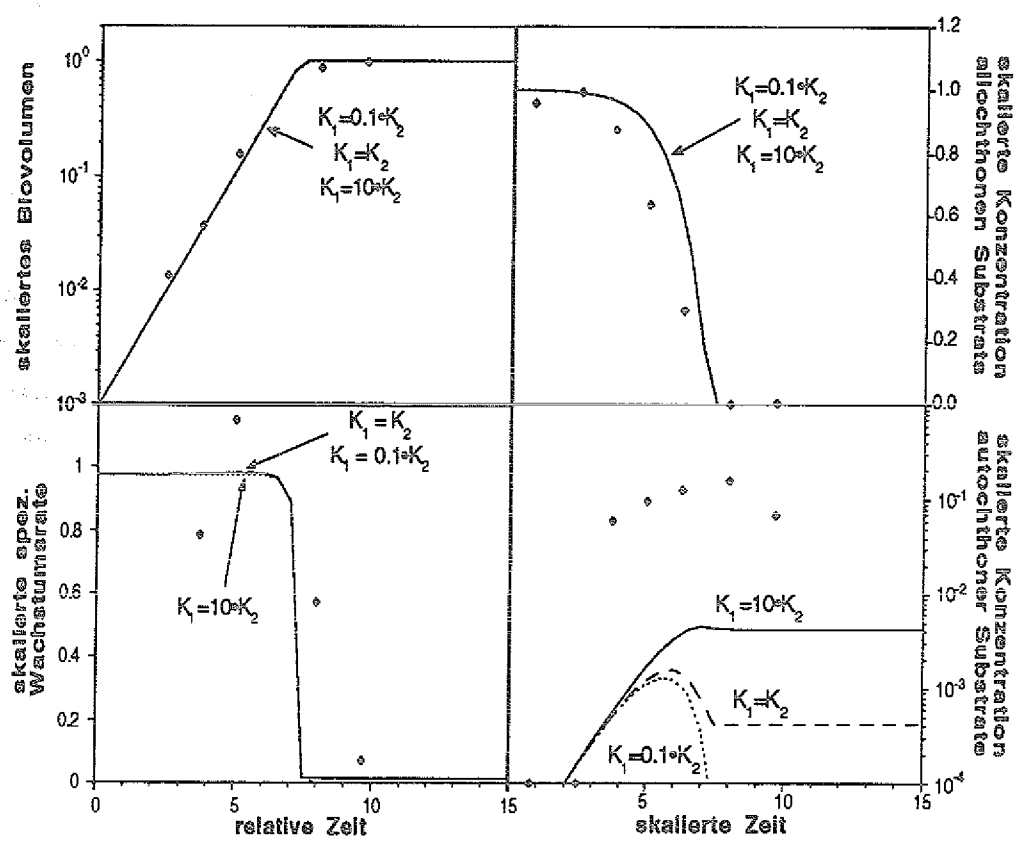


Abb. 3.12: Simulation des Wachstums von *E.coli* auf Glucose und autochthonen Substraten mit dem antagonistischen Modell (s.Text) und Monod-Kinetiken. Es wurde die Halbsättigungskonstante für das Wachstum auf autochthonen Substraten (K_1) variiert. Die autochthonen Substrate entstammen Lysis und Grundstoffwechselprozessen der Bakterien. Zum Vergleich wurden die Meßwerte der entsprechenden Kultur aus Kapitel 3.1 eingezeichnet. (Skalierung s. Anhang D)

Die Biovolumendichte der Bakterien, die spezifische Wachstumsrate und die Glucosekonzentration sind von der gewählten Variation der Halbsättigungskonstanten (K-Werte) für die Wachstumskinetik auf autochthonen Substraten weitgehend unbeeinflußt. Neben der vorhandenen Glucose akkumulieren bei hohen K-Werten mehr autochthone Substrate als bei niedrigen. Die inhibitorische (antagonistische) Wirkung des Glukoseumsatzes auf die Umsetzung der autochthonen Substrate vermindert sich mit dem Verbrauch der Glucose. Die Konzentration autochthoner Substrate durchläuft ein Maximum. Weder eine Zunahme der spezifischen Teilungsrate noch hinreichend hohe Substratkonzentrationen (Nicht-Glucose-DOC der mittleren Kultivierungsphase 10-20h; s. Abb. 3.3) konnten den experimentellen Ergebnissen entsprechend simuliert werden.

Aufgrund dieser Ergebnisse ist es unwahrscheinlich, daß die Menge der autochthonen Substrate, die in der Kulturphase bis 20 h ausgeschieden wurden, aus Lysis oder Grundumsatz der Bakterien stammen. Lediglich langfristig vorhandene autochthone C-Quellen könnten diesen Prozessen zu höherem Mengenanteil entstammen.

3.6.2.2 An den Glucoseumsatz gekoppelte Substratausscheidungen

Die Kopplung der Freisetzung autochthoner Substrate an die Umsetzung der Glucose führt zur Vorhersage vorübergehend höherer Konzentrationen autochthoner Substrate in den frühen Phasen der Kultivierung (vgl. BERGTER, 1989; HÖFLE, 1981). Die autochthone Substratkonzentration ergab sich wie zuvor aus dem Wechselspiel von Substratausschüttung und -verbrauch. In Ermangelung einer detaillierten Vorstellung beider Prozesse wurde deshalb von denselben Basisgrößen ausgegangen wie im Kapitel zuvor. Die Freisetzung autochthoner Substrate durch Lysis usw. blieb aber unberücksichtigt. Hingegen wurde die Freisetzung autochthoner C-Quellen rechnerisch mit einer Quote an den Glucoseumsatz gekoppelt (s. Anhang D). Aus den vorliegenden Daten ließen sich Werte von bis zu 70% w/w freigesetzte autochthone Substrate pro verbrauchter Glucose zu Beginn der Kultivierung berechnen (s. 3.1.2). Im weiteren Verlauf der Kultivierung wurden aber nur wesentlich niedrigere Werte ermittelt. So wurde für die Simulationen ein 30%iger Umsatz der Glucose zu autochthonen Substraten angenommen. Das Simulationsergebnis (antagonistisches Modell mit Monod-Kinetiken) ist in Abbildung 3.13 dargestellt.

Alle Modellvariationen sagen für die "exponentielle" Wachstumsphase deutlich ansteigende spezifische Wachstumsraten und eine bedeutende Freisetzung und Akkumulation von autochthonen Substraten in der mittleren Kultivierungsphase vorher. Sie stehen damit im (qualitativen) Einklang mit den Versuchsergebnissen des Kapitels 3.1.2.

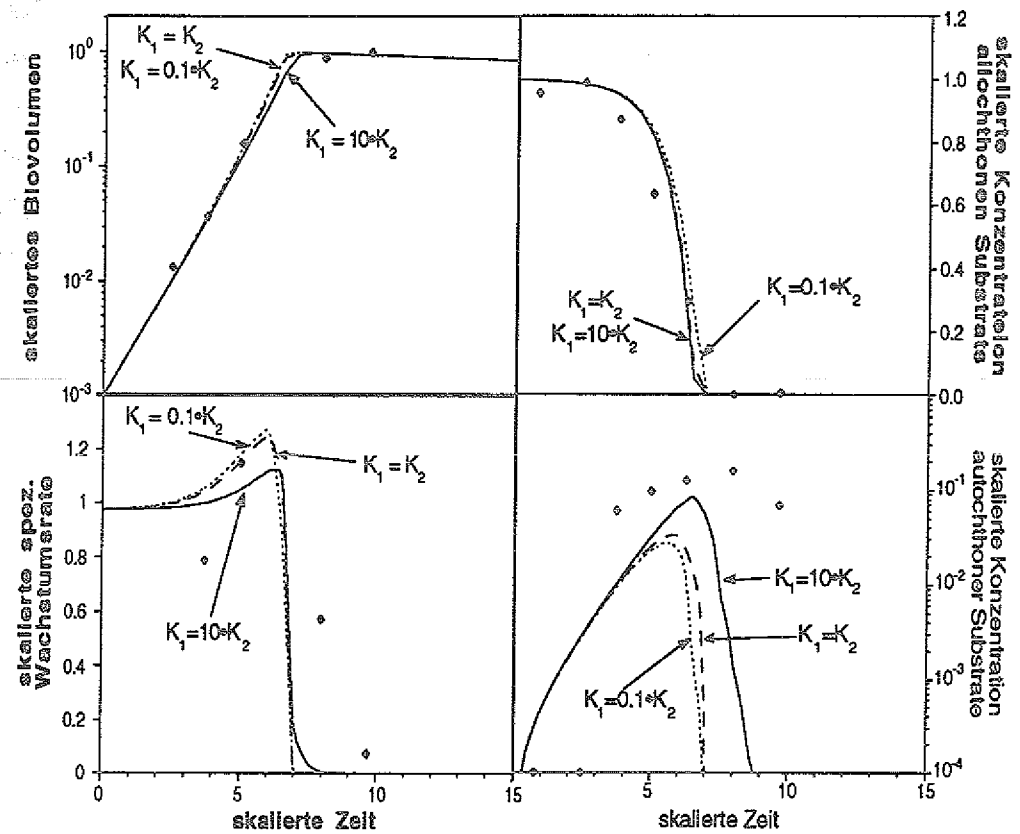


Abb. 3.13: Simulation des Wachstums von *E.coli* auf Glucose und autochthonem Substrat mit dem antagonistischen Modell (s.Text) und Monod-Kinetiken. Es wurde die Halbsättigungskonstante für das Wachstum auf autochthonen Substraten (K_1) variiert. Die autochthonen Substrate entstammen Lysis und Grundstoffwechselprozessen der Bakterien. Zum Vergleich wurden die Meßwerte der entsprechenden Kultur aus Kapitel 3.1 eingezeichnet. (Skalierung s. Anhang D)

Ebenso erklärt das Modell mit der an den Glucoseumsatz gekoppelten Substratfreisetzung die Ergebnisse des Kapitels 3.2 (Abb. 3.14; Anstieg der spezifischen Wachstumsrate bei steigender Startzelldichte bis zu einem Maximum). Eine Erhöhung der Startzelldichte führt zu einer erhöhten Freisetzung autochthoner Substrate und einer raschen Steigerung der spezifischen Wachstumsrate (vgl. Abb. 3.13). Bei hohen Zelldichten werden - wenn überhaupt - hohe Wachstumsraten nur kurzfristig erreicht. Dies konnte meßtechnisch nicht mehr aufgelöst werden. Das führte zur Verringerung der gemessenen spezifischen Wachstumsrate nach Überschreiten einer bestimmten Startzelldichte. Auch kann nicht ausgeschlossen werden, daß bei hohen Zelldichten eine Inhomogenität der Kultur zum Tragen kam (weswegen ja der Versuch eigentlich unternommen wurde; s.a. Anhang C).

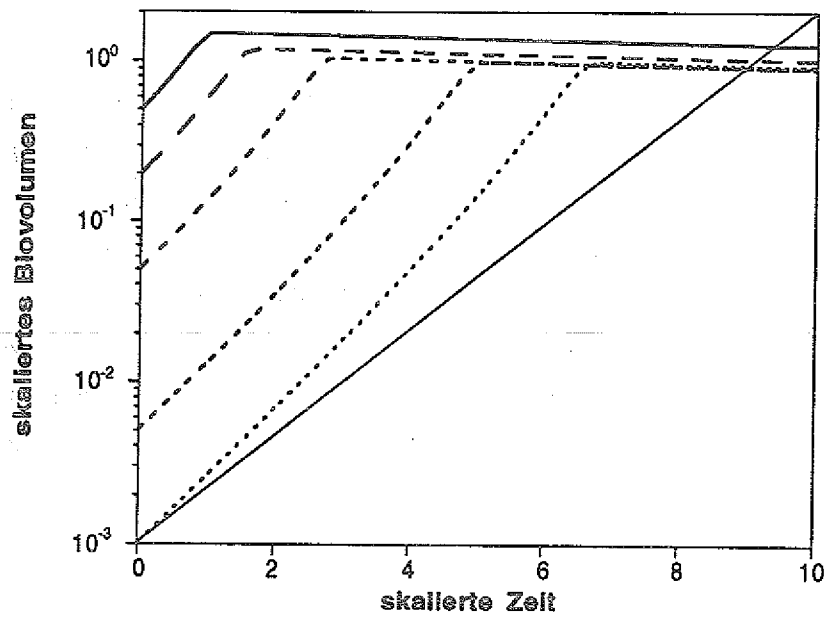


Abb. 3.14: Simulation des Wachstums von *E.coli* auf Glucose bei verschiedenen Startzelldichten (Biovolumendichten). (antagonistischen Modell, Monod-Kinetiken, Substratausscheidungen an den Glucoseumsatz gekoppelt; vgl. Abb. 3.13).

3.6.3 Bewertung der Versuchsergebnisse zum Wachstum von *E.coli* auf Ausscheidungsprodukten von *Tetrahymena thermophila*

In diesem Abschnitt sollen die Versuchsergebnisse aus Kapitel 3.5 diskutiert werden. Ausgeklammert werden die Mechanismen der Substratausscheidung durch *Tetrahymena* (s. 5.3.2).

Es wurde bereits in Kapitel 3.5 erwähnt, daß die Ergebnisse auf eine heterogene Verteilung der autochthonen Substrate in den Mischkulturen hinweisen. Substratausscheidungen der Ciliaten würden dann nicht genügend rasch über das gesamte Kulturvolumen verteilt. Bakterien in der Nähe des Ortes der Substratfreisetzung befänden sich in höher konzentrierten autochthonen Substratlösungen als jene in größerer Entfernung. Erfolgt die Substrataufnahme der Bakterien gegenüber der Durchmischungsgeschwindigkeit schnell, so ist ein deutlicher Wachstumsvorteil für die Bakterien in den autochthonen "Substratwolken" gegeben. Hohe Bakteriendichten verringern die Substratkonzentration in diesen "Wolken" rasch, so daß die Verteilung des autochthonen Substrats auch von der Zelldichte der Kultur abhängig ist. Es kann nicht mehr von einer Monod-Kinetik des Wachstums ausgegangen werden, bei der alle Bakterien mit gleicher Wahrscheinlichkeit auf ein Substratmolekül träfen. Im Anhang C.1-2 ist

eine einfache Kinetik hergeleitet, die dem Einfluß der Zelldichte auf die mittlere spezifische Wachstumsrate Rechnung trägt:

$$\mu = \frac{\mu_{max}\ s}{K + s + F\ b} \tag{3.5}$$

wobei s die mittlere Substratkonzentration, b die mittlere Zelldichte, K und μ_{max} die der Monod-Kinetik entsprechenden Konstanten sind. F ist bei gegebener Durchmischung eine Konstante, die den Einfluß des Konsumenten auf die Kinetik bei Inhomogenität der Kultur definiert. Die Auswirkung der Entfernung der Räuber aus einer Mischkultur mit *E.coli* auf die spezifische Wachstumsrate der Bakterien ist damit recht einsichtig (s. 2.7, 3.5):

> Während der Mischkultivierung sind die autochthonen Substrate heterogen über die Kultur verteilt. Die spezifische Wachstumsrate der Bakterien ist dann von der Zelldichte abhängig. Die Abtrennung der Räuber durch Filtration verringert einerseits die Bakteriendichte um den Faktor 5 bis 10 (s. Abb. 3.9-10), andererseits kann angenommen werden, daß der Filtrationsvorgang eine zusätzliche Durchmischung darstellt. Im Idealfall wäre nach der Filtration die oben formulierte Kinetik durch eine Monod-Kinetik zu ersetzen, und damit wäre eine Steigerung der spezifischen Wachstumsrate gegeben.

Die tatsächliche mittlere spezifische Wachstumsrate der Bakterien in der Mischkultur wird also durch die verwendete Methodik überschätzt. Die tatsächliche spezifische Teilungsrate der Bakterien läßt sich jedoch aufgrund des Zusammenhanges von Zellvolumen und spezifischer Teilungsrate darstellen, wie er verschiedentlich beschrieben und für Modellierungen eingesetzt wurde (HELLER, 1992, s. Abb. 3.15; DOMACH, 1983; SAIDEL, 1968).

Aufgrund der Daten von HELLER (1992), die sich auf dasselbe technische und biologische Material beziehen, was auch für die hier erörterten Versuche benutzt wurde, lassen sich in den Ciliaten-Bakterien-Kulturen (z.B. Abb. 3.9) nur spezifische Teilungsraten unter 0.02/h abschätzen. Die tatsächliche spezifische Biovolumenwachstumsrate liegt wahrscheinlich noch niedriger. Damit wären die Wachstumsraten in den Versuchen aus Kapitel 3.5 teilweise um mehr als das 10-fache überschätzt worden.

Mit den Werten aus Tabelle 3.7 und einer Kinetik aus Tabelle 3.8 sowie den Zelldichten der Versuche vor und nach der Filtration läßt sich die Konstante F (s. Formel 3.5) ermitteln:

Die Wachstumskinetik sei:

$$\mu = \frac{0.378\ E_N}{6.5 \cdot 10^9 + E_N + F\ Y_I\ b}\ .$$

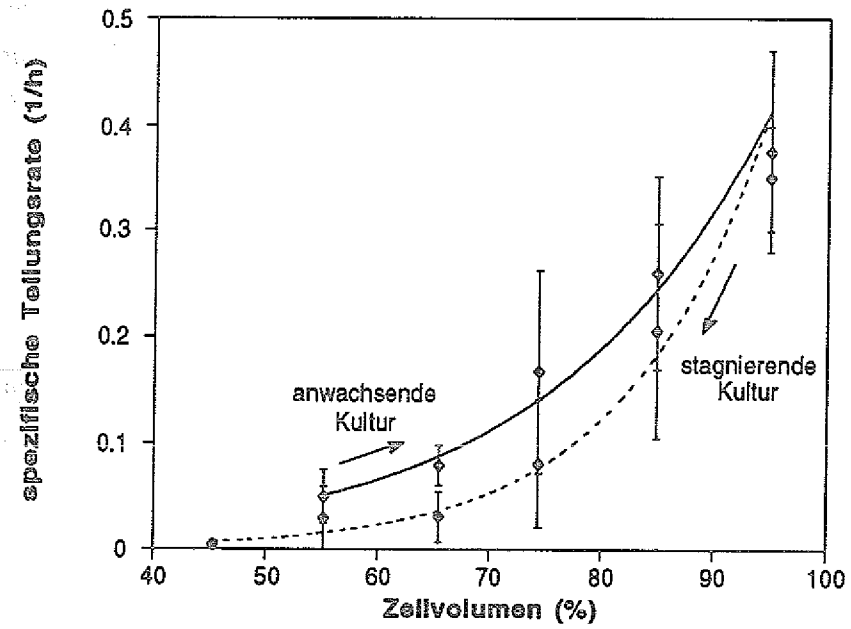


Abb. 3.15: Abhängigkeit der spezifischen Teilungsrate von *E.coli* vom Zellvolumen in Batch-Kulturen. (aus: HELLER, 1992). Eingezeichnet sind Mittelwerte und Fehlerbalken für 7 Experimente. Die Pfeile kennzeichnen den zeitlichen Verlauf der Zellvolumenwerte bei der Kultivierung. Die Zellvolumina sind relativ zum maximalen Volumen angegeben.

Nach der Filtration, also nach zusätzlicher Durchmischung, wurde z.B. in Versuch 7 (Abb. 3.10) eine spezifische Teilungsrate von 0.274/h ermittelt. Setzt man den entsprechenden Wert für E_N (= $8.3 \cdot 10^9$ #/l; s. Tab. 3.7) ein und vernachlässigt wegen der homogeneren Verteilung des autochthonen Substrates den Zelldichte-abhängigen Term, so ergibt sich eine spezifische Teilungsrate von 0.241/h, eine relativ gute Übereinstimmung mit dem Meßwert. Bei Versuch 7 wurde vor der Abtrennung der Ciliaten eine Zelldichte der Bakterien von b = $7.4 \cdot 10^9$ Partikel/l gemessen. Nach Einsetzen von b, E_N sowie μ = 0.02/h in obige Kinetik und Auflösen ergibt sich $F \cdot Y = 20$ (vgl. Anhang C.2, Abb. C.4) oder, bezogen auf Glucose-äquivalente Substratkonzentrationen, F = $8 \cdot 10^{-12}$ g/#. Die Verteilung des autochthonen Substrates wäre damit in den Mischkulturen mangelhaft und selbst geringe bakterielle Zelldichten führten zu deutlichen Auswirkungen auf die messbare Teilungsrate.

Eine Beeinflussung der Ergebnisse (s. 3.5) durch Substratausschüttung während der Aufarbeitung der Kulturen ist nicht auszuschließen. Die nachzuweisenden DOC-Mengen für das bakterielle Wachstum (etwa 0.001 bis 0.002 g/l) wurden bei einem Background von ca. 0.04 g DOC/l methodisch nicht unbedingt erfaßt.

Da in keiner der bisher verfügbaren Quellen, die ähnliche Versuchsansätze wählten (SAMBANIS & FREDRICKSON, 1988; HABTE & ALEXANDER, 1978; CANALE *et al.* 1973), eingehende Abschätzungen über die tatsächliche Verfügbarkeit autochthoner Substrate unternommen wurden, ist nach den hier erzielten Ergebnissen nicht auszuschließen, daß das bakterielle Wachstumsvermögen in Mischkulturen mit *Tetrahymena* bisher überschätzt wurde.

3.6.4 Anmerkungen zu methodischen und strukturellen Problemen bei Untersuchungen des Wachstums von *E.coli*

Die in den Kapiteln 3.1 bis 3.5 dargestellten Ergebnisse verdeutlichen, daß die Interpretation der Versuchsdaten oft erheblichen Schwierigkeiten gegenübersteht.

Sie beziehen sich einerseits auf technische Probleme. Hierunter fiele die Durchmischung der Laborkulturen, die zwar für axenische Kultivierung von *E.coli* durch Rührer optimiert werden könnte (s. HELLER, 1992; BAILEY & OLLIS, 1986). Es ergibt sich jedoch bei Mischkultivierung mit *Tetrahymena* die Einschränkung, daß die Ciliatenzellen zumindest zeitweilig keine hohe mechanische Widerstandsfähigkeit besitzen (s. 2.5.2.2). Im vorigen Abschnitt (3.6.3) wurde auf den u.U. erheblichen Einfluß einer mangelnden Durchmischung hingewiesen. Der Experimentator steht demnach vor dem Problem, Durchmischung und mechanische Beanspruchung der Zellen ausgewogen zu regeln. Im Extremfall muß erwartet werden, daß das Durchmischungsproblem nicht zu lösen ist. Sind hochaffine Substrataufnahmesysteme der Bakterien aktiv und erfolgt dann der Eintrag von Substraten nicht an jedem Punkt der Kultur gleichzeitig (praktisch unmöglich !), ist die Kultur nur noch mangelhaft durchmischt. Daher ist die Abschätzung der Homogenität einer Kultur von hoher biologischen Relevanz. BAILEY & OLLIS (1986) und MAYR *et al.* (1992) geben zwar einige Hinweise, wie die Durchmischung einer Kultur methodisch dargestellt werden kann, doch ist damit noch keine direkte Ankopplung an biologische (populationsdynamische) Mechanismen verbunden. Der Mangel an biologisch korrelierten Bewertungs- und Auswertungsmethoden mag dazu geführt haben, daß kaum weitreichende Betrachtungen der Durchmischung in die Auswertung von Experimenten eingeflossen sind. In der vorliegenden Arbeit wurde der theoretische Hintergrund (Anhang C) erarbeitet und ein Versuch unternommen, speziell dieser Frage nachzugehen (Kap. 3.2), jedoch verdeutlichten die Ergebnisse eher die Komplexität des Wachstumsverhaltens von *E.coli*.

Verdeckte Einflüsse auf die Messung populationsdynamischer Parameter können durch eine Auswahl geeigneter Kontrollparameter aufgedeckt werden. So ermöglichte die elektronisch bestimmte Zellgröße von *E.coli* den Nachweis, daß sich die Wachstumsbedingungen in einer Kultur, die auf Ausscheidungsprodukten der eigenen Art wuchs, änderten, nachdem die Zelldichte verringert war (s. Kap. 3.4). Ebenso erlaubte die Erfassung des DOC im selben Versuch darzustellen, welchen Einfluß die methodisch bedingte Manipulation der Zellen auf spätere Versuchsergebnisse hatte. Hier stellt sich das Problem, Aufwand und Mindestzahl an

Meßparametern abzuwägen.

Im Gegensatz zu früheren Arbeiten (SAMBANIS, 1985; DRAKE & TSUCHIYA, 1976, 1977; CANALE *et al.*, 1973; JOST *et al.* 1973) hat die zusätzliche, intensivere Verfolgung der Meßgrößen "Zellvolumina der Bakterien" und "DOC" eine erhebliche Verbesserung der Bewertung der experimentellen Ergebnisse erbracht.

3.6.5 Darstellung des Wachstums von *E.coli* in mathematischen Modellen

Teilungs- und Biomassewachstum werden oft vereinfachend als äquivalente Prozesse betrachtet. Tatsächlich stimmt dies nur für den Zustand des "balanced growth" (FREDRICKSON *et al.*, 1970), also z.B. im steady state eines Chemostaten. Da hier stationäre Kulturen untersucht wurden, ist diese Voraussetzung für einige Fragestellungen nicht hinreichend erfüllt (s. Tab 3.2). Für Räuber, die diskrete Beuteorganismen erjagen und fressen, kann die Größe der Beuteorganismen von Bedeutung sein, da sich einerseits die Beuteverfügbarkeit, andererseits der Nährwert der Nahrung ändern kann. Nach den Arbeiten von FENCHEL (1980, 1986), HABTE & ALEXANDER (1978) und PAVLOU & FREDRICKSON (1983) ist eine signifikante Änderung der Beuteverfügbarkeit für das Größenspektrum von *E.coli* unwahrscheinlich. Die Änderung der Nahrungsqualität in Korrelation zur Zellgröße ist dagegen bisher nicht untersucht worden (?). Bei den hier durchgeführten Mischkulturversuchen konnte dieses Problem aber ausgeklammert werden, da sich die mittlere Zellgröße der Bakterien im Versuchsablauf nur unwesentlich (< 10%) änderte.

Möchte man jedoch den engen Rahmen verlassen, der mit der Vernachlässigung der Beutegröße gesteckt ist - z.B. kontinuierliche Mischkulturen detaillierter bearbeiten - wird man Modelle aufgreifen, die eine Strukturierung der Bakterienpopulation enthalten ("structured models", FREDRICKSON *et al.*, 1970). Wie in Kapitel 1.4 dargestellt, scheiden für die Betrachtung von Räuber-Beute-Systemen komplex strukturierte Modelle aus. Und auch einige einfach strukturierte Ansätze bieten nicht immer die Möglichkeit, Modell- und Versuchsparameter interaktiv zu behandeln.

HELLER (1992) konnte zeigen, daß Zellzahl und Biovolumen (Teilungs- und Zellvolumenwachstum) in *E.coli*-Kulturen analog dem für *Tetrahymena* (Näheres s. 4.3) erstellten Modell beschrieben werden können:

> Die Substrataufnahme führt zu Zellvolumenzuwachs. Das Zellvolumen sei ein Maß für den physiologischen Zustand der Zelle und bestimmt letztlich die Zellteilungsrate. Zellzahl und Zellvolumen lassen sich relativ einfach mit geeignet ausgerüsteten elektronischen Partikelzählgeräten messen, wobei nur geringe Mengen an Probenvolumen (max. 1 ml) verbraucht werden.

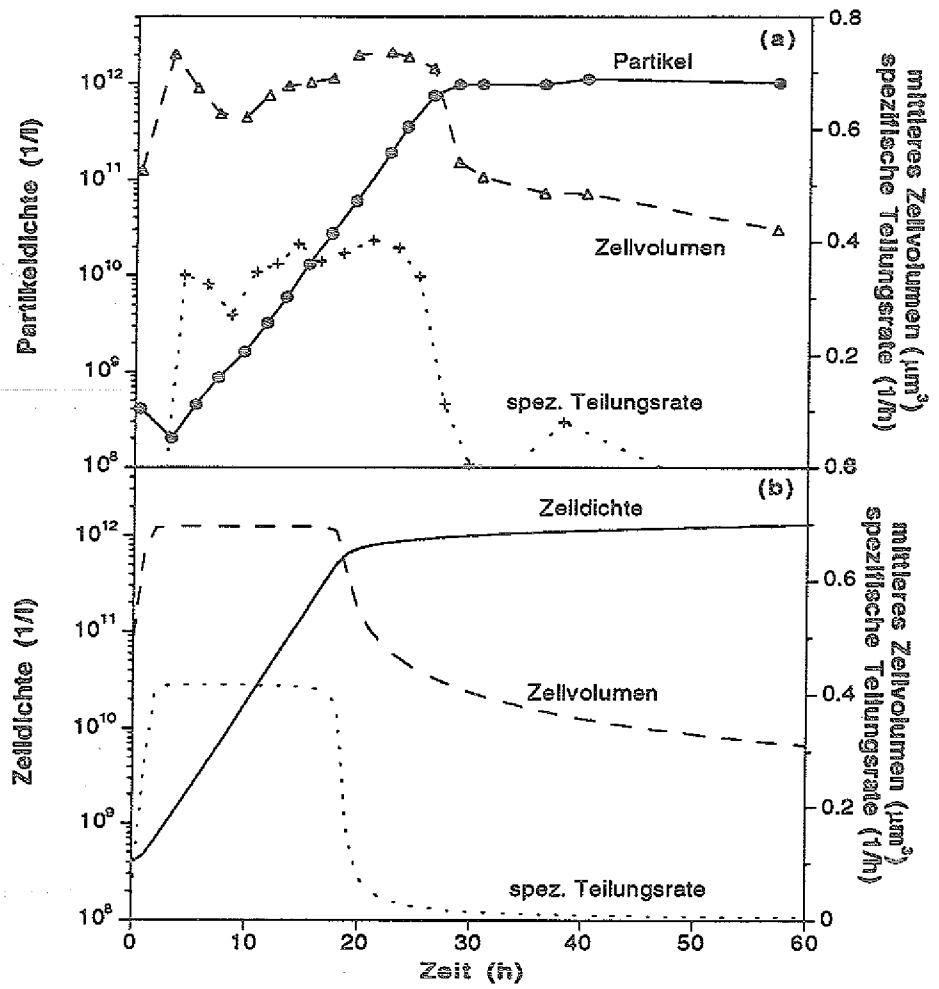


Abb. 3.16: Experiment (a) und Simulation (b) zum Wachstum von *E.coli* auf Glucose in einer Batch-Kultur (nach HELLER, 1992). Die *E.coli*-Population wurde in Zellvolumen und Zellzahl strukturiert.

Mit diesem Modell lassen sich C-limitierte Batch-Kulturen soweit gut simulieren, wie keine umfangreichen Adaptationsphänomene berücksichtigt werden müssen (Abb. 3.16). Für Räuber-Beute-Modelle bietet es Ansätze, die Nahrungsqualität der Beute mit dem mittleren Zellvolumen der Beutebakterien zu verknüpfen. Die in Kapitel 3.6.1-2 geführte Diskussion verdeutlichte aber auch, daß nicht unbedingt die Strukturierung der Beutepopulation notwendig ist, um hinreichende Erklärungen für experimentelle Ergebnisse zu erhalten. Es war vielmehr notwendig, statt neuer Unterpopulationen entscheidende biologische Prozesse in die Modellierung aufzunehmen.

3.7 Fazit zum Wachstum von *E.coli*

Für das Wachstum von *E.coli* in Batch-Kulturen gelten folgende Charakteristika:

- Beim Wachstum von *E. coli* auf Glucose werden während der (exponentiellen) Wachstumsphase autochthone Kohlenstoffquellen freigesetzt und parallel zur Glucose umgesetzt.
- Gekoppelt an Erhaltungsstoffwechsel und Lysis können ebenfalls autochthone Substrate freigesetzt werden, die in relativ geringen Konzentrationen vorliegen. Sie haben keine nachweisbare toxische Wirkung.
- *E.coli* verwertet auch autochthone Substrate, die in Mischkulturen mit *Tetrahymena thermophila* gebildet werden. Diese ciliatenbürtigen Substrate wurden u.U. räumlich inhomogen in den Kulturen verteilt.
- Methodisch bedingte Beeinflussung der Bakterien bei der Versuchsdurchführung kann zur quantitativen Fehleinschätzungen von autochthonem Wachstum führen. Messung von DOC und Zellgröße (oder äquivalenten Parametern) sind für die Beurteilung der Auswirkung von Manipulationen wichtige Größen.
- Die Modellierung des Wachstums der Bakterien in Mischkulturen mit *Tetrahymena* kann auf der Basis von Differentialgleichungen erfolgen.

4 Wachstum von *Tetrahymena thermophila* auf *Escherichia coli* in stationären Laborkulturen

Dieses Kapitel widmet sich den Wachstums- und Nahrungsaufnahmeprozessen der Räuber im untersuchten Räuber-Beute-System. Gemäß den Arbeitshypothesen (s. 1.1) sollte gezeigt werden,

- daß *Tetrahymena* tatsächlich eine sigmoide Freßkinetik besitzt (s. 4.4),
- wie die *Tetrahymena*-Population in Zellzahl- und Biomasse-Subpopulationen unterteilt werden kann (s. 4.3),
- ob toxische Substanzen bei der Kultivierung entstehen (s. 4.2).

Zunächst soll aber die allgemeine Dynamik stationärer Mischkulturen von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* vorgestellt werden.

4.1 Allgemeine Ergebnisse der Versuche mit stationären Mischkulturen

Stationäre Mischkulturen von *Tetrahymena* und *E.coli* wurden entsprechend der Beschreibung in Kapitel 2.4 betrieben. Die Vorkultivierung von *E.coli* wurde bei den einzelnen Versuchen zeitlich so gewählt, daß nach dem Verbrauch der Glucose die Bakterienzellen eine bestimmte Größe (40-50% des maximalen Volumens, s. 2.5.2.1) erreicht hatten, bevor *Tetrahymena* aus einer ca. 24h-Vorkultur inokuliert wurde. Damit konnte eine Beeinflussung der Ciliaten durch unterschiedliche Beutegrößen bei verschiedenen Versuchen weitgehend vermieden werden.

Abbildung 4.1 verdeutlicht die generelle Dynamik solcher Kulturen. Die Ergebnisse für unterschiedliche Start-Beutedichten lassen sich daraus durch Stauchung und zeitliche Verschiebung der Kurven ableiten. Die Beutedichte (Zellzahl) wurde als Partikeldichte und CFU gemessen und dargestellt. *("Partikel" bezieht sich auf bakteriengroße, elektronisch gezählte Partikel; "CFU" sind eine Untergruppe der Partikel, deren Wachstumsvermögen nachgewiesen wurde. s. 2.5.1-2.5.2.1)* Nach dem Animpfen (shift up, s.u.) steigt zunächst das mittlere Zellvolumen, etwas zeitverzögert die Zellzahl der Räuber an. Beide Größen durchlaufen bei der weiteren Kultivierung ein Maximum. Der folgende Verlust an Zellvolumen ist teilweise auf fortgesetzte Teilungen bei verringertem Beuteangebot zurückzuführen. Etwa bei Zellgrößen unter 5000-2900 μm^3 war in allen Versuchen keine Nettoteilung zu beobachten. Das mittlere Zellvolumen nahm exponentiell ab (*spezifische Zellvolumen-Verlustrate*: 0.0065 ± 0.0016 /h); d.h. es wurden Zellsubstanzen/Zellinhalt veratmet (endogene Verluste). Das Teilungswachstum setzte in allen Versuchen zeitverschoben ein. Allerdings schwankten gerade zu Beginn der Versuche die spezifischen

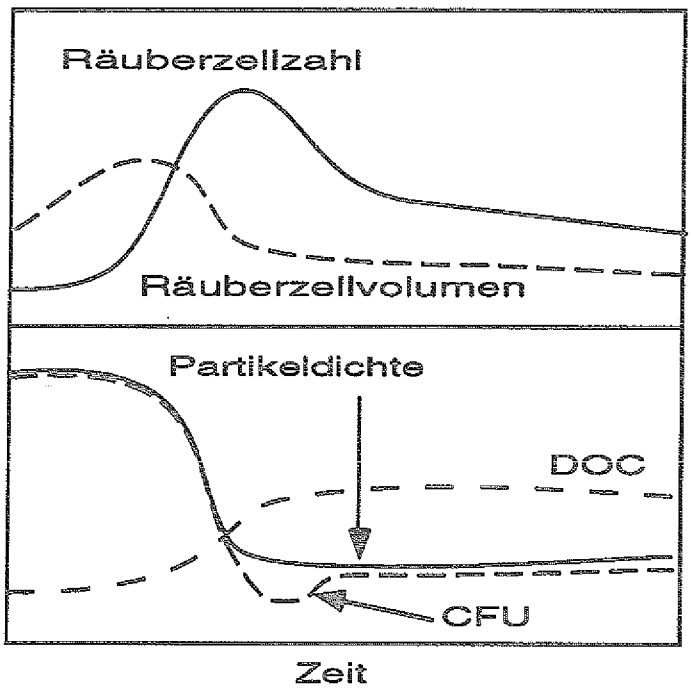


Abb. 4.1: Schematische Darstellung der allgemeinen Dynamik stationärer Laborkultur von *Tetrahymena* und *E.coli* (über ca. 200 h Versuchsdauer).

Teilungsraten sehr stark. Es muß angenommen werden, daß diese Schwankungen methodisch bedingt waren (vgl. Kap. 2.5.2.2). Die Beutedichte wurde generell auf ca. 10^9 #/l dezimiert. Die als CFU gemessene Beutedichte durchläuft ein ausgeprägtes Minimum. Der DOC steigt mit der Dezimierung der Beutedichte an.

Die langfristige Dynamik mit unterschiedlichen Startzelldichten der Beutebakterien ist in den Abbildungen 4.2, 4.4-6 dargestellt (gemessene Parameter: Ciliatenzellzahl, Zellvolumen, Partikeldichte, CFU-Dichte und DOC). Die kurzfristige Dynamik beim Anwachsen der *Tetrahymena*-Population ist in Abbildung 4.3 wiedergegeben. Die in den Abbildungen 4.2-4 dargestellten Versuche bedeuten für die aus der Vorkultur überimpften *Tetrahymena*-Zellen einen Übergang von mäßigem zu gutem Nahrungsangebot (shift up). Abbildung 4.5 bezieht sich auf den Fall, daß in etwa gleichwertige Nahrungsbedingungen überimpft wurde, und Abbildung 4.6 zeigt das Ergebnis für eine Überimpfung in schlechtere Nahrungsbedingungen (shift down). Diese Kulturbedingungen erzeugen bei *Tetrahymena* charakteristische Reaktionen des Teilungswachstums (s. 4.3; SWIFT *et al.*, 1982)

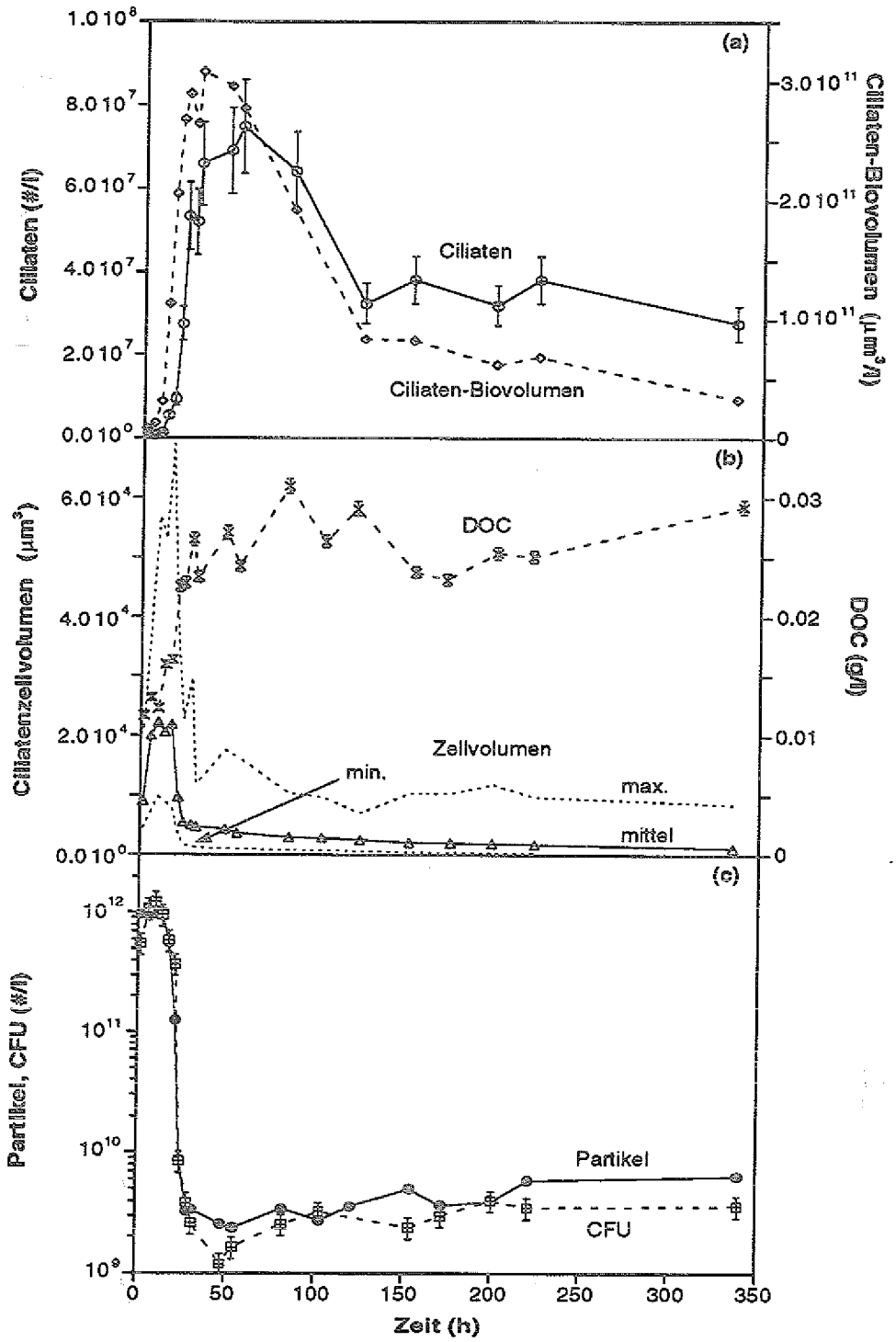


Abb. 4.2 a-c: Langzeit-Mischkultur von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli*. Startzelldichte der Bakterien ca. 10^{12} #/l, der Räuber ca. 10^{6} #/l. Messung der Partikel mit 24 µm Orifice in 1% NaCl-Lösung, Daten überarbeitet (s. 2.5.2.1)

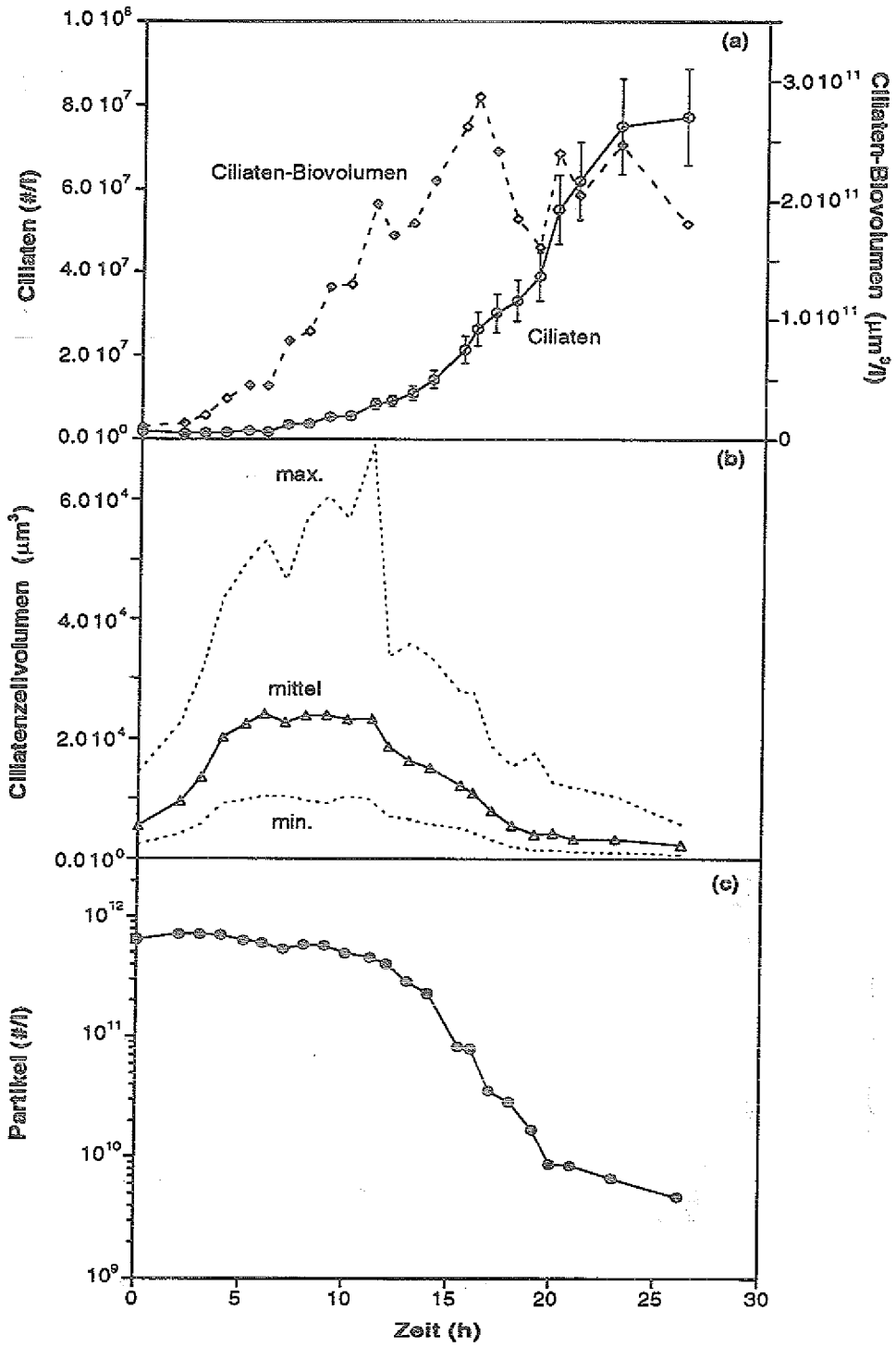


Abb. 4.3 a-c: Kurzzeit-Mischkultur von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli.* Startzelldichte der Bakterien ca. 10^{12} #/l, der Räuber ca. 10^{6} #/l. Messung der Partikel mit 18 µm Orifice in 3% NaCl-Lösung,

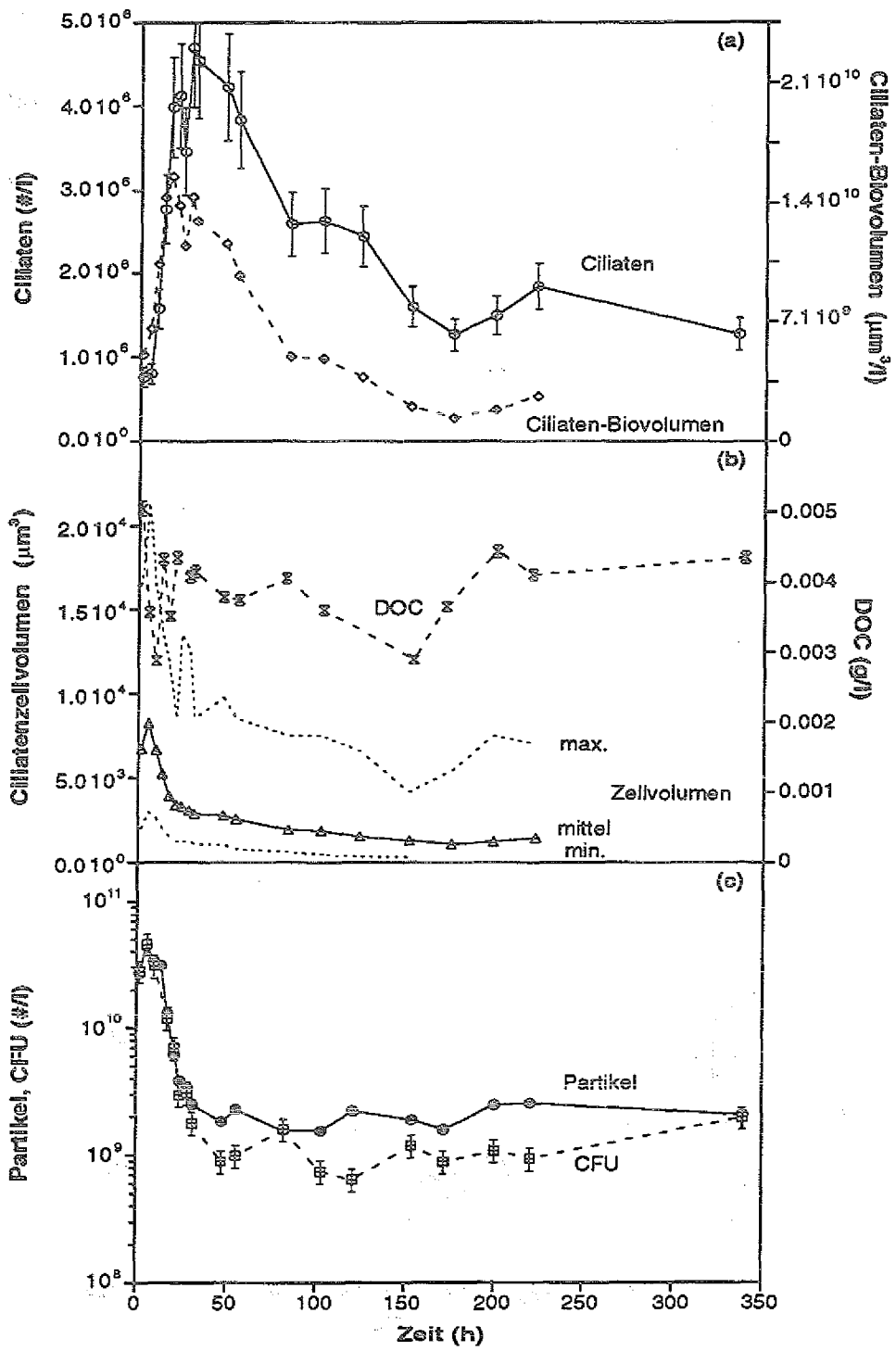


Abb. 4.4 a-c: Langzeit-Mischkultur von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli*. Startzelldichte der Bakterien ca. $5 \cdot 10^{10}$ #/l, der Räuber ca. $8 \cdot 10^{5}$ #/l. Messung der Partikel mit 24 µm Orifice in 1% NaCl-Lösung, Daten überarbeitet (s. 2.5.2.1)

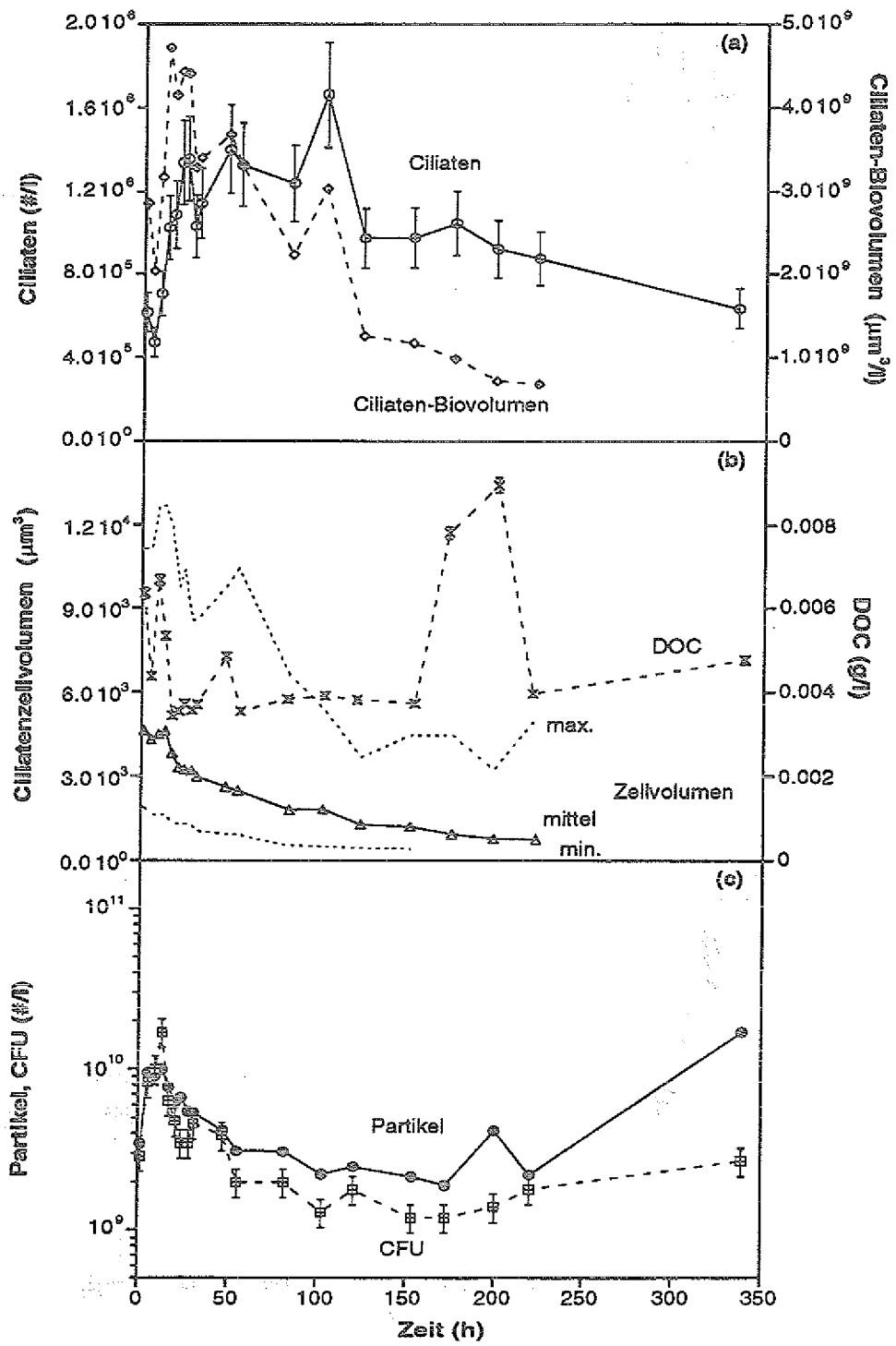


Abb. 4.5 a-c: Mischkultur von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli*. Startzelldichte der Bakterien ca. $1 \cdot 10^{10}$ #/l, der Räuber ca. $6 \cdot 10^{5}$ #/l. Messung der Partikel mit 24 µm Orifice in 1% NaCl-Lösung, Daten überarbeitet (s. 2.5.2.1)

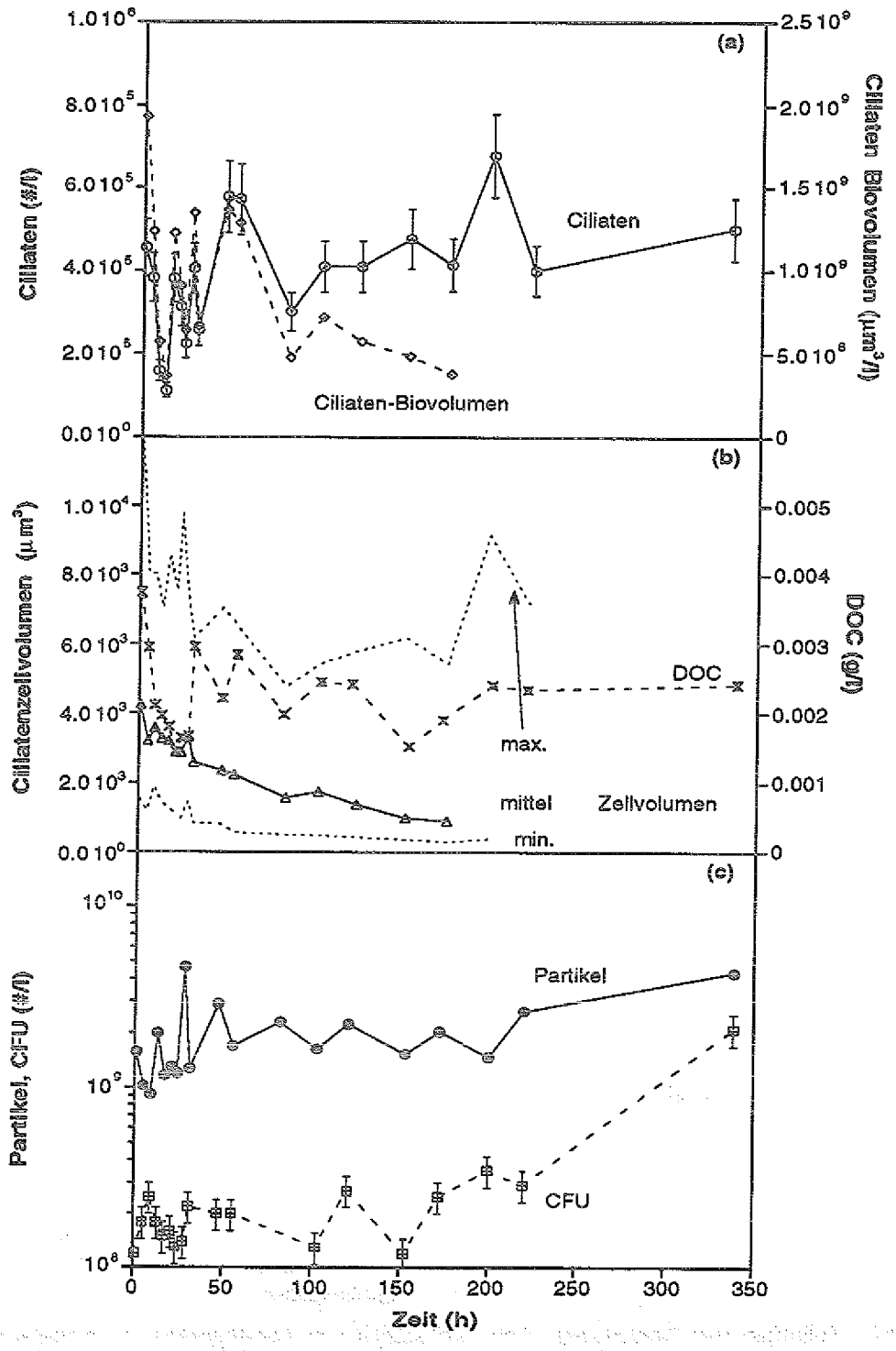


Abb. 4.6 a-c: Mischkultur von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli*. Startzelldichte der Bakterien ca. $2 \cdot 10^8$ #/l, der Räuber ca. $5 \cdot 10^5$ #/l.. Messung der Partikel mit 24 µm Orifice in 1% NaCl-Lösung, Daten überarbeitet (s. 2.5.2.1)

maximale Partikeldichte (Beute) (#/l)	mittlere spezifische Teilungsrate (1/h)	mittlere spezifische Biovolumenwachstumsrate (1/h)
$2 \cdot 10^9$	– *)	– *)
$1 \cdot 10^{10}$	0.057 ± 0.010	0.108 ± 0.002
$3.7 \cdot 10^{10}$	0.072 ± 0.010	0.059 ± 0.014
$3.9 \cdot 10^{10}$	0.084 ± 0.015	0.074 ± 0.007
$4.5 \cdot 10^{10}$	0.159 ± 0.002	0.093 ± 0.006
$5.9 \cdot 10^{10}$	0.091 ± 0.009	0.071 ± 0.006
$9.3 \cdot 10^{10}$	0.116 ± 0.001	0.088 ± 0.008
$5.2 \cdot 10^{11}$	0.238 ± 0.012	0.192 ± 0.230
$7.2 \cdot 10^{11}$	0.210 ± 0.009	0.200 ± 0.025
$8.9 \cdot 10^{11}$	0.215 ± 0.01	0.181 ± 0.023
$1.0 \cdot 10^{12}$	0.233 ± 0.009	0.205 ± 0.033

Tab. 4.1: Teilungs- und Biomassewachstum von *Tetrahymena thermophila* auf *E.coli* in stationären Mischkulturen. Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsraten von der gemessenen Start-Beutedichte. *) = kein Nettowachstum, bzw. Streuung der Meßwerte zu hoch.

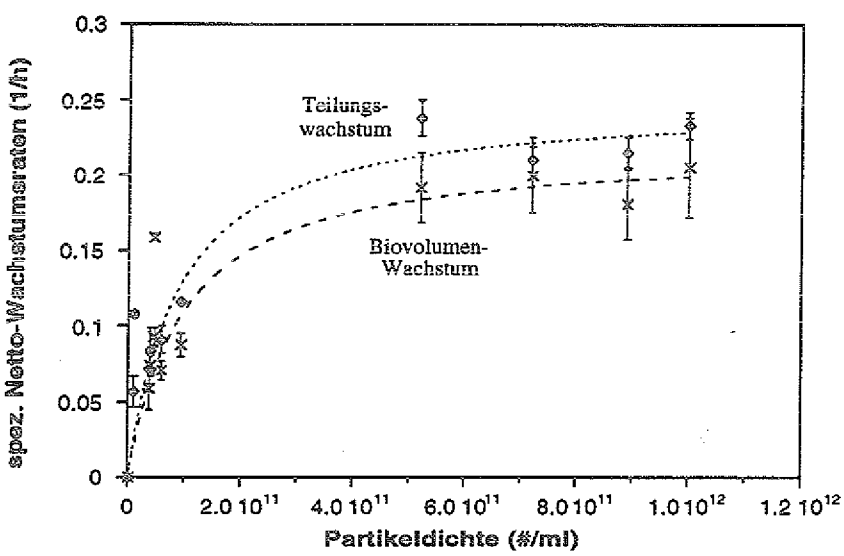


Abb. 4.7: Teilungs- und Biovolumenwachstumskinetik von *Tetrahymena thermophila* auf *E.coli* in stationären Mischkulturen. Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsraten von der gemessenen Start-Beutedichte (Partikeldichte). Die gefüllten Symbole geben nicht berücksichtigte Werte an. Die Daten wurden an Monod-Kinetiken gefittet (gestrichelte Linien, s.Text). Für das Teilungswachstum sind die Werte $\mu_{max N} = 0.248 \pm 0.012$ /h, $L=(8.7 \pm 1.6) \cdot 10^{10}$ /l, RSS = 0.0022 und für das Biovolumenwachstum $\mu_{max Nv} = 0.218 \pm 0.010$ /h, $L=(9.6 \pm 1.7) \cdot 10^{10}$ /l, RSS=0.0016.

Die ermittelten spezifischen Netto-Teilungsraten aller Versuche (nicht lineare Anpassung einer Exponentialfunktion) spiegeln die jeweiligen Ernährungsbedingungen für *Tetrahymena* weitgehend wieder. Sie lassen sich als Monod-Kinetik in Abhängigkeit der Beutedichte (Partikeldichte) darstellen (Tab. 4.1; Abb. 4.7). Eine Reihe anderer Kinetiken (z.B. mit Offset der Beutedichte oder spezifischen Wachstumsrate; vgl. Tab. 1.3) ergeben allerdings qualitativ ähnlich gute Anpassungen. Die Art der Funktion, die die beste Anpassung an die Daten darstellt, wird im wesentlichen von dem "Meßwert" bei niedrigster Beutedichte bestimmt (vgl. Abb. 4.6). Wie der Versuchsverlauf (Abb. 4.6) schon zeigt, konnten die durchschnittlichen spezifischen Wachstumsraten der Ciliaten nur relativ willkürlich festgelegt werden (nämlich 0/h). Vernachlässigt man diesen Wert, so erhält man für Monod-Kinetiken wesentlich schlechtere Anpassungen als für mögliche Alternativen (s.o.), die dann allerdings bei einer Beutedichte von 0 #/l immer noch eine positive spezifische Wachstumsrate prognostizierten. Dies deutet darauf hin, daß bei niedrigen Beutedichten die Wachstumseffizienz der Räuber größer ist (s.a. 4.4). Eine eindeutige Aussage kann aber nicht getroffen werden.

Analog den Betrachtungen des bakteriellen Wachstums lassen sich auch für die Ciliaten Zellzahl- und Biovolumenerträge für das Wachstum auf *E.coli* errechnen. Sie sind bei Betrachtung kurzer Zeitintervalle nur von rein rechnerischem Wert, da sie keine Auskunft über die tatsächliche Ausbeute von Ciliatenbiomasse aus Bakterienbiomasse liefern:

> Die Bakterien werden zunächst in Nahrungsvakuolen eingeschlossen und nicht direkt in Biomasse umgesetzt; d.h. das Biovolumen kann deutlich zunehmen, ohne daß eine Zunahme der Zellbestandteile der Ciliaten erfolgt.

Lysis und Veratmung verringerten die direkt meßbare Ausbeute zusätzlich. Ein denkbares Kriterium für die Abschätzung der Ausbeutekoeffizienten ist der Zeitpunkt, bei dem eine Kultur die maximale Ciliatenzelldichte erreicht hat. Es läßt sich nur auf langfristige Versuche anwenden. Für die Zellausbeute der Ciliaten ergäben sich dann Werte zwischen $0.89 \cdot 10^{-4}$ und $1.7 \cdot 10^{-4}$ Ciliatenzellen/Beutepartikel und für die Biovolumenausbeute 0.16 bis 0.31 μm^3/Beutepartikel. Bei niedrigeren Wachstumsraten erscheinen die Ausbeuten höher.

Die Zelldichte der Ciliaten brach jeweils nach Überschreiten der Maxima mit spezifischen Lysisraten von 0.009 ± 0.004 /h (n=4) bis auf ca. 50% (bei 150 bis 175 h Versuchsdauer) des Maximums ein.Dieses Niveau behielt sie längere Zeit annähernd bei (spez. Lysisrate: 0.0023 ± 0.0013 /h; n=5). Wie aus den Abbildungen ersichtlich ist, kann die Annahme eines exponentiellen Lysisprozesses, wie sie den angegebenen spezifischen Lysisraten zugrunde liegt, nur eine grobe Beschreibung der Meßwerte darstellen. Eine langzeitig konstante Lysisrate scheint es nicht zu geben. Vielmehr scheinen die Lysisverluste bei längerem Futtermangel vorübergehend reduziert zu sein, was auf mindestens zwei physiologisch

deutlich unterscheidbare Zustände der Ciliatenzellen hinweist. Enzystierungen treten aber nicht auf. Die Aktivität der Räuber wurde in einem Versuch (nicht dargestellt) durch neuerliche Zugabe von 0.5 g Glucose/l in eine 150 h alte Kultur nachgewiesen: Selbst nach zwei Tagen war kein bakterieller Zuwachs zu verzeichnen.

Im Kapitel 4.3 wird der Zusammenhang von Teilungs- und Biovolumenwachstum noch einmal detailliert betrachtet. In Kapitel 4.4 wird die spezifische Freßrate (functional response) untersucht, deshalb seien die Änderungen der Partikel- und CFU-Dichte hier nur im Überblick beschrieben.

Auffällig ist das Niveau bis zu dem die Beute (Partikel oder CFU) reduziert wurde. Einfache Modellvorstellungen (s. 1.3.3.3 & 1.4) prognostizieren nur unbedeutende Beutezelldichten. Die *E.coli*-Zelldichten bzw. die Partikeldichten liegen mit dauerhaft mehr als 10^8 #/l bzw. 10^9 #/l in Bereichen, in denen eine zufällige Ausrottung durch Fraß im gegebenen System offensichtlich unmöglich ist.

Beim Erreichen niedriger Beutedichten weichen die parallel gemessenen CFU- und Partikelwerte deutlicher voneinander ab: Ein Effekt, der den zerfallenden grob partikulären (> 2 µm) Ausscheidungsprodukten der Ciliaten zugeschrieben werden kann. Bei dem in Abbildung 4.6 dargestellten Versuch war die Diskrepanz von Partikel- und CFU-Dichte von Versuchsbeginn an vorgegeben. Der Grund ist unklar. Da die in den Abschnitten 3.1, 3.4-5 dargestellten Ergebnisse ein Wachstum der Bakterien in allen Mischkulturen erwarten ließen, das Niveau der CFU in diesem Versuch aber langfristig nahezu gleich blieb, deutet dies auf Fraß durch die Räuber hin (s. 4.4).

Insbesondere bei Kulturen, die mit hohen Beutedichten gestartet wurden, durchlief die CFU- im Gegensatz zur Partikeldichte ein ausgeprägtes Minimum. Abbildung 4.8 zeigt dies noch einmal in sehr ausgeprägter Form für einen Langzeitversuch. Bereits SAMBANIS (1985) wies darauf hin, daß hier ein systematisches Phänomen vorliegt. Ein Erklärungsansatz liegt in der zeitverzögerten Wirkung von DOC-Ausscheidungen auf das bakterielle Wachstum (Adaptation an autochthone ciliatenbürtige Substrate; vgl. Abb. 4.2).

Die Kopplung der DOC-Freisetzung an die Ciliatenpopulation wird durch den Anstieg der DOC-Werte nach Inokulation der Bakterienvorkultur mit *Tetrahymena* unterstrichen (Abb. 4.2; vgl. Abb. 3.1). Es ist daher wahrscheinlich, daß ein erheblicher Anteil des bakterienverfügbaren DOC direkt oder indirekt von den Ciliaten produziert wurde. In Kapitel 3.5 wurde bereits dargestellt, inwieweit dieser DOC wachstumsfördernd für die Bakterien sein kann.

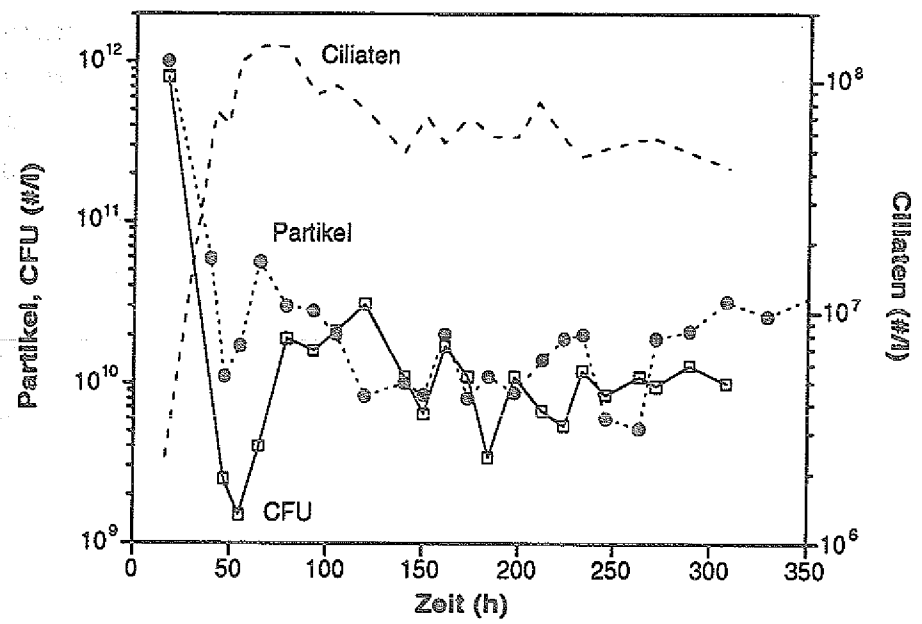


Abb. 4.8: Verlauf der CFU-Dichte in einer Langzeit-Mischkultur von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli*. Zum Vergleich ist die Ciliaten- und Partikeldichte ebenfalls dargestellt.

Abschließend sei noch das Schwimmverhalten von *Tetrahymena* in Abhängigkeit von der Beutedichte skizziert. Aufgrund der einfachen Methodik (s. 2.5.3), die Ciliaten direkt nach der Probennahme mikroskopisch ohne weiteren Aufwand 30 s lang zu beobachten, können hier nur subjektive Ergebnisse dargestellt werden. Bei hohem Nahrungsangebot (um 10^{12} Bakterien/l) schwammen die meisten Ciliaten langsam, meist in großen Bögen oder geradlinig, taumelnd. Mit Abnahme des Nahrungsangebotes wurde das Schwimmen beschleunigt. Bei länger andauernder Beuteknappheit verringerte sich die Bewegungsaktivität wieder (nach etwa 100 h) bzw. es fanden sich alle Bewegungstypen.

4.2 Wachstum von *Tetrahymena thermophila* im konditionierten Medium

Auch wenn im Rahmen dieser Arbeit speziell Räuber-Beute-Beziehungen untersucht werden, kann nicht davon ausgegangen werden, daß die Wechselwirkungen zwischen den Organismen nur durch die Nahrungsbeziehungen gegeben sind. Untersuchungen über die Qualität von Futterbakterien bzw. Modifikationen des Mediums durch Ausscheidungsprodukte zeigten auf, daß Beuteorganismen toxische oder inhibierende Wirkung auf räuberische Protozoen haben können (CURDS *et al.*, 1966; BURBANCK, 1942; KIDDER, 1941;LUCK *et al.*, 1931 u.a.).

Um den Einfluß des Mediums der Bakterien-Vorkultur auf *Tetrahymena thermophila* darzustellen, wurde zunächst nach der üblichen Methode *E.coli* vorkultiviert (s. 2.4; eine 1 l Bakterienkultur 18 h auf BC-Medium). Danach wurden die Bakterien durch Zentrifugation steril geerntet. Eine Hälfte dieser Bakterienvorkultur wurde dreimal mit Glucose-freiem BC-Medium gewaschen (Zentrifugation, Resuspendieren) und letztlich zur Kultivierung resuspendiert. Alle Arbeitsschritte ohne das Waschen wurden mit der zweiten Hälfte der Vorkultur ebenfalls durchgeführt. Die Bakterienzelldichte des gewaschenen Ansatzes wurde auf etwa den selben Wert wie den der ungewaschenen Vorlage eingestellt. Mit je 0.3 l der Vorlagen wurden die Versuchskulturen betrieben, die mit ca. 10^6 *Tetrahymena* /l angeimpft wurden. Das Wachstums der Ciliaten auf *E.coli* im konditionierten und frischen BC-Medium ist in Abbildung 4.9 dargestellt.

Der Unterschied zwischen den Kulturen ist im Wesentlichen in der kürzeren lag-Phase der Ciliatenpopulation im konditionierten Medium zu sehen. Maximale Ciliatenzellzahl und die mittleren Ciliatenzellvolumina wichen kaum voneinander ab. Die *Tetrahymena*-Population erreichte in den Kulturen folgende mittlere spezifische Teilungsraten (nichtlineare Kurvenanpassung an den "exponentiellen Teil" der Wachstumskurve):

frisches Medium / gewaschene *E.coli*: $\mu_N = 0.292 \pm 0.015$ /h

konditioniertes Medium / ungewaschene *E.coli*: $\mu_N = 0.266 \pm 0.013$ /h.

Hier ergab sich ein geringer Unterschied zwischen den Werten (ca. 10%), der jedoch aufgrund der mittleren Fehler nicht als signifikant einzustufen ist. Das Biovolumen zeigte keinen deutlichen Bereich exponentiellen Zuwachses.

Auch in bezug auf die (Beute-) Partikeldichte ergaben sich außer der Zeitverschiebung keine wesentlichen Unterschiede zwischen konditioniertem und frischem Medium. Es konnte also davon ausgegangen werden, daß keine erkennbare Inhibition der Protozoen durch *E.coli* nachzuweisen war.

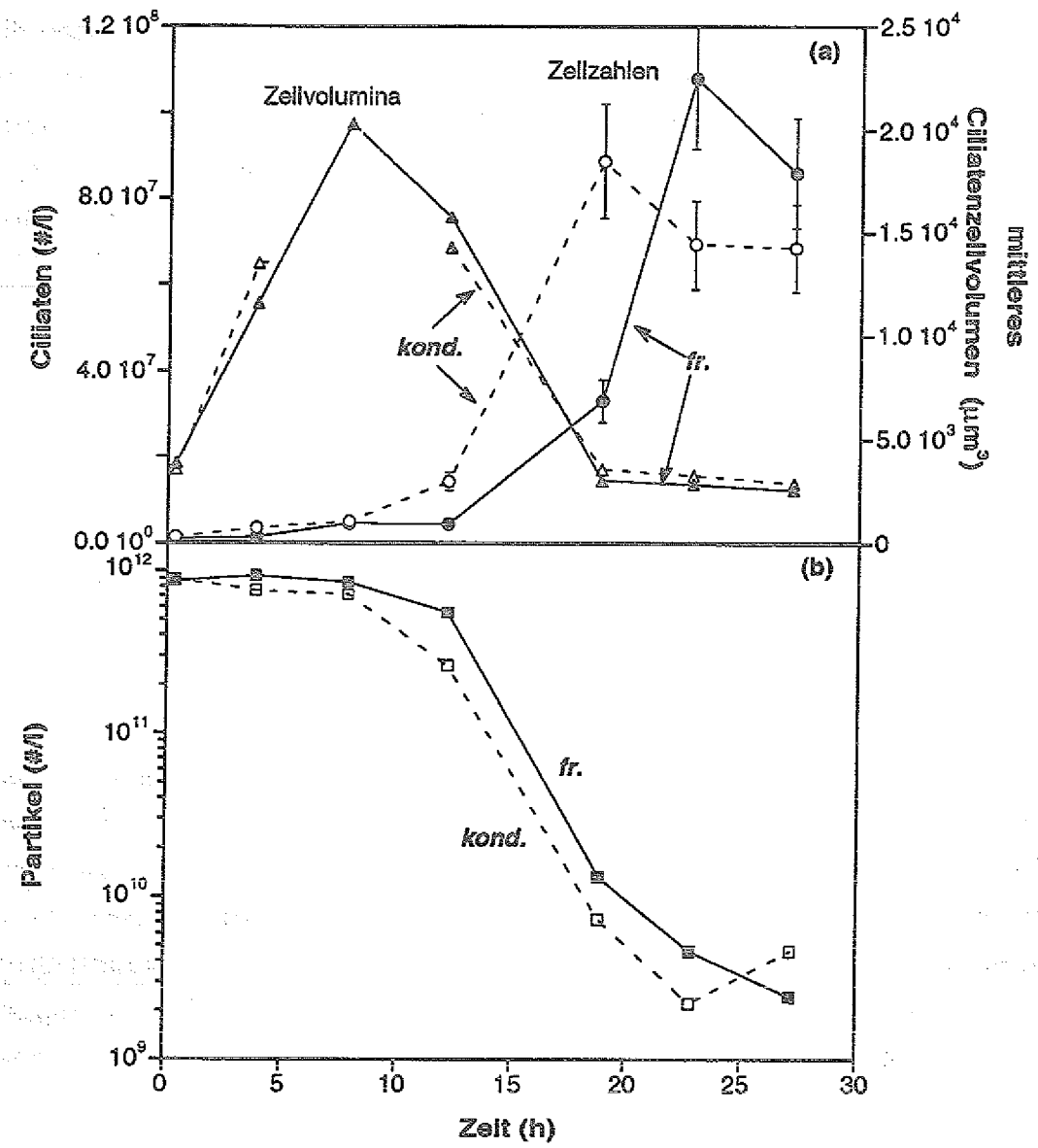


Abb. 4.9 a/b: Wachstum von *Tetrahymena thermophila* auf *E.coli* im frischen (*fr.*) und konditionierten (*kond.*) BC-Medium (jeweils ohne Glucose).

4.3 Das Teilungswachstum von *Tetrahymena thermophila*

Entsprechend den Arbeitshypothesen (s. 1.1.1) wurde versucht, die Räuberpopulation in Biovolumen (Biomasse) und Zellzahl zu strukturieren, so daß sich damit einige biologische Beziehungen (z.B. auf Basis von Lysis, Exkretion, Abhängigkeiten der Freßrate) differenzierter betrachten lassen. In Kapitel 4.1 wurden kinetische Funktionen für das Biovolumen- und Teilungswachstum *Tetrahymenas* aus den Meßwerten hergeleitet, wie sie üblicherweise zur Beschreibung von Wachstumsprozessen in der Mikrobiologie verwendet werden. So bestünde die Möglichkeit, ein Differentialgleichungsmodell mit Wachstumskinetiken der Ciliaten für die Zellzahl und das Biovolumen jeweils in Abhängigkeit von der Beutedichte zu modellieren. Gewinnbringend wäre eine solche Modellierung nur in geringem Umfang, da sie kaum eine neue Sichtweise beinhaltet.

Hier soll von einer anderen Vorstellung ausgegangen werden, wie sie schon bei der Betrachtung des bakteriellen Wachstums anklang (s. 3.6.6), und deren Grundlagen zu diskreten Größenklassen-Modellen des bakteriellen Wachstums geführt haben (SAIDEL, 1968; KOCH & SCHAECHTER, 1962):

> Das mittlere Zellvolumen einer Ciliatenpopulation soll als Indikator des physiologischen Zustandes dienen. Vereinfacht soll gelten, daß ein großes mittleres Zellvolumen einen "besseren" und ein kleines mittleres Zellvolumen einen "schlechteren" physiologischen Zustand charakterisiert.

Für die hier durchgeführten Untersuchungen sollen diese Begriffe mit der Teilungsaktivität der Ciliatenzellen verknüpft werden. Es wird angenommen, daß mit zunehmendem mittleren Zellvolumen auch die (teilungs-)aktive Biomasse zunimmt, und damit die spezifische Teilungsrate. Das mittlere Zellvolumen wird durch die Freßaktivität, Anabolismus und Katabolismus bestimmt. Diese Annahmen stimmen relativ gut mit experimentellen Ergebnissen überein: Eine *Tetrahymena*-Population mit großen Zellen wuchs bei geringer Beutedichte mit hohen Netto-Teilungsraten, obwohl die Beutedichte in einem Experiment mit kleinen *Tetrahymena*-Zellen keine hohe Teilungsaktivität zuließ (s. Abb. 4.3 & 4.5, 4.6; Tab. 4.1).

Das Zellvolumen der Ciliaten war bei anfänglich guten Ernährungsbedingungen überwiegend von Nahrungsvakuolen erfüllt, selbst dann noch, wenn sich die Beutedichte deutlich verringert hatte. Nährstoffe in Nahrungsvakuolen tragen zwar zur Erhöhung des Zellvolumens bei, sind jedoch schwerlich als teilungsaktive Ciliatenbiomasse aufzufassen. Dies wurde deutlich, wenn die Ciliaten aus der beutearmen Vorkultur in eine beutereiche Versuchskultur überimpft wurden (shift up): Das mittlere Zellvolumen nahm rasch zu (viele Nahrungsvakuolen mikroskopisch erkennbar), die Teilung der Zellen setzte aber wesentlich später ein. Die Bildung und Umsetzung von Nahrungsvakuolen (oder generell von

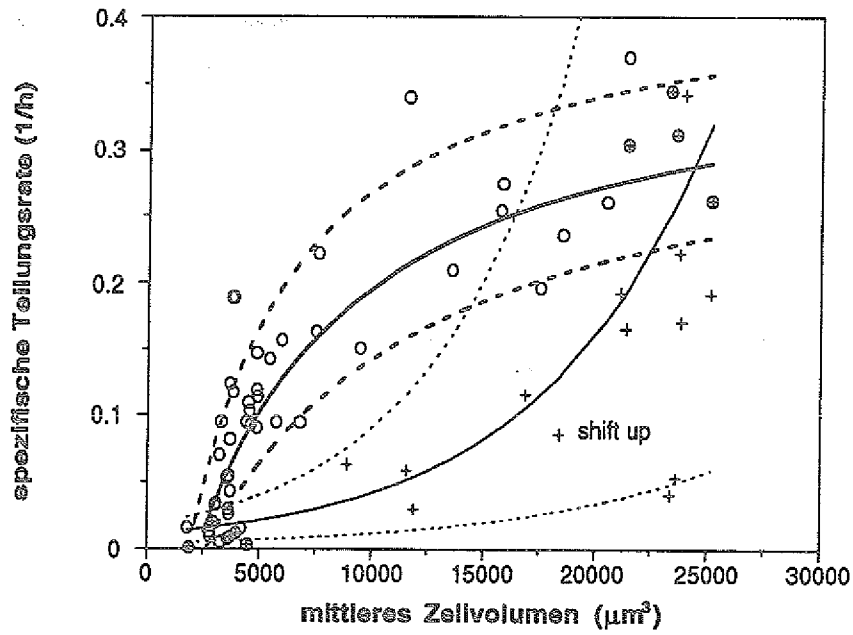


Abb. 4.10: Spezifische Teilungsraten von *Tetrahymena thermophila* in Abhängigkeit vom mittleren Zellvolumen. Dargestellt sind die spezifischen Teilungsraten, die über die Meßintervalle aus elf Experimenten ermittelt wurden. Die eingezeichneten Kurven geben die Funktionen (und ihre Fehler) aus Tabelle 4.2 wieder (s. Text).

Speichersubstanzen) führt also zu einer Zeitverzögerung zwischen dem meßbaren Biovolumen- und Zellzahlwachstum. In Abhängigkeit von der Vorkultivierung ändert sich also die Korrelation von Zellvolumina und Teilungsrate.

Trotz dieser Komplikation ließ sich die Teilungsrate in Abhängigkeit vom mittleren Zellvolumens darstellen. Es wurde für jedes Meßintervall aller Versuche (n=11) die spezifische Teilungsrate und das mittlere Zellvolumen im Mittel des Meßintervalls berechnet In Abbildung 4.10 sind alle positiven Werte der spezifischen Teilungsraten aufgetragen.

In den Abbildungen 4.11 bis 4.13 wurden die zeitlichen Abläufe dreier Experimente, die verschiedene Charakteristika zeigen (vgl. 4.1), aus Abbildung 4.10 dargestellt:

1.) shift up: Animpfen der Ciliaten in eine beutereichere Kultur (s.o.) mit verzögert einsetzendem Teilungswachstum (n=4; Abb. 4.11).
2.) Animpfen der Ciliaten in eine Versuchskultur mit Bedingungen, die denen der Vorkultur entsprechen. Es erfolgten relativ geringe Veränderungen der Zellvolumina in den ersten Meßintervallen mit fast gleichbleibender spezifischer Teilungsrate (n=3; Abb. 4.12).
3.) shift down: Animpfen der Ciliaten in eine beutearme Kultur mit rascher Reduzierung des mittleren Zellvolumens bei zwischenzeitlich relativ hohen Teilungsraten. (n=4; Abb. 4.13).

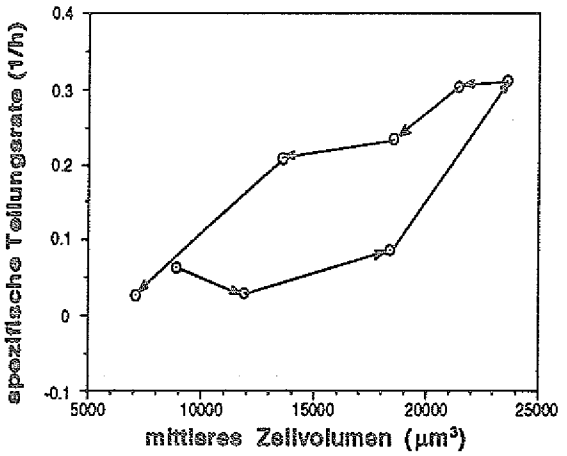


Abb. 4.11: Phasendiagramm von Zellvolumen und spezifischer Teilungsrate von *Tetrahymena thermophila* bei einem shift up Experiment (s.Text)

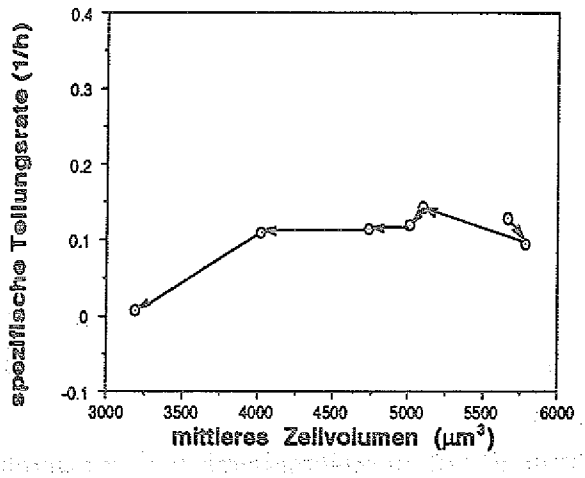


Abb. 4.12: Phasendiagramm von Zellvolumen und spezifischer Teilungsrate von *Tetrahymena thermophila* in einem Experiment, bei dem die Ciliaten in der Vorkultur entsprechende Nahrungsbedingungen überimpft wurden (s.Text)

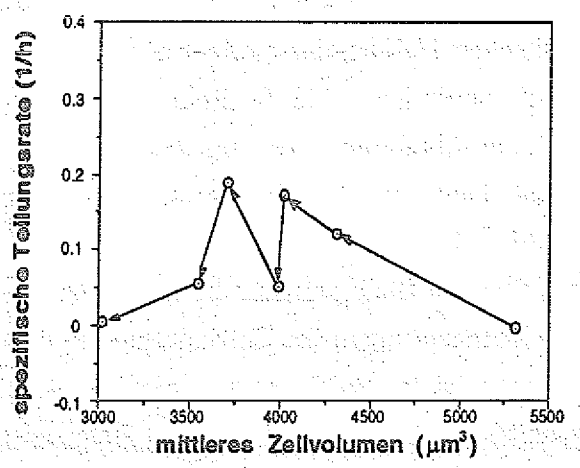


Abb. 4.13: Phasendiagramm von Zellvolumen und spezifischer Teilungsrate von *Tetrahymena thermophila* bei einem shift down Experiment (s.Text)

Funktion	Parameterwerte
$\mu_N = a_{11}\, e^{(a_{12}\, c_V)}$	$a_{11} = 0.011 \pm 0.007$ /h $a_{12} = (1.34 \pm 0.27) \cdot 10^{-4}$ /µm^3
$\mu_N = \frac{a_{21}\,(c_V - c_{V0})}{a_{22} + (c_V - c_{V0})}$	$a_{21} = 0.385 \pm 0.047$ /h $a_{22} = 7474 \pm 2573$ µm^3 $c_{V0} = 2298 \pm 369$ µm^3

Tab. 4.2: Funktionen zur Beschreibung des Teilungswachstums von *Tetrahymena thermophila* in Abhängigkeit vom mittleren Zellvolumen. Die Exponentialfunktion beschreibt das Verhalten nach dem Animpfen bei einem shift up-Experiment. Die Offset-Sättigungsfunktion beschreibt das Verhalten für ein shift up-Experiment nach Überschreiten des Zellvolumenmaximums und das generelle Verhalten einer Kultur, die keinen shift in der Beuteverfügbarkeit beim Animpfen erfahren hat. μ_N ist die spezifische Teilungsrate, c_{V0} ist der Grenzwert des Zellvolumens, für den gilt $\mu_N > 0$.

Problematisch bei der Auswertung ist die große Streuung der ermittelten spezifischen Teilungsraten über alle Versuche, die eine mathematische Beschreibung dieser Phänomene erschwert. In Abbildung 4.10 wurden Funktionen für die Fälle 1.) und 2.) eingezeichnet, die sich mit den Meßwerten korrelieren lassen. Bei den Versuchen zu 3.) ließ sich keine geeignete mathematische Funktion zur Beschreibung finden. Für shift up-Situationen wurde für das anfängliche Zellvolumenwachstum eine Exponentialfunktion den Meßwerten dreier Versuche angeglichen. Für das Verhalten der spezifischen Teilungsrate nach Überschreiten des maximalen Zellvolumens wurde für die Fälle 1.) und 2.) eine Offset-Sättigungsfunktion mit den Daten aller Versuche ermittelt. Die Parameterwerte beider Funktionen sind in Tabelle 4.2 aufgeführt.

Aus den später dargestellten Simulationen wird ersichtlich, daß trotz Schwierigkeit der mathematischen Beschreibung die gefundenen Funktionen hinreichend sind, um qualitativ und quantitativ gute Ergebnisse zu erzielen (s. 5.1-4).

4.4 Die Freßaktivität von *Tetrahymena thermophila*

Schon in der Einleitung wurde auf die Schlüsselrolle der spezifischen Freßrate (functional response) für die Koexistenz von Räuber und Beute hingewiesen. Hier soll nun die Freßrate von *Tetrahymena thermophila* eingehender untersucht werden. Grundlage sind Experimente, wie sie in Kapitel 4.1 dargestellt wurden. Insgesamt wurden 11 Kulturen untersucht, die 62 berücksichtigte Werte (Meßintervalle) lieferten. Die spezifische Freßrate soll lediglich in bezug auf elektronisch gezählte, bakteriengroße Partikel (als Beute) dargestellt werden. Zum einen war der Aufwand der elektronischen Zählung geringer und die Genauigkeit größer als bei der Ermittlung der CFU. Zum anderen ergaben die auf CFU bezogenen Berechnungen keine erkennbaren Unterschiede. Die Freßraten wurden im wesentlichen in dem Zeitraum der Kultur ermittelt, wo keine Freisetzung unbelebter Partikel zu erkennen war.

Die spezifische Filtrationsrate ("f"; clearence, clearence rate) ist definiert als das durch einen Ciliaten pro Zeiteinheit partikelfreifiltrierte Kulturvolumen. Ausgehend von der Formel $\frac{dp}{dt} = - f\, p\, c_N$ (p = Partikeldichte; c_N = Ciliatenzelldichte; t = Zeit) erhält man durch Integration und Umstellung $f = \frac{\ln (p_1 / p_2)}{\Delta t\ \overline{c_N}}$, wobei $\overline{c_N}$ die mittlere Ciliatenzelldichte im Zeitintervall darstellt und sich mit $\overline{c_N} = c_{N1}\, e^{(\mu\, \Delta t/2)}$ errechnet. Die spezifische Freßrate "u" (Anzahl der pro Ciliaten und Zeiteinheit gefressenen Partikel) kann dann durch $u = f\, p$ bzw. $u = f\, \overline{p}$ mit $\overline{p} = \frac{p_1+p_2}{2}$ ermittelt werden.

In Kapitel 3.5 wurde experimentell über den Verlauf einer Mischkultur gezeigt, daß generell mit einem verdeckten Wachstum der Beutepopulation gerechnet werden muß. In Abwandlung der zuvor dargestellten Berechnung von Filtrationsrate und spezifischer Freßrate, muß hier von der Formel $\frac{dp}{dt} = - f\, p\, c_N + \mu\, p$ für die Entwicklung der Beute-(Partikel-)Population ausgegangen werden (μ bezeichnet die spezifische Teilungsrate der Beute). Durch Integration und Umstellung erhält man die Filtrationsrate:

$$f = \frac{\ln (p_1 / p_2)}{\Delta t\ \overline{c_N}} + \frac{\mu}{\overline{c_N}} \tag{4.1}$$

und es gilt wie zuvor

$$u = f\, \overline{p} \tag{4.2}$$

Problematisch ist die Abschätzung der spezifische Teilungsrate der Beutepopulation. Wie schon unter Kapitel 3.5 und 3.6.3 dargestellt und erörtert, sind verschiedene Einflüsse denkbar, die zur Überschätzung der spezifischen Wachstumsraten führten. Eine befriedigende Schätzung ließ sich aus dem Zusammenhang der Zellgröße und spezifischen Teilungsrate von *E.coli* herleiten (s. 3.6.3). Hierzu mußten die mittleren Zellvolumina der *E.coli*-Population in

den Mischkulturen herangezogen werden. Da die meisten Versuche noch mit einem 24µm-Orifice und 1% NaCl-Lösung im Counter ausgezählt worden waren, ist die Genauigkeit der Abschätzung nicht immer optimal (s. 2.5.2.1).

Die spezifische Teilungsrate der Beute wurde mit der Funktion $\mu_p = 0.00146 \cdot e^{(0.056 \cdot V\%)}$ (mit V% = % des maximalen Zellvolumens; HELLER, 1992; s. Abb. 3.15) für das Wachstum auf Glucose (!) und Tabelle 2.2 (s. 2.5.2.1) geschätzt. Mit den Formeln 4.1-2 wurde dann die spezifische Freßrate berechnet. Zur Korrektur etwaiger Fehlmessungen wurden die auf die Partikeldichte bezogenen Werte mit den CFU abgeglichen. Bei zwei aufeinanderfolgenden Meßintervallen, die eine gemeinsame Fehlmessung aufwiesen, wurde diese durch Berechnung der Werte für das Gesamtintervall eliminiert (6 Werte). Ferner zeigte sich, daß gerade zu Beginn der Versuche die Meßwerte stark streuten (Restwachstum der Bakterien; Adaptation bzw. Teilsynchronisation der Ciliaten). Diese Messungen (die ersten bzw. ersten beiden der Versuche) wurden für die folgende Auswertung vernachlässigt (20 Werte). In den folgenden Abbildungen finden sich noch große Streuungen der Meßwerte insbesondere zu Versuchsbeginn, bei denen die Ungenauigkeit der Zählung wegen niedriger Ciliatenzelldichten besonders hoch ist (bis zu 20% Standardabweichung).

Qualitativ wirkte sich die Einbeziehung des bakteriellen Wachstums in die Berechnung der spezifischen Freßrate auf die Verteilung der Meßpunkte nur wenig aus. Natürlich wurden die Absolutwerte der spezifischen Freßrate erhöht, was insbesondere den Bereich niedriger Freßraten betraf (im Mittel + 78%; für Beutedichten unter $5 \cdot 10^{10}$/l im Mittel + 93%).

Die Abbildungen 4.14 und 4.15 geben für hohe und niedrige Beutedichtenbereiche die Werte und Fehler der korrigierten spezifischen Freßrate sowie die Trajektorien ausgewählter Experimente wieder. Es ist offensichtlich, daß einfache hyperbolische Freßkinetiken (functional response Holling Typ II) diese Werte nicht beschreiben können. Zwei Beobachtungen können jedoch erheblich die Darstellung des Zusammenhangs erleichtern:

CURDS & COCKBURN (1971): Abhängigkeit der spezifischen Freßrate von der Relation der Räuber- und Beutedichte,

CORLISS (1953), WATSON *et al.* (1981): Änderungen des Schwimmverhaltens in Abhängigkeit von der Beutedichte.

Übertragen auf die Versuchssituation bedeutet das (s.a. 4.1):

- die *Tetrahymena*-Zelldichte beeinflußt aufgrund gegenseitiger Behinderung der Räuber oder Effekte der Inhomogenität der Laborkultur (vgl. Anhang C.1, Anhang E) die Freßaktivität;
- Änderungen des Schwimmverhaltens weisen auf Änderungen der "Trefferwahrscheinlichkeit" usw. und damit der freßkinetischen Konstanten hin.

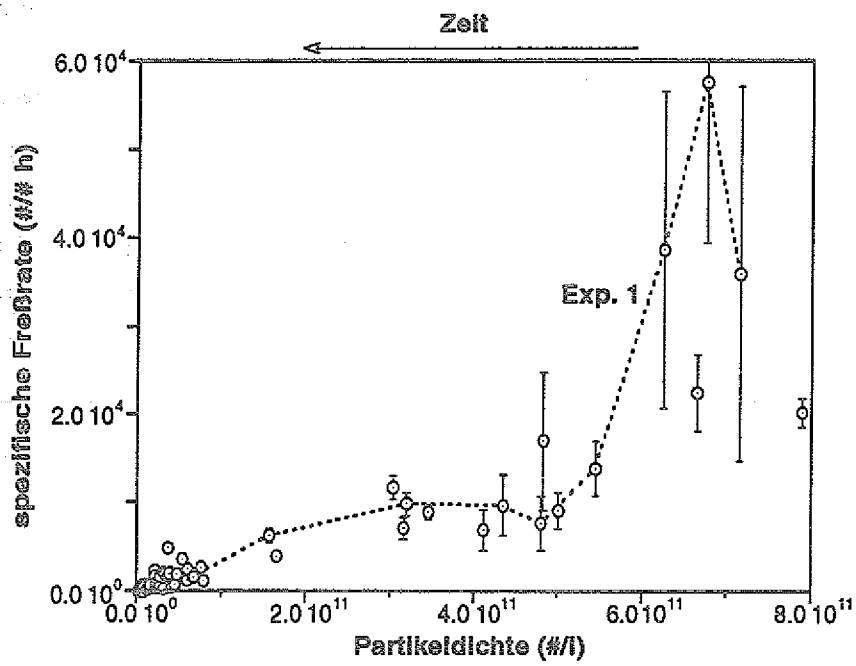


Abb. 4.14: Spezifische Freßrate von *Tetrahymena thermophila* beim Wachstum auf *E.coli* im Bereich hoher Beutedichte (Bakterien elektronisch als Partikel gezählt). "Exp.1" kennzeichnet den Verlauf der Werte eines Experiments, daß bei hohen Beutedichten gestartet wurde.

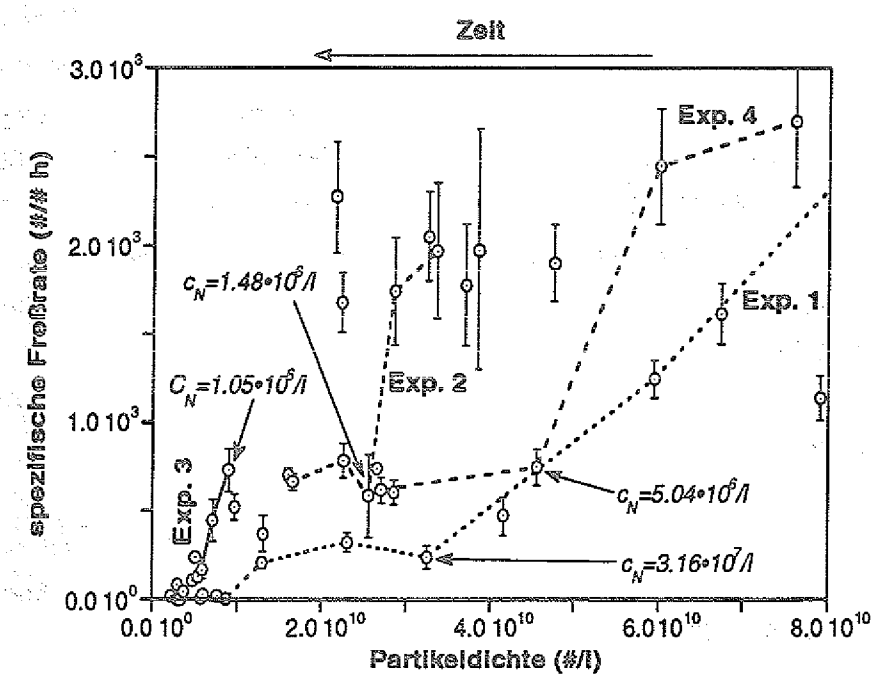


Abb. 4.15: Spezifische Freßrate von *Tetrahymena thermophila* beim Wachstum auf *E.coli* im Bereich niedriger Beutedichte (Bakterien elektronisch als Partikel gezählt). "Exp. 1" usw. kennzeichnen den zeitlichen Verlauf der Werte von vier Experimenten (s. Abb. 4.14). Bei einigen Datenpunkten wurde zusätzlich die Räuberdichte (c_N) angegeben.

Eine detaillierte Diskussion des Ansatzes findet sich im Abschnitt 4.5.2. Hier soll dargestellt werden, daß die Berücksichtigung dieser Implikationen eine sinnvolle Interpretation der Versuchsdaten erst ermöglichte.

Die Daten wurden in drei Gruppen unterteilt, mit denen Modelle der Freßkinetik durch Kurvenanpassungen untersucht wurden. Die erste Gruppe erfaßt die spezifische Freßraten bei Beutedichten über $6 \cdot 10^{11}$ Partikel/l. Aufgrund großer Ungenauigkeiten und weniger Daten wurde für diese Datengruppe kein Modell angepaßt. Die zweite Gruppe erfaßt den Bereich der Beutedichte von $2 \cdot 10^{10}$/l bis $6 \cdot 10^{11}$/l mit spezifischen Freßraten unter 16000/h, und die dritte Gruppe den Beutedichtenbereich bis maximal $5 \cdot 10^{10}$/l und spezifischen Freßraten unter 1000/h. Die Modelle und Ergebnisse der Kurvenanpassungen sind in den Tabellen 4.3 & 4.4 dargestellt.

Schlechte Anpassungsergebnisse (Modelle 1-3 in Tab. 4.3 & 4.4; vgl. RSS-Werte) oder große Fehler in den Parametern wurden bei rein Beute-abhängigen Kinetiken erzielt. Bei Berücksichtigung des Räubereinflusses auf die Kinetik konnten mit Modellen, die einem functional response Typ II für heterogen durchmischte Kulturen (Modelle 8 in Tab. 4.3 &4.4; vgl. Anhang C.1) oder einem functional response Typ III (Modelle 7, 9 bis 11 in Tab. 4.3 und Modell 7 und 10 in Tab. 4.4) entsprachen und die einen von der Räuber- und Beutepopulation unabhängigen Term im Nenner enthielten, die besten Resultate erzielt werden. Teilweise lassen sich diese Kinetiken mit komplexeren Annahmen zur spezifischen Freßrate herleiten (s. Anhang E).

Für weitere Arbeiten wurden die in den Tabellen unter 10 angegebenen Kinetiken verwendet, da sie gute Anpassungen an die Versuchsdaten bei wenigen Anpassungsparametern lieferten und keine negativen Freßraten vorhersagen können (vgl. Modelle 7) .

Die Funktion, die den Übergang der beiden Kinetiken in bezug auf Räuber- und Beutedichte beschreibt, läßt sich durch einfache Gleichsetzung der Formeln herleiten. Für die ausgewählten Fälle ist dann:

$$c_N^2 = \frac{u_{max2} - u_{max1}}{u_{max1} F_2^2 - u_{max2} F_1^2} P^2 + \frac{u_{max2} L_1^2 - u_{max1} L_2^2}{u_{max1} F_2^2 - u_{max2} F_1^2}.$$

Die Güte der Anpassung ist im Vergleich zu experimentellen Abläufen in den Abbildungen 4.16 und 4.17 dargestellt. Es wird deutlich, daß die experimentellen Kurven steiler verlaufen, als von den Modellen vorhergesagt, ein Effekt, der zum Teil durch die nicht für die Experimente spezifische Anpassung der Kinetiken entsteht. Trotzdem repräsentieren die ausgewählten Kinetiken den Ablauf der experimentellen Daten nahezu quantitativ. Die erwähnten Differenzen verdeutlichen jedoch, daß die spezifische Freßrate von *Tetrahymena* komplexeren Mechanismen oder Einflüssen unterliegt, als bisher untersucht wurde (s. Kap. 4.5.2). Graphisch wurde die Gesamtkinetik in Abbildung 4.18 dargestellt. Es ist erkennbar,

daß der stufige Charakter der Kinetik am deutlichsten bei hohen Ciliatendichten ausgeprägt wird und sich bei niedrigen weitgehend reduziert, d.h. meßtechnisch kaum erfaßt werden kann. Diese Beobachtung deckt sich mit den gefundenen experimentellen Ergebnissen (vgl. Abb. 4.15).

Beutedichte (Partikel/l)	Modell [u]=#/# h	Parameterwerte	RSS
0 - $5 \cdot 10^{10}$	1) $\frac{u_{max1}\, p}{L_1 + p}$	$u_{max1} = 1013 \pm 344$ #/# h $L_1 = (2.2 \pm 1.4) \cdot 10^{10}$ #/l	$1.04 \cdot 10^6$
	2) $\frac{u_{max1}\,(p-p_0)}{L_1 + (p-p_0)}$	$u_{max1} = 782 \pm 182$ #/# h $L_1 = (8.88 \pm 5.88) \cdot 10^9$ #/l $p_0 = (2.85 \pm 0.94) \cdot 10^9$ #/l	$9.36 \cdot 10^5$
	3) $\frac{u_{max1}\, p^2}{L_1^2 + p^2}$	$u_{max1} = 649 \pm 83$ #/# h $L_1 = (9.4 \pm 2.1) \cdot 10^9$ #/l	$9.09 \cdot 10^5$
	4) $\frac{u_{max1}\, p}{L_1\, c_N + p}$	$u_{max1} = 818 \pm 153$ #/# h $L_1 = 3226 \pm 1680$	$7.2 \cdot 10^5$
	5) $\frac{u_{max1}\,(p-p_0)}{L_1\, c_N + (p-p_0)}$		kein Fit für $p_{01}>0$
	6) $\frac{u_{max1}\, p^2}{L_1\, c_N + p^2}$	$u_{max1} = 782 \pm 67$ #/# h $L_1 = (3.49 \pm 1.00) \cdot 10^9$ #/l	$3.5 \cdot 10^5$
	7) $\frac{(u_{max1} - F_1\, c_N)\, p^2}{L_1^2 + p^2}$	$u_{max1} = 787 \pm 51$ #/# h $L_1 = (7.7 \pm 1.0) \cdot 10^9$ #/l $F_1 = (1.2 \pm 0.2) \cdot 10^{-5}$ l/# h	$2.7 \cdot 10^5$
	8) $\frac{u_{max1}\, p}{L_1 + F_1\, c_N + p}$	$u_{max1} = 1177 \pm 237$ #/# h $L_1 = (1.3 \pm 0.6) \cdot 10^{10}$ #/l $F_1 = 1894 \pm 822$	$3.7 \cdot 10^5$
	9) $\frac{u_{max1}\, p\, (p + F_1\, c_N)}{L_1^2 + (F_1\, c_N + p)^2}$	$u_{max1} = 858 \pm 89$ #/# h $L_1 = (8.8 \pm 1.6) \cdot 10^9$ #/l $F_1 = 1290 \pm 487$ #/#	$3.2 \cdot 10^5$
	10) $\frac{u_{max1}\, p^2}{L_1^2 + (F_1\, c_N)^2 + p^2}$	$u_{max1} = 753 \pm 53$ #/# h $L_1 = (7.2 \pm 1.1) \cdot 10^9$ #/l $F_1 = 1022 \pm 203$	$2.9 \cdot 10^5$
	11) $\frac{u_{max1}\,(p-p_0)^2}{L_1^2 + (F_1\, c_N)^2 + (p-p_0)^2}$	$u_{max1} = 694 \pm 41$ #/# h $L_1 = (2.9 \pm 1.1) \cdot 10^9$ #/l $F_1 = 807 \pm 164$ $p_0 = (3.4 \pm 0.7) \cdot 10^9$ #/l	$2.6 \cdot 10^5$

Tab. 4.3: Vergleich von Kinetiken zur Beschreibung der spezifische Freßrate von *Tetrahymena thermophila* bei niedrigen Beutedichten (*E.coli*; elektronische Zählung).

Beutedichte (Partikel/l)	Modell [u]=#/# h	Parameterwerte	RSS
$0.2 - 6 \cdot 10^{11}$	1) $\frac{u_{max2}\, p}{L_2 + p}$	u_{max2}=19412±25264 #/# h $L_2 = (0.4 \pm 1.1) \cdot 10^{12}$ #/l	$7.0 \cdot 10^7$
	2) $\frac{u_{max2}\, (p-p_{02})}{L_2 + (p-p_{02})}$	u_{max2}=19793±25703 #/# h $L_2 = (4.5 \pm 8.8) \cdot 10^{11}$ #/l $p_{02} = 1.1 \cdot 10^{-18} \pm 161$ #/l	$7.0 \cdot 10^7$
	3) $\frac{u_{max2}\, p^2}{L_2^2 + p^2}$	$u_{max2} = 10227 \pm 756$ #/# h $L_2 = (1.3 \pm 0.2) \cdot 10^{11}$ #/l	$7.9 \cdot 10^8$
	4) $\frac{u_{max2}\, p}{L_2\, c_N + p}$	u_{max2}=29267±23015 #/# h $L_2 = (1.5 \pm 1.6) \cdot 10^5$	$2.4 \cdot 10^8$
	5) $\frac{u_{max2}\, (p-p_{02})}{L_2\, c_N + (p-p_{02})}$	u_{max2}=14012±2692 #/# h $L_2 = (2.5 \pm 1.1) \cdot 10^4$ #/l $p_{02} = (2.7 \pm 0.2) \cdot 10^9$ #/l	$1.2 \cdot 10^8$
	6) $\frac{u_{max2}\, p^2}{L_2\, c_N + p^2}$	$u_{max2} = 11134 \pm 911$ #/# h $L_2 = (3.1 \pm 0.8) \cdot 10^{15}$ #/l	$7.8 \cdot 10^7$
	7) $\frac{(u_{max2} - F_2\, c_N)\, p^2}{L_2^2 + p^2}$	$u_{max2} = 12270 \pm 1086$ #/# h $L_2 = (1.0 \pm 0.1) \cdot 10^{11}$ #/l $F_2 = (2.4 \pm 0.8) \cdot 10^{-4}$ l/# h	$6.5 \cdot 10^7$
	8) $\frac{u_{max2}\, p}{L_2 + F_2\, c_N + p}$	$u_{max2} = 17714 \pm 3345$ #/# h $L_2 = (2.9 \pm 1.2) \cdot 10^{11}$ #/l $F_2 = 7421 \pm 5895$	$6.5 \cdot 10^7$
	9) $\frac{u_{max2}\, p\, (p + F_2\, c_N)}{L_2^2 + (F_2\, c_N + p)^2}$	$u_{max2} = 10225 \pm 1257$ #/# h $L_2 = (1.3 \pm 0.4) \cdot 10^{11}$ #/l $F_2 = 0.0 \pm 0.0$ #/#	$7.9 \cdot 10^7$
	10) $\frac{u_{max2}\, p^2}{L_2^2 + (F_2\, c_N)^2 + p^2}$	$u_{max2} = 10153 \pm 633$ #/# h $L_2 = (8.5 \pm 1.2) \cdot 10^{10}$ #/l $F_2 = 6711 \pm 1857$	$6.2 \cdot 10^7$
	11) $\frac{u_{max2}\, (p-p_{02})^2}{L_2^2 + (F_2\, c_N)^2 + (p-p_{02})^2}$		kein Fit für $p_{02}>0$

Tab. 4.4: Vergleich von Kinetiken zur Beschreibung der spezifischen Freßrate von *Tetrahymena thermophila* bei hohen Beutedichten (*E.coli*; elektronische Zählung).

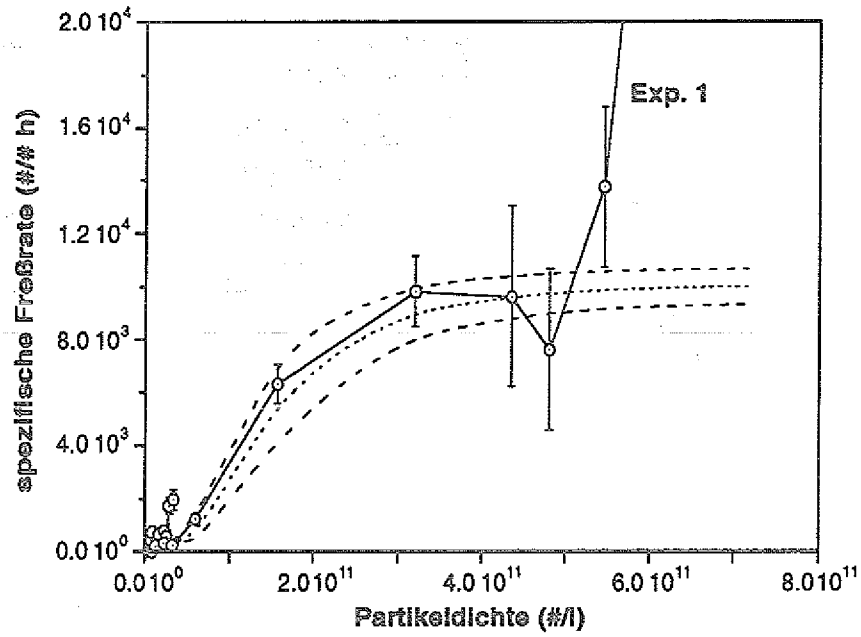


Abb. 4.16: Spezifische Freßrate von *Tetrahymena thermophila* im Bereich hoher Beutedichte: Vergleich von experimentellen Daten mit den Vorhersagen des ausgewählten kinetischen Modells (s. Tab. 4.3 & 4.4). Die Modellvorhersagen wurden als Mittelwert und Standardfehler eingezeichnet. Sonstige Kennzeichnung analog Abb. 4.14.

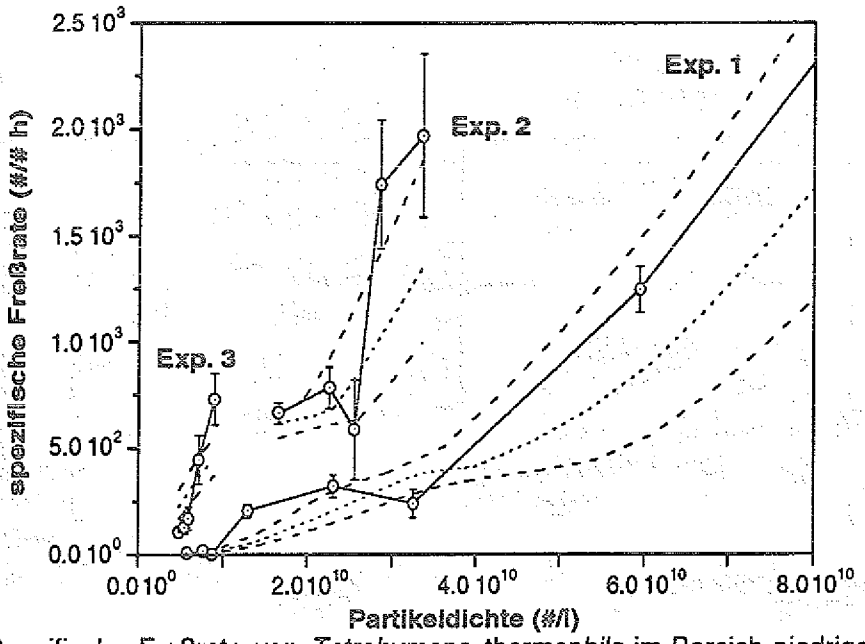


Abb. 4.17: Spezifische Freßrate von *Tetrahymena thermophila* im Bereich niedriger Beutedichte: Vergleich von experimentellen Daten mit den Vorhersagen der ausgewählten kinetischen Modelle (s. Tab. 4.3 & 4.4). Sonstige Kennzeichnung analog Abb. 4.15 bzw. 4.16.

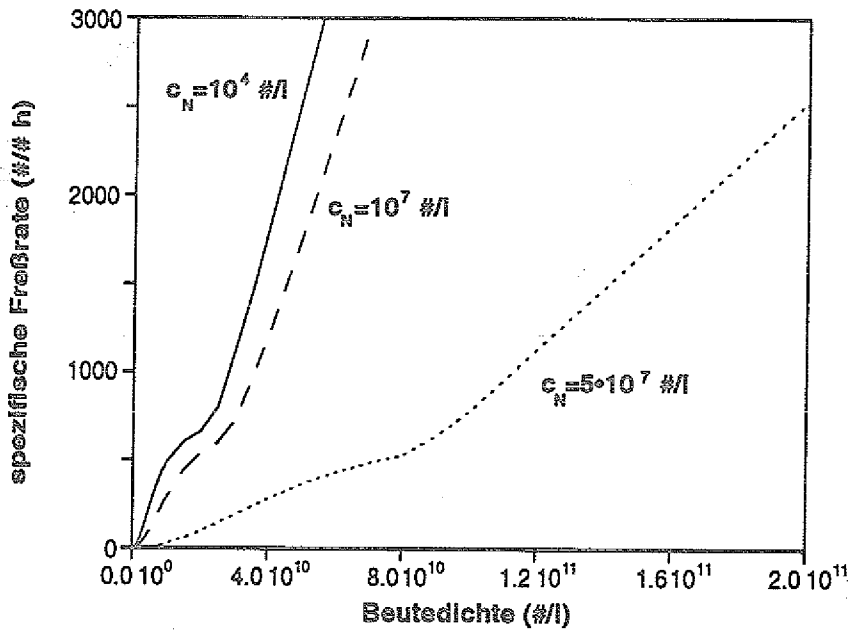


Abb. 4.18: Spezifische Freßrate von *Tetrahymena thermophila*: Darstellung der ausgewählten Funktionen aus Tabelle 4.3 und 4.4 bei verschiedenen Räuber- (c_N) und Beutedichten.

4.5 Diskussion zum Kapitel 4

Zum Überblick über die bisher erzielten Ergebnisse, die die Wechselwirkungen zwischen den Organismen *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* in stationären Laborkulturen darstellen (s. Abb. 4.19), seien sie an dieser Stelle noch einmal stichwortartig angeführt.

- Räuber und Beute koexistierten über mehrere Wochen (s. 4.1)
- Inhibition der Organismen konnte nicht nachgewiesen werden (s. 3.3 & 4.2).
- Die Beutebakterien verwerteten Ausscheidungsprodukte der Organismen (s. 3.4-5)
- Die Räuber zeigten eine mehrstufige Freßkinetik (s. 4.4).

Folgende Wechselbeziehungen wurden in den bisherigen Untersuchungen indirekt dargestellt und sollen in diesem Abschnitt bzw. in Kapitel 5 erörtert werden.

- Verhaltensänderungen der Ciliaten (s. 4.1 –> 4.5.2)
- Auftreten und Rolle unbelebter Partikel (s. 4.1 –> 4.5.3)
- Verwertung von gelösten Substraten durch die Ciliaten (–> s. 4.5.4)
- Herkunft gelöster organischer Substrate in Mischkulturen (–> s. 5.3.2)

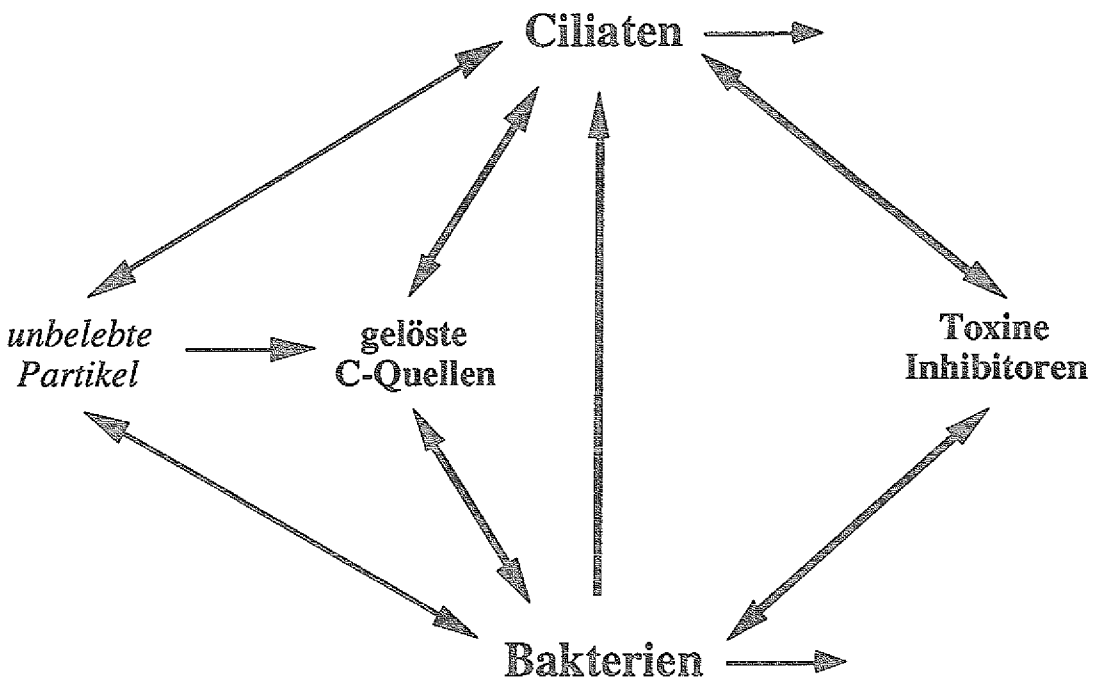


Abb. 4.19: Bisher untersuchte Wechselwirkungen zwischen *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* in stationären Laborkulturen. Die schwach gedruckten Teile beziehen sich auf Wechselwirkungen, die nur implizit betrachtet wurden.

Darüber hinaus wurde ein mathematischer Zusammenhang zwischen Zellgröße der Ciliaten und ihrer spezifischen Teilungsrate dargestellt, der für die Modellierung notwendig sein wird. Zunächst werden jedoch die mit stationären Laborkulturen erzielten Ergebnisse mit Literaturangaben verglichen und vervollständigt.

4.5.1 Dokumentierte Experimente mit *Tetrahymena* und *E.coli* (Protozoen und Bakterien) in stationären Laborkulturen

Seit mehr als 20 Jahren sind Laborkulturen des Räuber-Beute-Systems *Tetrahymena*-Bakterien Gegenstand populationsdynamischer Untersuchungen an kontinuierlichen und stationären Kulturen. Alle Untersuchungen sind miteinander vergleichbar, obwohl in den verschiedenen Arbeitsgruppen unterschiedliche Stämme oder sogar verschiedene Arten bearbeitet und teilweise andere Parameter gemessen wurden. So stehen die in Kapitel 4.1 dargestellten Ergebnisse durchaus exemplarisch für ähnliche Untersuchungen (SAMBANIS & FREDRICKSON, 1988; SAMBANIS *et al.*, 1987; SAMBANIS, 1985; SWIFT *et al.*, 1982; WATSON *et al.*, 1981; HABTE & ALEXANDER, 1978 a/b; CANALE *et al.*, 1973).

Das generelle Merkmal dieser stationären (aber auch der kontinuierlichen) Mischkulturen von *Tetrahymena* und Beutebakterien ist, daß die Beutepopulation auf einem relativ hohem Niveau mit den aktiven Räubern persistiert (s. 4.1). Ansätze, dies durch größenselektiven

Nahrungserwerb im relevanten Größenbereich der Beute zu erklären (PAVLOU & FREDRICKSON, 1983), erwiesen sich als unzutreffend (vgl. jeweils mit HABTE & ALEXANDER, 1978 a/b; GURIJALA & ALEXANDER, 1990), ebenso wie Annahmen, daß bakterielles Wandwachstum (BONOMI & FREDRICKSON, 1976; SAMBANIS & FREDRICKSON, 1989) eine ausreichende Begründung ist. Lediglich die Arbeiten von CANALE *et al.* (1973), JOST*et al.* (1973) und SAMBANIS (1985) wiesen auf einzelne Wechselbeziehungen zwischen den Organismen hin, die sich in den hier durchgeführten Untersuchungen belegen lassen und - wie später gezeigt wird (s. 5.4) - auch in ihrer Kombination hinreichend sind, die beobachteten Phänomene konsistent zu erklären: Es ist das Wechselspiel zwischen sigmoiden (stufigen) Freßkinetiken und das Wachstum der Bakterien auf autochthonen Substraten, das das "Koexistenzniveau" der Populationen bestimmt (vgl. Arbeitshypothese, s. 1.1).

CANALE *et al.* (1973) erkannten bereits, daß in den Mischkulturen ein Recycling der C-Quellen von Bedeutung ist. Allerdings war das methodische Vorgehen von einigen Störfaktoren geprägt, die eine detaillierte Analyse verhinderten (Art der Erfassung der Kohlenhydrate, Bestimmung der O.D. nach Zentrifugation zur Abtrennung der Protozoen). So war es dieser Arbeitsgruppe nicht möglich, das charakteristisch hohe Niveau der Bakterienpopulation zu erkennen. PAVLOU (1983) und SAMBANIS (1985) stellten später für die Dynamik von Mischkulturen die Implikationen der Annahme eines Nährstoffrecyclings und ihre Diskrepanz zu den Versuchsergebnissen theoretisch dar (vgl. Anhang B; s. 4.1).

Eine andere Arbeitsgruppe (JOST *et al.*, 1973 a/b) versuchte, ihre experimentellen Ergebnisse bei der Stabilitätsanalyse kontinuierlicher Mischkulturen durch ein enzymkinetisch hergeleitetes Modell für die Wachstumskinetik der Protozoen zu erklären und konnte damit einige experimentelle Befunde, die bisher theoretisch nicht nachvollziehbar waren, qualitativ reproduzieren. Dieses sogenannte "Multiple Saturation Model" stellt eine sigmoide Wachstumskinetik dar (s. Tab. 1.4). Meßtechnisch sind die Unterschiede zwischen Wachstumskinetiken vom Monod- und Multiple-Saturation-Typ kaum aufzulösen, haben aber bedeutende Konsequenzen für das dynamische Verhalten der Kulturen. Auch nach den in Kapitel 4.1 (Abb. 4.7) dargestellten Ergebnissen läßt sich keine Unterscheidung treffen. Erst die Loslösung von der Annahme, Protozoenbiovolumen (Biomasse) und -zellzahl bzw. Nahrungsaufnahme (functional response) und Zellteilung (numerical response) seien äquivalent, führte zu Ergebnissen, die den Monod-Typ der Freßkinetik (Holling Typ II) nicht mehr nachvollziehen ließen und sigmoide Freßkinetiken (Holling Typ III) wahrscheinlicher machten (s. Kap. 4.4). Aufgrund der Bedeutung für die Dynamik von Räuber-Beute-Systemen wird die Freßstrategie von *Tetrahymena* im folgenden Kapitel 4.5.2 noch einmal gesondert diskutiert.

Wie Arbeiten von HABTE & ALEXANDER (1978 a/b) verdeutlichen, ist das Koexistenzniveau von Bakterien und Ciliaten auch von der Räuberdichte in der Kultur abhängig (je mehr

Räuber desto mehr Bakterien). Neben nicht auszuschließenden Inhomogenitäten (s. 3.2; Anhang C) legen die Arbeiten von CURDS & COCKBURN (1968), SAITOH & ASAI (1982), aber auch Abbildung 4.15, die Vermutung nahe, daß die Ciliaten bei hoher Räuberdichte einander im Nahrungserwerb behindern. Wie dies in die Modellierung einzubeziehen ist, wird in Kapitel 4.5.2 und Anhang E diskutiert.

Einige Parameter, die mehr oder minder bedeutend für die Dynamik von Laborkulturen sind, wurden bisher nur selten erfaßt oder entziehen sich einer Serienmessung mit kurzen Meßintervallen.

So wurde hier in Verbesserung der Ansätze von CANALE *et al.* (1973) versucht, die Freisetzung autochthoner Substrate durch Erfassen des DOC der Kulturen zu analysieren. Dies ist jedoch nur bedingt gelungen. Zwar lassen die gemessenen DOC-Werte (s. Kap. 4.1) Grenzen des Konzentrationsbereichs erkennen, über die tatsächliche Verfügbarkeit des DOC können aber nur indirekt Schlüsse gezogen werden (s. 3.5, 3.6, 4.4). SAMBANIS (1985) dokumentierte ca. 30% höhere Bakterienerträge beim Wachstum auf autochthonen Substraten einer Mischkultur, was aber auch in den unterschiedlichen Arten bzw. Stämmen (*Tetrahymena elliotii* - *T. thermophila*, *E.coli*-Stämme) begründet liegen kann.

Toxine, die von *E.coli* ins Medium ausgeschiedenen wurden, scheinen die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche nicht wesentlich beeinflußt zu haben (s. Kap. 4.2). Untersuchungen von WATSON *et al.* (1981) deuten ebenfalls darauf hin, daß nur bei höheren als den hier verwendeten Bakterienzelldichten solche Effekte zu erwarten wären. Die Zeitspanne, bis zu der lebende Protozoen in den Kulturen beobachtet werden konnten, ist der von SAMBANIS (1985) dokumentierten annähernd gleich (>200 h).

Das Schwimmverhalten der Ciliaten, soweit es hier erfaßt werden konnte, entsprach weitgehend den Angaben von WATSON *et al.* (1981) und SWIFT *et al.* (1982). Allerdings ließen meine Beobachtungen kein so einheitliches Verhalten erkennen, wie es in den genannten Quellen dargestellt wurde. Generell scheint jedoch die Aussage gültig zu sein, daß die effektive Strecke, die ein Individuum pro Zeiteinheit zurücklegt, sich vergrößert, wenn das Nahrungsangebot knapper wird. Die Korrelation von Schwimmverhalten und Freßaktivität, wie sie von den beiden Autorengruppen vertreten wird (mit einem fressenden und einem nichtfressenden Zustand der Zelle), ließ sich nicht nachvollziehen. Leider fehlen auch in anderen Arbeiten Dunkelfeldaufnahmen, die das Schwimmverhalten deutlicher darstellen und systematisierbar machen könnten (s.a. 4.5.2).

SWIFT (1981) weist darauf hin, daß die Bedingungen bei der Vorkultivierung der Ciliaten Auswirkungen auf die Freßrate in den Versuchskulturen hatten. So spielt für die Dynamik des Räuber-Beute-Systems auch die Vorgeschichte der Organismen eine womöglich nicht unbedeutende Rolle. Da jedoch die Bedingungen der Vorkultivierung bei den von mir

durchgeführten Versuchen gleich waren, ist davon auszugehen, daß keine Kulturen mit grundsätzlich unterschiedlichem Verhalten der Organismen untersucht wurden. "Geschichtliche Phänomene" sind lediglich in die quantitative Schwankungsbreite der Ergebnisse eingegangen.

Vergleicht man abschließend die charakteristischen Werte für das Wachstum von *Tetrahymena spec.* auf *E.coli* (Tab. 4.4), so läßt sich auch hier feststellen, daß die ermittelten Werte typisch und die Ergebnisse unterschiedlicher Arbeitsgruppen weitgehend konsistent sind. Dies gestattet eine zusammenfassende Auswertung und Interpretation meiner und fremder Versuchsergebnisse.

Parameter	ermittelte Werte	Literaturangaben
maximales/minimales mittleres Zellvolumen	25000 μm^3 / 780 μm^3	50000 μm^3 / 2000 μm^3
maximales/minimales Zellvolumen	69000 μm^3 / 400 μm^3	10^5 μm^3 / 700 μm^3
max. spezifische Biovolumenwachstumsrate Halbsättigungskonstante (L-Wert)	0.248 /h $8.7 \cdot 10^{10}$ Bakt./l	0.31 /h $7.0 \cdot 10^{10}$ Bakt/l
max. spezifische Teilungsrate L-Wert	0.218 /h $9.6 \cdot 10^{10}$ Bakt./l	0.13 - 0.31 /h $2.9 \cdot 10^{10}$ Bakt./l
Zellzahlertragskoeffizient	0.89 - $1.7 \cdot 10^{-4}$ Zellen/Bakt	0.3 - $1.5 \cdot 10^{-4}$ Zellen/Bakt
Biovolumenertragskoeffizient	0.16 - 0.31 μm^3/Bakt.	0.15 - 0.3 μm^3/Bakt.
spezifische Zellvolumen-Verlustrate	0.0065 /h	0.005 - 0.022 /h
spezifische Lysisrate	0.0023 - 0.009 /h	
Freßkinetik max. spezifische Freßrate (niedrigster) L-Wert	gestufter Holling Typ III 10153 Bakt./Cil. h $7.2 \cdot 10^9$ Bakt./l	Holling Typ II oder III ca. 11000 Bakt./Cil. h $0.2 - 7 \cdot 10^{10}$ Bakt./l
min. *E.coli* -Dichte	$0.13 - 3 \cdot 10^9$ CFU/l	10^7 - 10^{10} CFU/l

Tab. 4.5: Vergleich von Wachstumsparametern von *Tetrahymena thermophila* auf *E.coli* mit Literaturangaben zum Wachstum von *Tetrahymena* spec. auf Bakterien. Die Angaben entstammen der im Text von Kap. 4.5 zitierten Literatur und VILLARREAL *et al.* (1975), Umrechnungen nach HELLUNG-LARSEN & ANDERSEN (1989), BRATBAK & DUNDAS (1984),.

4.5.2 Freßkinetik von *Tetrahymena thermophila*

Die Freßkinetik vieler räuberischer Organismen wird mathematisch oft mit einer hyperbolischen Funktion (Holling Typ II, $u = \frac{u_{max}\, b}{L + b}$) beschrieben. Sie leitet sich aus einer mechanistischen Vorstellung des Beutefangens her (vgl. WISSEL, 1989). Diese Funktion wird als so grundlegend angesehen, daß viele Daten mit Blick auf dieses Modell interpretiert wurden. Gerade bei der Betrachtung mikrobieller Systeme erscheint sie oft zu einfach, bzw. sie beschreibt nur Systemzustände ausreichender Nahrungsversorgung hinreichend genau. Für die Substrataufnahmerate von *E.coli* wurde bereits im Kapitel 3.1 auf zwei unterschiedlich affine Substrataufnahmesysteme hingewiesen, für enzystierende Protozoen ist es unmittelbar einleuchtend, daß Schwellenwerte der Nahrungsdichte für das Einsetzen und Einstellen der Nahrungsaufnahme existieren (BRADBURY, 1989).

In den Veröffentlichungen von FENCHEL (1986, 1980) wird generell der Holling Typ II als charakteristisch für das Freßverhalten von Filtrierern postuliert. Und auch in vielen theoretischen Arbeiten (s. 1.3 & 4.5.1) wird dieser Typ bevorzugt betrachtet. Gründe dafür mögen die relativ einfachen mathematischen Eigenschaften der Funktion, aber auch methodischen Grenzen der Analyse des Freßverhaltens bei niedrigen Beutedichten sein (vgl. SAMBANIS, 1985; JOST *et al.*, 1973 a/b). Zweifel an der Bedeutung der von FENCHEL veröffentlichten Absolutwerte für filtrierende Ciliaten (er ermittelte sie durch Verfütterung von künstlichen, sphärischen Mikropartikeln) erhoben SHERR *et al.* (1987), die statt künstlicher Partikel fluoreszenzmarkierte Bakterien (FLB) verfütterten und vielfach höhere Aufnahmeraten ermitteln konnten. Dieser Effekt leitet sich möglicherweise aus den unterschiedlichen physikochemischen Eigenschaften der Partikel- bzw. Bakterienoberfläche her (vgl. GURIJALA & ALEXANDER, 1990 a)

JOST *et al.* (1973 a/b) beschrieben die spezifische Freßrate von *Tetrahymena* mit einer sigmoiden Funktion (Holling Typ III). Ihre Herleitung geht auf eine "enzymkinetische" Sichtweise zurück, jedoch können auch mechanistische Gesichtspunkte des Beutefangs, wie die Steigerung der "Jagdaktivität", zu sigmoiden Kinetiken führen (WISSEL, 1989; Anhang E).

Die Daten der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche lassen eine einfache Interpretation nicht zu. Offenbar ist die Freßkinetik von *Tetrahymena* komplexer beeinflußt, als bisher angenommen (Kap. 4.4). Einige Aspekte, die auch von allgemeiner Bedeutung sind, werden im folgenden erörtert: Beuteselektion, Einfluß der Räuberdichte auf die spezifische Freßrate, Auswirkungen der Variabilität der Organismen, Verhaltensänderungen und Adaptation.

4.5.2.1 Spezifische Freßrate und Beuteselektion

Die spezifische Freßrate eines Räubers ist nicht nur von der Beutedichte, sondern auch von den Eigenschaften der Beute abhängig. Ein grundlegendes Kriterium dafür, was für einen Räuber als Beute zu betrachten ist, ist die Beutegröße. Dies gilt nicht nur für höhere Organismen, sondern insbesondere auch für filtrierende Ciliaten. Bau (Ciliatur, Größe) der Oralregion und Strömungseigenschaften des Filtrationsapparates selektieren Beutegrößen (FENCHEL, 1986; NISBET, 1986). Die Präferenz der Beutegrößen für einige Ciliaten wurde meist mit künstlichen Beutepartikeln ermittelt - eine Methodik, die nicht unkritisch zu betrachten ist (LAVIN, HATZIS *et al.*, 1990; LAVIN *et al.*, 1990; FENCHEL 1986, 1980 a/b). Doch zeigt sich, daß bestimmte Ciliaten bestimmte Partikelgrößen bevorzugt aufnehmen und in natürlichen Ökosystemen eine bestimmte "Nische im Beutegrößenbereich" ausbeuten können.

Die Variation der mittleren Zellgröße von *E.coli* in den hier beschriebenen Versuchen war jedoch gering (0.368 ± 0.030 μm^3 über alle Versuche, innerhalb eines Versuches von 24 h um 4-6% abnehmend, jeweils bezogen auf eine Messung mit 24 µm Orifice und 1% NaCl-Lösung). Da *E.coli*-Zellen eine zylindrische Form besitzen, kann angenommen werden, daß sich mit einer kleinen Volumenänderung Zellänge und Durchmesser nur unwesentlich veränderten.

Für Mischpopulationen von Protozoen kann aber nicht generell ausgeschlossen werden, daß sie in Teilung befindliche Bakterien (Doppelzellen) bevorzugt eliminieren (SHERR *et al.*, 1992). SHERR *et al.* schlüsselten ihre Ergebnisse nicht nach Bakterienarten auf und bezogen sich weitgehend auf heterotrophe Flagellaten. Diesen ähnliche Versuchsergebnisse wurden im Rahmen dieser Arbeit für das Wachstum von *E.coli* nach Entfernen von *Tetrahymena* ermittelt. Fraglich bleibt, ob die beobachteten Unterschiede der mittleren Bakterienzellgröße zwischen Kulturen mit und ohne Protozoen auf Fraßpräferenzen beruhten (s. 3.5).

Eine weitere möglicherweise fraßselektiv wirkende Eigenschaft der Beutebakterien ist die äußere Struktur ihrer Zellen. So stellen GURIJALA & ALEXANDER (1990 a) das Ausmaß der Reduktion einer Bakterienpopulation durch Fraß in Zusammenhang mit der Hydrophobizität der Zellen. CURDS & VANDYKE (1966) beschrieben eine Umkehr des Cilienschlages bei der Ingestition "ungeeigneter" Beutebakterien durch *Paramecium*. Unklar ist die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf die Versuche meiner Arbeit, da keine Daten zur Beschaffenheit der *E.coli*-Zellen erhoben wurden. Es erscheint aber aufgrund der Literaturdaten unwahrscheinlich, daß die Versuchsergebnisse in bezug auf die spezifische Freßrate durch Änderungen der Zellstruktur von *E.coli* bedeutend beeinflußt wurden.

Beutegröße und Zellstruktur der Beute müssen jedoch für unterschiedliche Wuchsformen einer Beuteart und zwischen unterschiedlichen Beutearten als wichtiger Faktor für die Futterselektion durch filtrierende Ciliaten (Protozoen) angesehen werden.

4.5.2.2 Spezifische Freßrate und Zelldichte der Räuber, Homogenität der Kulturen

Im Kapitel 4.4 wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Räuberdichte die spezifische Freßrate beeinflussen könnte. SAITOH & ASAI (1982) untersuchten die Abhängigkeit der *Tetrahymena*-Zelldichte in der stationären Phase einer batch-Kultur von unterschiedlichen Konzentrationen an ciliatenzellgroßen Glaspartikeln. Sie stellten fest, daß eine Verlängerung der lag-Phase und eine niedrigere Zelldichte erreicht wurde, je mehr künstliche Partikel im Medium enthalten waren. Die spezifische Teilungsrate blieb dagegen unbeeinflußt.

CURDS & COCKBURN (1968) zeigten ebenfalls an batch-Kulturen, daß mit zunehmender Zelldichte von *Tetrahymena* die spezifische Freßrate sank (*Klebsiella aerogenes* als Beute). Gleiches zeigen die Daten von HABTE & ALEXANDER (1978 a/b) (mit *Tetrahymena* und diversen Beutebakterien). Allerdings wird nichts über den Grad der Durchmischung dieser Kulturen mitgeteilt, der ja einen erheblichen Einfluß haben kann (s. Anhang C.1). CURDS & COCKBURN formulieren die Freßkinetik in folgender Weise:

$$u = \frac{u_{max}\, b}{L\, c_N + b} \qquad (4.3)$$

mit b=bakterielle Biomassekonzentration, c_N = Dichte der Räuberzellen,

und erreichten damit eine visuell gute Übereinstimmung mit transformierten Versuchsdaten bei hohen Beutedichten. Ihre ursprünglichen Versuchsdaten (für ca. 0.001-0.2 g Bakterien/l bzw. etwa $2 \cdot 10^9$-$5 \cdot 10^{11}$ Bakterien/l, umgerechnet nach BRATBAK & DUNDAS (1984)) weisen jedoch ebenfalls auf eine stufige Funktion hin. Eine Anpassung der in der vorliegenden Arbeit ermittelten Daten an die vorgeschlagene Funktion ließ jedoch keine Verbesserungen in der Interpretierbarkeit zu. Vergleicht man Formel 4.3 mit der üblichen Darstellung einer functional response Typ II, wird deutlich, welche biologische Implikation die Autoren in ihre Formel eingebracht haben (vgl. WISSEL, 1989):

Ein filtrierender Räuber, der pro Zeiteinheit den Bruchteil α seines Habitats nach Beute (b) absucht oder filtriert, trifft auf αb Beuteindividuen. Gelingt es ihm, den Anteil β der Beutetreffer zu ingestieren, so hat er in einem Zeitraum (T) $U_{(b)}=T\alpha\beta b$ Beuteindividuen ausfiltriert (Typ I). Benötigt er jedoch einen gewissen Zeitraum (*handling time*, T_h), die Beute aus dem Filtrationsapparat heraus zu ingestieren, und steht ihm dieser Filtrationsapparat erst dann wieder voll funktionsfähig zur Verfügung, wenn er (teilweise) von Beutepartikeln befreit ist, so bleibt ihm von dem Zeitraum T nur die Zeit T_s, um effektiv zu filtrieren ($T_s = T - T_h U_{(b)}$). Es ist dann:

$$U_{(b)} = T_s\, \alpha\beta b = (T - T_h\, U_{(b)})\, \alpha\beta b \qquad (4.4)$$

und nach Umstellung ergibt sich: $$U_{(b)} = \frac{\frac{T}{T_h}\, b}{\frac{1}{T_h\, \alpha\beta} + b} \qquad (4.5.1)$$

bzw. nach Division durch T und Substitution $u(b) = \frac{umax\ b}{L + b}$ (4.5.2)

Setzt man α oder β in einfache reziproke Abhängigkeit von der Räuberdichte (c_N), weil sich das Filtrationsvolumen verkleinert, je mehr Räuber sich behindern oder die Ingestition der Beute stören, so ändert sich Formel 4.4 in

$$U(b) = T_s\, \alpha\beta \frac{b}{c_N} = (T - T_h\, U(b))\, \alpha\beta \frac{b}{c_N} \qquad (4.6)$$

Durch Umformung und Substitution ergibt sich schließlich Formel (4.3).

Analog der vorangegangenen Herleitung läßt sich eine von Räuber und Beute abhängige functional response Typ III finden (s. Anhang E). Sie impliziert, daß die Räuber sich einerseits gegenseitig behindern, andererseits auch ihre Effektivität linear mit der Beutedichte steigern. Damit ergibt sich (s. Anhang E)

$$u(b) = \frac{umax\ b^2}{L\, c_N + b^2} \qquad (4.7)$$

oder

$$u(b) = \frac{(umax - F\ c_N) b^2}{L^2 + b^2} \geq 0 \qquad (4.8)$$

Die Ergebnisse der Kurvenanpassungen in Kapitel 4.4 und die letztlich zur weiteren Modellierung ausgewählten Kinetiken legen eine andere Betrachtungsweise nahe.

So impliziert die mathematische Formulierung $u(b) = \frac{umax\ b^2}{L^2 + (F\, c_N)^2 + b^2}$ (4.9)

für niedrige Räuberdichten einen unbedeutenden Einfluß der Räuber auf die spezifische Freßrate und verwirft die zuvor gemachten einfachen Ansätze. Die mathematische Formulierung leitet sich nicht aus der Verhaltensphysiologie der Räuber her, sondern aus der Annahme der mangelnden Durchmischung der Kulturen (s. Anhang C und E). Die relativ guten Ergebnisse der Kurvenanpassungen für Kinetiken, die die Räuberabhängigkeit durch Heterogenität der Laborkulturen begründen (s. Tab. 4.3 & 4.4; Modell 10), deuten auf nicht zu vernachlässigende Einflüsse inhomogener Durchmischung hin. Letztlich kann derzeit nicht entschieden werden, welcher Ansatz realistischer ist. U.U. treten Mischtypen auf.

4.5.2.3 Spezifische Freßrate, Verhalten, Variabilität und Adaptation

Einige Autoren geben für Protozoen Freßkinetiken des Typs $u(b) = \frac{umax\ (b-b_0)}{L + (b-b_0)}$ mit $u(b)=0$, wenn $b<b_0$, an (CUNNINGHAM & NISBET, 1983). Unmittelbar einsichtig sind solche Kinetiken für enzystierende Protozoen (z.B. *Colpoda*; BRADBURY, 1987), die unterhalb einer bestimmten Beutedichte (b_0) jegliche Freßaktivität einstellen. Ökologisch sinnvoller erscheint jedoch auch hier ein Ansatz, der eine sigmoide Kinetik annimmt, da kaum zu erwarten ist,

daß alle Individuen gleichzeitig en- oder ezystieren, sondern sich eine Streuung der individuellen Schwellenwerte über die Population ergibt: also z.B. $u_{(b)}=\frac{u_{max}\,(b-b_0)^2}{L^2+(b-b_0)^2}$. Zwar geht in diese (einfache) Funktion die Verteilung der individuellen Eigenschaften nicht direkt ein, der sigmoide Charakter dieser Kinetik entspricht jedoch dem infolge von Variabilität zu erwartenden. Wie die Ergebnisse der Kurvenanpassungen in Kapitel 4.4 zeigen, bietet auch diese Funktion eine relativ gute Beschreibung der spezifischen Freßrate von *Tetrahymena.*

Jüngere Arbeiten von LAVIN *et al.* (1990) belegen, daß in *Tetrahymena*-Populationen nichtfressende Zellen auftreten, ohne daß diese Zellen encystiert sind. Bereits die Untersuchungen von CORLISS (1953) weisen auf fressende und nichtfressende Zellzustände hin. WATSON *et al.* (1981) fanden analog dazu eine Änderung des Schwimmverhaltens. Zumindest die Arbeitsgruppe um LAVIN konnte zeigen, daß fressaktive und nichtfressende (10% der Ciliaten) Zellen in einer Population (Laborkultur) gleichzeitig auftreten. ZALKINDER (1979 a/b) veröffentlichte zuvor, daß die Freßaktivität einer *Tetrahymena*-Zelle mit der Zellzyklusphase wechselt. Es kann also davon ausgegangen werden, daß die hier durchgeführte Berechnung der spezifischen Freßrate sich nicht auf einen Zellzustand bezieht. Vielmehr scheinen mehrere Zustände der Freßaktivität gleichzeitig vorzuliegen. Dies deuten auch die verschiedenen Verhaltensmuster des Schwimmens an, die ich mikroskopisch beobachten konnte. Die einzelne Räuberzelle kann dann durchaus zu einem Zeitpunkt mit einer funktionell anderen Kinetik fressen, als dem Mittel der Gesamtpopulation entspricht. Die Freßrate einer Einzelzelle wird also durch die Variabilität innerhalb der Population verwischt.

In den hier durchgeführten Versuchen ist die Zahl der Individuen hoch. Damit wurde eine gute Mittelung des Verhaltens der Ciliaten erzielt. Die getroffenen Aussagen über die Freßkinetik sind also mehr ein Charakteristikum für die Freßstrategie einer ganzen Population. Sie ist ein Resultat unterschiedlicher Einzelstrategien, deren Häufigkeiten sich innerhalb der Population in Abhängigkeit von den äußeren Bedingungen ändern können. Ein mögliches Resultat wären solch gestufte Freßkinetiken wie sie im Kapitel 4.4 aus den Meßwerten hergeleitet wurden, wenn sich in Abhängigkeit von der Beutedichte die Anteile der Einzelstrategien in der Population verschieben.

RICCI (1990) stellte an verschiedenen Ciliatenspecies die Breite ihrer Verhaltensmuster vom Schwimmen, Fressen bis hin zum Paarungsverhalten und die Abhängigkeit dieser Verhaltensmuster von der Umweltsituation dar. Situationsabhängige Änderungen des Verhaltens scheinen danach zumindest für Ciliaten ebenso wie für Metazoen die Regel zu sein. Sie sollten nicht nur im physiologischen Interesse betrachtet, sondern auch im Rahmen ihrer ökologischen Bedeutung - hier für die Dynamik eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems - überprüft werden.

Die Einbeziehung von Verhaltensänderungen in die Betrachtung der Dynamik mikrobieller Biozönosen bringt eine weitere Qualität in die Diskussion von Stabilität, Koexistenz und Konkurrenz der Arten: die Fähigkeit der raschen Adaptation. So ergeben sich neue, insbesondere bei variablen Umweltbedingungen relevante Selektionsmechanismen. Selbst für relativ einfache Laborkulturen können Adaptationsphänome eine Rolle spielen (SWIFT *et al.*, 1982; s. 4.3). Ähnliche Phänomene sind von Bakterienkulturen hinlänglich bekannt. Bei Untersuchungen von Populationsdynamiken werden sie jedoch häufig ausgeklammert.

4.5.2.4 Methoden zur Bestimmung der spezifische Freßrate

Die hier gewählte Methode zur Bestimmung der spezifische Freßrate (s. Kap. 4.4) von *Tetrahymena* besitzt den Nachteil der Indirektheit: Die Freßrate wurde durch die Verluste an elektronisch gezählten, bakteriengroßen Partikel bestimmt. Dies erfordert einen Rechenaufwand, bei dem die Fehler der einzelnen notwendigen Meßparameter sich in der Berechnung fortpflanzen. Der Vorteil neuerer elektronischer Zählgeräte liegt in der raschen Aufarbeitung der Probe und der hohen Genauigkeit der Messung (Fehler um ± 2% für bakteriengroße Partikel), die für das gewählte Verfahren notwendig ist. Die Bestimmung der Bakterienzellzahl über Plattenkeimzahlen (CFU) oder mit älteren elektronischen Zählgeräten kann diese Genauigkeit nur mit erhöhtem Aufwand gewährleisten, der den zeitlichen Abstand der Meßintervalle bzw. letztlich die Anzahl der möglichen Versuche in einem Zeitrahmen begrenzt. Frühere methodische Angaben zur Berechnung von Filtrationsraten bzw. der spezifischen Freßrate verschweigen oft das Problem der Fehlerfortpflanzung (SAMBANIS, 1985; COUGHLAN, 1969).

Die Notwendigkeit, direkte Methoden einzusetzen, wurde jedoch vielfach gesehen. Weit verbreitet ist mittlerweile der von SHERR *et al.* (1987) propagierte Einsatz fluoreszenzmarkierter Bakterien (FLB) und die direkte mikroskopische Auszählung in den Nahrungsvakuolen der Protozoen. Wenn nach der FLB-Zugabe die Auszählung der Vakuoleninhalte erfolgt, bevor die Bakterien mit dem Farbstoffen weitgehend verdaut sind (also etwa innerhalb 30 min bis 1h nach Zugabe) kann aus der Zahl der FLB in einer Protozoenzelle auf die spezifische Freßrate geschlossen werden. Allerdings bestehen auch hier methodische Grenzen: Die Zugabehäufigkeit von FLB zu Laborkulturen wird durch die Verwischung der einzelnen Zugaben bzw. die Auflösung der mikroskopischen Auszählung begrenzt, und bei Verfütterung von FLB an eine (ggf. aufbereitete) Probe der Laborkultur ist mit Verfälschungen durch die Manipulation der Organismen bei Probennahme und Aufarbeitung zu rechnen (s. 4.1). Eine bedeutende Verbesserung könnte der Einsatz von Flowcytometern (MELAMED *et al.*, 1990) im Zusammenhang mit FLB geben. Zur Zeit liegen jedoch nur wenige Erfahrungen mit diesen Geräten bei der Analyse von Populationsdynamiken mikrobieller Systeme vor (LAVIN *et al.*, 1990). Es zeigt sich aber, daß damit die spezifische

Freßrate einzelner Zellen geschätzt werden kann. Daneben können über andere spezifische fluoreszente Farbstoffmarkierungen und über Streulichtmessungen weitere physiologische und morphologische Parameter der Räuberzellen (Zellvolumina, Granularität, DNA, Membranen, pH u.a.) parallel erfaßt werden. Zeitlich hohe Auflösungen für die Dynamik verschiedener physiologischer Parameter der Räuberpopulation könnte der Einsatz umgerüsteter Flowcytometer für kontinuierliche Messungen (SERNETZ, MÜLLER persönliche Mitteilung, 1993) ergeben. Dies ließe sich insbesondere für Chemostatenkulturen realisieren, aber auch für relativ kurzzeitige Messungen an stationären Kulturen wäre dieses Verfahren geeignet, solange der Probenstrom das Kulturvolumen nicht deutlich erniedrigt hat.

Ferner wurden Methoden mit radioaktiv markierten Bakterien vorgeschlagen (MARVALIN & LAZAREK, 1988), die sich aber aufgrund des methodischen Gesamtaufwandes wohl nur bei filtrierenden Metazoen (*Daphnia*) einsetzen lassen.

Die Bestimmung der spezifischen Freßrate bzw. Filtrationsrate kann besonders bei den indirekten Methoden durch das Wachstum der Beute erschwert werden. Wie im Rahmen meiner Versuche festgestellt werden mußte, ist eine Abschätzung des bakteriellen Wachstums mit erheblichen Problemen verbunden (s. 3.5). Eine für Feldversuche etablierte Methode, die relativ gute Ergebnisse liefert, ist die Einbaurate radioaktiv markierten Thymidins und Leucins u.a. (s. z.B. RIEMANN & BELL, 1990; GEIDER, 1989; JONAS *et al.*, 1987). Sie müßte für den Labormaßstab entsprechend adaptiert werden.

Die Qualität der in Kapitel 4.4 gefundenen Ergebnisse ist jedoch von diesen Erörterungen unabhängig. Im Vergleich mit den hier verwendeten Methoden zur Bestimmung bakteriellen Wachstums sind keine drastischen Auswirkungen auf die qualitativen Aussagen zur spezifischen Freßrate zu erwarten. Die angesprochenen Methoden ermöglichen allerdings eine differenziertere Analyse der Mechanismen.

4.5.3 Spezifische Freßrate und unbelebte bakteriengroße Partikel

Insbesondere bei langer Kultivierungsdauer treten in den Mischkulturen von *Tetrahymena* und *E.coli* etwa bakteriengroße, nicht als CFU nachweisbare Partikel auf (s Kap. 4.1; SAMBANIS, 1985). Neben den systematischen Fehlern zwischen elektronischer Partikelzählung und CFU-Bestimmung (DRAKE & TSUCHIYA, 1973) sind diese gemessenen Partikel auf Lysis und Lysisprodukte sowie auf Exkretion der Ciliaten rückführbar (unverdaute Reste aus den Nahrungsvakuolen). Die exakte Menge dieser Partikel, die auf die Freßrate von *Tetrahymena* wirken könnte, ließ sich jedoch nicht abschätzen. Elektronische Partikelzählung bzw. CFU-Bestimmung über- bzw. unterschätzen die tatsächliche Bakteriendichte. Mit Hilfe des Kanalanalysators des Counters war der "Bakterienpeak" deutlich von anderen Hintergrundpartikeln abzugrenzen. Lediglich im Bereich niedriger Beute- und hoher Räuberdichte könnte die Freßrate unterschätzt worden sein (vgl. Abb. 4.15).

Vielfach wird davon ausgegangen, daß filtrierende Ciliaten Partikel nur nach Größe selektieren. Es ist daher anzunehmen, daß ein Input an unbelebten Partikel die Bestimmung der Freßkinetik beeinflußt. Dieser Einfluß kann dazu geführt haben, daß in den Versuchen bei hohen Räuber- und niedrigen Beutedichten die spezifische Freßrate der Ciliaten unterschätzt wurde, da die Partikelbildungsrate nicht bestimmt und eingerechnet wurde. Qualitativ sind damit jedoch keine drastischen Änderungen der in Kapitel 4.4 gefundenen Aussagen verbunden. SAMBANIS (1985) simulierte unter diesem Aspekt den Einfluß nicht belebter Partikel mit seinem Modell (s. Anhang B), konnte jedoch keine qualitativen Änderungen im Systemverhalten finden. Experimentelle Untersuchungen von MALLORY *et al.* (1983) bestätigen diesen Befund. Sie machten jedoch auch deutlich, daß mit dem Anteil bzw. Input an nicht belebten Partikeln die bakterielle Population stärker reduziert würde als ohne Partikel, da die Freßrate ansteigt.

Hingegen scheint bei hohen Konzentrationen "ungünstiger" Partikel eine Reduzierung des Freßdrucks auf die Bakterienpopulation ebenfalls möglich: CURDS & VANDYKE (1966) veröffentlichten, daß *Paramecium caudatum* den Cilienschlag im Mundfeld umkehrte, wenn "ungünstige" Nahrungsbakterien aufgenommen wurden. Ebenso weist HOLZ (1973) in einem Übersichtsartikel auf vergleichbare Phänomene der Beuteselektion durch *Tetrahymena* hin.

Unbelebte Partikel können in geringem Umfang die vorgestellten Versuchsergebnisse quantitativ beeinflußt haben. Eine qualitative Änderung der Gewichtung der Ergebnisse ist damit jedoch nicht verbunden.

4.5.4 Aufnahme löslicher Substrate durch *Tetrahymena*

Neben der Aufnahme partikulärer Stoffe (Endocytose) ist *Tetrahymena* in der Lage, gelöste organische Substrate aufzunehmen und zu verstoffwechseln. Ein Aufnahmemechanismus ist direkt an die Endocytose gekoppelt, indem lösliche Substrate mit dem Medium und Partikel in Nahrungsvakuolen eingeschlossen und der Verdauung zugeführt werden (RICKETTS, 1972; RASMUSSEN & KLUDT, 1970). Die Bildung von Nahrungsvakuolen ist jedoch nicht an die Anwesenheit filtrierbarer Partikel gebunden, sondern tritt auch, aber deutlich reduziert, in partikelfreien Nährmedien auf. Neben der Endocytose werden verschiedene weitere Aufnahmemechanismen diskutiert (s. NILSSON, 1976). Ihre quantitative Bedeutung ist ungeklärt. Bei den Kalkulationen von NILSSON über die Vakuolenbildungsrate wurde auch deutlich, daß die Aufnahme von löslichen Substraten über Nahrungsvakuolen nur dann quantitativ das Wachstum der Zellen ermöglicht, wenn eine 10- bis 20-fache Konzentrierung möglich ist. Dazu sollen mukose Ausscheidungen, die die Substrate binden und anschließend endocytiert werden, beitragen. RASMUSSEN & ORIAS (1975) isolierten eine mundfeldlose, nicht Vakuolen bildende *Tetrahymena*-Mutante, die in einem speziellen, (hoch-)konzentrierten Medium mit hohen Wachstumsraten existieren

konnte. Dies deutet darauf hin, daß neben den zuvor angesprochenen Aufnahmemechanismen andere Transportsysteme existieren (s.a. 1.2.4.2).

DUNHAM & KROPP (1973) führen diverse Hinweise auf einen Carrier-Transport von verschiedenen Aminosäuren als Aufnahmemechanismus an. Frühere Arbeiten (HOFFMANN & RASMUSSEN, 1969; STEPHENS & KERR, 1962) beschreiben aktive Aufnahmemechanismen für einige Aminosäuren, Racematselektivität und kompetitive Hemmung. Die zelluläre Lokalisation der Aufnahmesysteme blieb aber bisher offen.

GLASER (1988) untersuchte die Aufnahme von Glycin und Histidin in kontinuierlichen Mischkulturen von *Tetrahymena* und *E.coli*. Bei niedrigen Bakteriendichten (um 10^9/l) und relativ hohen Protozoendichten (um 10^7/l) wurde der Hauptanteil (ca. 90%) der pulsartig zugegebenen Aminosäure von *Tetrahymena* aufgenommen. Zwar besitzen die Bakterien eine höhere Substrataffinität als die Ciliaten, jedoch führten die extremen Verhältnisse zwischen den Populationen dazu, daß die Menge an zugegebener Aminosäure quantitativ in die Protozoenpopulation einging. GLASER wies darauf hin, daß diese Versuchsbedingungen von geringer Relevanz unter natürlichen Bedingungen sind. In einigen der hier durchgeführten Versuche (s. Abb. 4.2) treten jedoch ähnliche Populationsverhältnisse wie in GLASERs Versuchen auf. Größere Mengen des von den Organismen freigesetzten DOC könnten womöglich auch direkt in die Ciliatenpopulation geflossen sein. Entsprechend wären im wesentlichen die Verlustraten der Protozoen unterschätzt worden.

4.6 Fazit der Versuchsauswertung

Im Rahmen der Kapitel 3 und 4 konnten viele Wechselwirkungen im Räuber-Beute-System von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* beschrieben werden. Für die hier untersuchten stationären Laborkulturen sind folgende Ergebnisse bedeutend:

- *Tetrahymena* verfolgt beim Nahrungserwerb zwei Strategien, die an unterschiedliche Beutedichten angepaßt sind. Für niedrige Beutedichten gilt eine functional response Holling Typ III. Sie ist sowohl von der Beute-, als auch von der Räuberdichte abhängig (vgl. s. 4.4).
- Räuber wie Beute scheiden autochthone Substrate aus. Quantitativ bedeutend sind die Substratausscheidungen der Ciliaten. (s. 3.1 & 4.1). Ungeklärt ist, ob diese durch Lysis und/oder als "Verdauungsreste" in das Medium abgegeben werden.
- Autochthone Substrate können wahrscheinlich von beiden Populationen genutzt werden. Die Wachstumskinetik der Bakterien auf diesen autochthonen Substraten konnte nur geschätzt werden (s. 3.5), die Aufnahmekinetik der Ciliaten ist unbekannt.
- Organismenbürtige Toxine konnten nicht nachwiesen werden (s. 3.3 & 4.2).
- Es gibt Hinweise, daß die Kultivierungsmethode (Durchmischung der Kulturen) die Populationsdynamiken beeinflußt hat (s. 3.4, 3.5, 4.4, Anhang C & E).

Für kontinuierliche Kulturen mit allochthonem Substrat (z.B. Glucose) sind zudem folgende Beobachtungen relevant:

- Räuber wie Beute scheiden autochthone Substrate aus. Quantitativ bedeutend können die Substratausscheidungen beider Populationen sein (s. 3.1 & 4.1). Die autochthonen Substrate, die durch Bakterien ausgeschieden werden, sind teilweise direkt an den Umsatz des allochthonen Substrates gekoppelt (s. 3.6).
- Das allochthone Substrat (Glucose) kann womöglich von beiden Populationen genutzt werden. Die Wachstumskinetik der Bakterien auf dem allochthonen Substrat ist (nur) für relativ hohe Substratkonzentrationen bekannt (s. 3.1). Die Aufnahmekinetik der Ciliaten ist unbekannt.
- Für das bakterielle Wachstum auf Glucose und autochthonen Substraten ist das antagonistische Wachstumsmodell wahrscheinlich (Katabolit-Repression; s. 3.6).

Mit den bisher erzielten Ergebnissen kann ein mathematisches Basismodell des Räuber-Beute-Systems mit Differentialgleichungen erstellt werden. Anhand dieses Modells lassen sich offene Fragen diskutieren, und es kann als Grundlage zur Abschätzung des Systemverhaltens unter anderen Versuchsbedingungen dienen.

5 Ein Modell zur Beschreibung der Dynamik eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems in Laborkulturen

In diesem Kapitel wird ein Modell entworfen, das die Versuchsergebnisse der stationären Laborkulturen von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* (s. 3 & 4) in Zusammenhang stellt und nachvollziehen läßt. Es ist ferner Grundlage für die Vorhersage der Auswirkung von Versuchsmodifikationen. Offene Fragestellungen sollen geklärt oder eingegrenzt werden. Wesentliche Wechselwirkungen zwischen den Organismen, aber auch einige physiologische Phänomene werden modelliert. Im Rahmen der Sensitivitätsanalyse (s. 5.2) kann u.a. dargestellt werden, welche Prognosen das Modell für modifizierte Eigenschaften der Organismen trifft.

5.1 Das Modell

5.1.1 Strukturierung des Modells

Die hohe Anzahl der Organismen in den Versuchen gestattet eine indiskrete Modellierung der Populationen in einem Differentialgleichungssystem. Asynchrone Kulturen können damit gut simuliert werden. Eine Alters- oder Größenstrukturierung wurde nicht berücksichtigt. Einige physiologische Eigenschaften (s. 3.6.1-3, 4.3-4) der Organismen werden deskriptiv in das mathematische Modell eingefügt (z.T. durch Verwendung logischer Operatoren *wenn-dann*). Adaptationsphänomene, die auf komplexere Umstrukturierungen der Physiologie beruhen, werden ausgeklammert.

Die Dynamik der stationären Laborkulturen wird in dem Modell mit vier Variablen (Räuberdichte und -größe, Beutedichte, Konzentration autochthonen Substrats) beschrieben. Die Unterteilung der Räuberpopulation in die Teilpopulationen der Zellzahl und der Zellgröße erlaubt die Unterscheidung von Lysis- und Exkretionsprozessen für Biomasseverluste sowie Teilungs- und Biomassewachstumsprozesse, die bei der Wuchsstrategie von *Tetrahymena* von Bedeutung sind (s. 4.1, 4.3; 1.1.1). Die Population der Beutebakterien soll hier nur unstrukturiert als Beutezelldichte betrachtet werden, da sich in den unternommenen Versuchen keine relevanten Änderungen der Zellgröße erkennen ließen. Die "Population" des autochthonen Substrates stellt die Summe aller verfügbaren, organismenbürtigen Substrate dar. Die Zulässigkeit dieser undifferenzierenden Betrachtung der autochthonen Substrate wurde bereits im Kapitel 3.6 diskutiert. Substratausscheidung durch unvollständige Verdauung der Nahrung ("sloppy feeding") wird im Abschnitt 5.3.2 untersucht.

Die zeitliche Änderung der Räuberzelldichte (c_N) setzt sich zusammen aus einem Term, der das Teilungswachstum in Abhängigkeit vom Zellvolumen (c_v) und die Verluste der Population durch Lysis beschreibt:

$$\frac{d\,c_N}{d\,t} = \mu_N(c_v)\,c_N - \gamma_N\,c_N \tag{5.1}$$

Die zeitliche Änderung des mittleren Zellvolumens der Räuber (c_v) wird durch die Zunahme des Zellvolumens durch Fraß, den Verlust an Zellvolumen durch proportionale Abbauprozesse (endogene Veratmung) und durch die Zellteilung beschrieben:

$$\frac{d\,c_v}{d\,t} = Y_v\;u(p,c_N) - \mu_N(c_v)\;c_v - \gamma_v\,c_v \tag{5.2}$$

Die zeitliche Änderung der Beutezelldichte (p; es wurden die Partikel-bezogenen Daten verwertet) wird bestimmt durch den Zuwachs unter Umsatz autochthonen Substrates (s_1), durch Fraßverluste und Verluste aus Lysis:

$$\frac{d\,p}{d\,t} = \mu_p(s_1)\,p - u(p,c_N)\,c_N - \gamma_p\,p \tag{5.3}$$

Die zeitliche Änderung des autochthonen Substrats (s_1) ergibt sich aus dem Input durch die Verluste in Räuber- und Beutepopulation und dem Verlust durch die Aufnahme der Beutebakterien :

$$\frac{d\,s_1}{d\,t} = -\frac{1}{Y_{1p}}\mu_p(s_1)\,p + (Z_N\,\gamma_N + Z_v\,\gamma_v)\,c_N\,c_v + Z_p\,\gamma_p\,p \tag{5.4}$$

Ferner gilt für die spezifische Freßrate $u(p,c_N)$, wenn $u_1(p,c_N)>u_2(p,c_N)$ ist

$$u(p,c_N)=u_1(p,c_N)=\frac{u_{max1}\,p^2}{L_1^2 + (F_1\,c_N)^2 + p^2} \tag{5.5}$$

bzw.

$$u(p,c_N)=u_2(p,c_N)=\frac{u_{max2}\,p^2}{L_2^2 + (F_2\,c_N)^2 + p^2} \tag{5.6}$$

wenn $u_2(p,c_N)>u_1(p,c_N)$ ist.

Für die spezifische Teilungsrate $\mu_N(c_v)$ der Protozoen gilt im Falle eines "shift up" (s. 4.3):

$$\mu_{1N}(c_v) = a_{11}\,e^{(a_{12}\,c_v)} \tag{5.7}$$

bis zum Erreichen der maximalen Zellgröße $\left(\frac{d\,c_v}{d\,t} > 0\right)$, danach und im Normalfall:

$$\mu_{2N}(c_v) = \frac{a_{21}\,(c_v - c_{vo})}{a_{22} + c_v - c_{vo}} \tag{5.8}$$

Die bakterielle Wachstumskinetik ist

$$\mu_p(s_1)=\frac{\mu_{max1p}\ s_1}{1+s_1} \tag{5.9}$$

Die Simulationen wurden mit einem skalierten Modell durchgeführt. Das skalierte Differentialgleichungssystem ist im Anhang F dargestellt.

5.1.2 Basiswerte der Modellparameter

Als Basiswerte der Modellparameter dienen die in den Versuchen ermittelten Werte (s. Tab 4.5). Wo nur Angaben von Wertebereichen möglich waren, wird primär ein Wert dieses Bereichs willkürlich ausgewählt. Für Modellparameter, die kein paralleles, vergleichbares Versuchsergebnis besitzen, kann im Zusammenhang mit Literaturdaten eine Wertabschätzung vorgenommen werden.

Dies gilt für die Ausbeute an autochthonem Substrat aus den Verlusten der Räuber- und der Beutepopulationen. Der theoretische Maximalwert (100%) für die Ausbeute autochthonen Substrats aus den Verlusten der Organismen läßt sich aus den Ausbeutekoeffizienten abschätzen, die im Rahmen dieser Arbeit für das Wachstum der Organismen ermittelt wurden (s. Kap. 3.1 & 4.1): Wenn also $Y_{pglc}=Y_{1p}=\frac{2.5\cdot10^{12}\ E.coli}{1g\ \text{Glucose}}$,
so wäre in erster Näherung $Z_{pmax}=\frac{1g\ \text{Glucose-Äquivalent}}{2.5\cdot10^{12}\ E.coli}=4\cdot10^{-13}$ g/# die Ausbeute glucose-äquivalenter autochthoner Substrate.

Für Biovolumenverluste der Ciliaten läßt sich eine analoge Abschätzung vornehmen: Das Ciliatenbiovolumen entspricht gemäß dem Ausbeutekoeffizienten einer bestimmten Menge Bakterien (Y_v=0.24 μm^3/#), die wiederum einer bestimmten Menge Glucose bzw. glucoseäquivalentem autochthonen Substrat entspricht (s.o.). Es wäre dann

$$Z_{vmax}=Z_{Nmax}=\frac{1}{Y_{1p}\ Y_v}=1.7\cdot10^{-12}\ g/\mu m^3.$$

Da allein aus thermodynamischen Gründen 100% Effektivität nicht zu erwarten sind und die Versuche zum Wachstum von *E.coli* auf autochthonen Substraten (Kap. 3.4 & 3.5) zeigen, daß gar nicht alle autochthonen C-Quellen der Verstoffwechselung zur Verfügung stehen, so müssen die tatsächlichen Werte für Z_p, Z_v und Z_N unter den zuvor geschätzten Werten liegen. SAMBANIS (1985) schlägt nach ähnlichen Betrachtungen einen Korrekturfaktor von 0.3 vor, der zunächst als Simulationsgrundlage übernommen werden soll. Es gelten also die Basiswerte: $Z_p = 1.2\cdot10^{-13}$ g/#, $Z_v = Z_N = 5\cdot10^{-13}$ g/μm^3.

Alle Basiswerte sind in Tabelle 5.1 aufgeführt.

Parameter	Wert	Bezeichnung
		Startbedingungen
c_N	$1 \cdot 10^6$ #/l	Räuberzelldichte
c_v	5000 µm³	Räuberzellvolumen
p	$1 \cdot 10^8$ #/l	Beutezelldichte
s_1	0.0 g/l	Konzentration des autochthonen Substrates
		Teilungswachstum der Räuber
a_{11}	0.0011 h^{-1}	Teilungskoeffizient für "shift up"
a_{12}	$1.34 \cdot 10^{-4}$ μm^{-3}	Volumenkoeffizient für "shift up"
a_{21}	0.385 h^{-1}	max. spez. Teilungsrate
a_{22}	7474 µm³	Halbsättigungskonstante der Teilungskinetik
c_{vo}	2298 µm³	minimales teilungsfähiges Zellvolumen
		Fraß und Biovolumenwachstum der Räuber
u_{max1}	753 #/# h	max. spez. Freßrate für niedrige Beutedichten
L_1	$7.2 \cdot 10^9$ #/l	Halbsättigungskonstante der Freßkinetik für niedrige Beutedichten
F_1	1022	Gewichtungsfaktor des Räubereinflusses auf die Freßkinetik für niedrige Beutedichten
u_{max2}	10153 #/# h	max. spez. Freßrate für hohe Beutedichten
L_2	$8.5 \cdot 10^{10}$ #/l	Halbsättigungskonstante der Freßkinetik für hohe Beutedichten
F_2	6711	Gewichtungsfaktor des Räubereinflusses auf die Freßkinetik für hohe Beutedichten
Y_v	0.24 µm³/#	Biovolumenausbeutekoeffizient
		Verluste der Räuber
γ_N	0.009 h^{-1}	spezifische Lysisrate
γ_v	0.0065 h^{-1}	spezifische Zellvolumenverlustrate
		(Teilungs-)Wachstum der Beute auf autochthonem Substraten
μ_{max1p}	0.378 h^{-1}	max. spez. Teilungsrate
K_1	$2.6 \cdot 10^{-3}$ g/l	Halbsättigungskonstante der Wachstumskinetik der Beute auf autochthonen Substraten
Y_{1p}	$2.5 \cdot 10^{12}$ #/g	Beutezellzahlausbeutekoeffizient
		Verluste der Beute
γ_p	0.001 h^{-1}	spezifische Lysisrate der Beute
		Input an autochthonem Substraten
Z_N	$5 \cdot 10^{-13}$ g/µm³	Ausbeute autochthonen Substrats bei Lysis der Räuber
Z_v	$5 \cdot 10^{-13}$ g/µm³	Ausbeute autochthonen Substrats bei Exkretion u.ä.. durch Räuber
Z_p	$1.2 \cdot 10^{-13}$ g/#	Ausbeute autochthonen Substrats durch Verluste der Beute

Tab. 5.1: Basiswerte der Modellparameter für die Simulation von Labormischkulturen von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli*.

5.2 Sensitivitätsanalyse

Die Sensitivitätsanalyse (Analyse der Änderung der Modellvorhersagen in Abhängigkeit von der vorgegebenen Änderung einzelner Modellparameter) wurde mit den Basisdaten aus Tab. 5.1 durchgeführt. Sie ermöglicht einerseits eine Abschätzung, ob und bei welchen Parametervariationen sich die Vorhersageeigenschaften des Modells deutlich ändern. Andererseits kann die Variation der Parameter als Verallgemeinerung der Modellaussagen angesehen werden, wenn ein biologisch begründeter Rahmen eingehalten wird. Änderungen

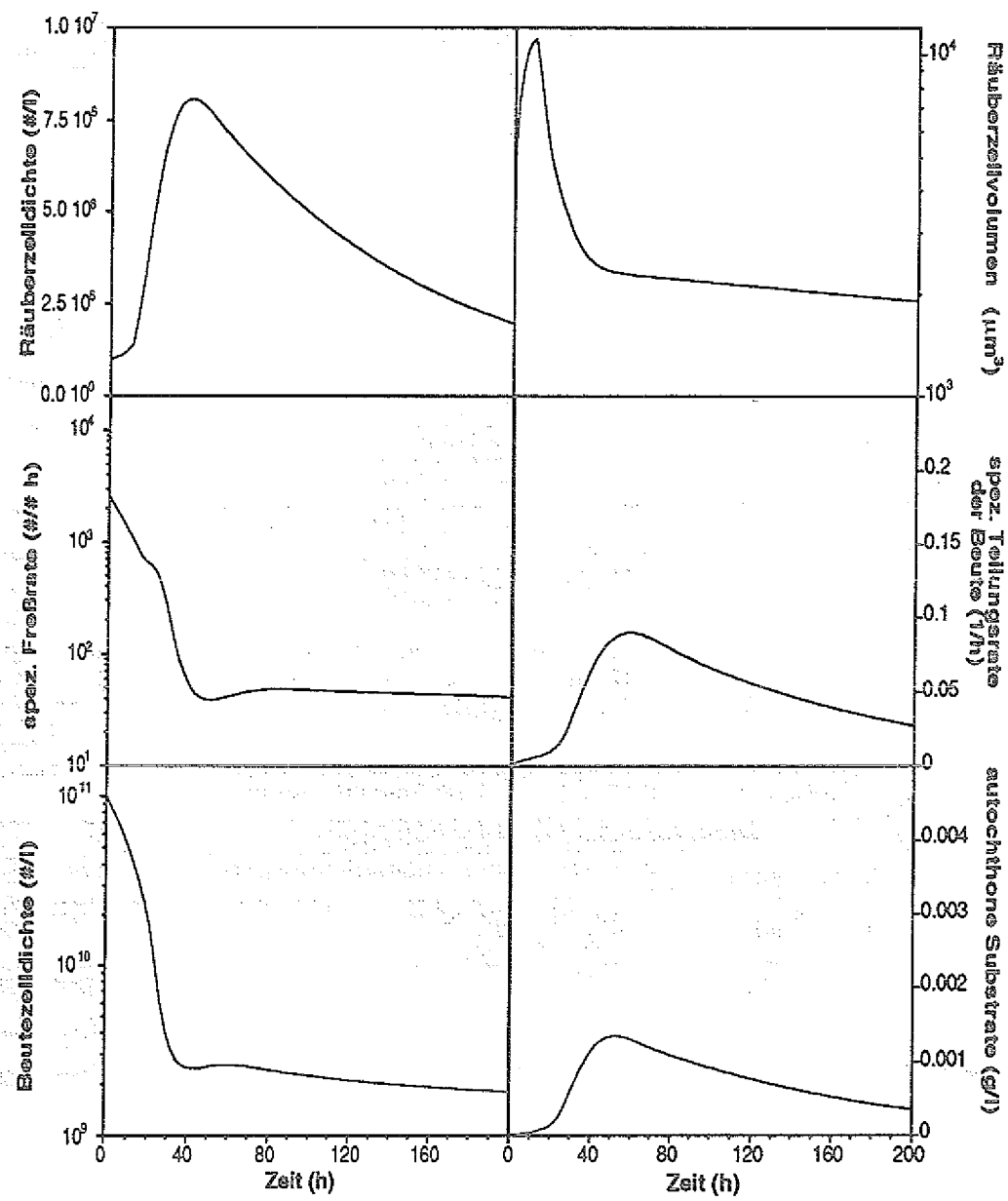


Abb 5.1: Simulation der Populationsdynamik in stationärer Laborkultur eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems mit den Basisparametern aus Tabelle 5.1.

der kinetischen Konstanten können als Auswirkungen von Organismenauswahl, Toxinen, Inhibitoren usw. interpretiert werden.

Die allgemeine Vorhersage des Modells mit den Basiswerten ist in Abbildung 5.1 wiedergegeben. Die Räuberzelldichte steigt nach einer "lag-Phase" (shift up; s. 4.3) annähernd exponentiell an und durchläuft bei ca. 40 h Versuchsdauer ein Maximum. Die folgende Abnahme erfolgt ebenfalls annähernd exponentiell. Das mittlere Zellvolumen der Räuber steigt ohne Zeitverzögerung an, durchläuft bei 10-20 h ein Maximum und verringert sich rasch durch fortgesetzte Zellteilung und Veratmung. Ab ca. 50 h erfolgt kein Teilungswachstum mehr. Die Beutezelldichte nimmt mit Zunahme der Räuberdichte beschleunigt ab. Sie durchläuft - beim Maximum der Räuberdichte - ein Minimum (ca. 40 h). Die Konzentration autochthoner Substrate steigt mit Zunahme der Räuberpopulation an. Sie durchläuft bei etwa 50 h ein Maximum. Spezifische Freßrate und die Dichte der Beutepopulation sowie insbesondere die spezifische Teilungsrate der Beute und die Konzentration autochthoner Substrate sind im zeitlichen Ablauf eng gekoppelt - letztere fast linear.

Diese grundlegende Dynamik bleibt bei den meisten Parametervariationen qualitativ erhalten. Die im folgenden verwendeten Begriffe "quantitative Verschiebung" beziehen sich auf die Absolutwerte der Simulationen, und "zeitliche Verschiebung" bezeichnet Verschiebungen der Kurven gegen die Zeitachse.

5.2.1 Variation der Startbedingungen

5.2.1.1 Startbedingungen der Beutezelldichte und der Konzentration autochthoner Substrate

Die Beutezelldichte wurde für diese Simulation im Bereich von 10^9 #/l bis 10^{12} #/l variiert. Abbildung 5.2 verdeutlicht, daß die Auswirkungen auf die Dynamik der Variablen im Wesentlichen quantitativ sind. Die Niveauunterschiede der simulierten Beutedichten vermindern sich im Simulationszeitraum zwar allmählich, die Staffelung wird jedoch beibehalten – obwohl mit der höheren Startbeutedichte auch schließlich eine höhere Räuberdichte in der Kultur erreicht wird.

Qualitative Unterschiede zwischen den Simulationen sind:

Bei Startbeutedichten von 10^9 #/l scheiden die angeimpften Räuber (10^6 #/l, Zellvolumen 5000 μm^3) so viel Substrat aus, daß die Beutepopulation darauf anwächst, ohne daß der Freßdruck dieses Wachstum kompensiert. Bei Startbeutedichten von 10^{12} #/l persistiert eine relativ hohe Beutedichte mit einer hohen Räuberdichte, während die spezifische Freßrate nach etwa 40 h etwa auf dem Niveau der übrigen

Simulationen liegt. Die Konzentration autochthoner Substrate behält nach einem Maximum hohe, sich nur langsam vermindernde Werte.

Variationen der Startkonzentration der autochthonen Substrate wirken ähnlich wie die Variation der Beutedichte. Bei den gewählten Basiswerten der Modellparameter wächst die Beutedichte bei ausreichender Substratkonzentration rascher an, als sie durch Fraß dezimiert wird. Die Dynamik der Populationen ähnelt den Simulationen entsprechender Beutedichten in Abbildung 5.2.

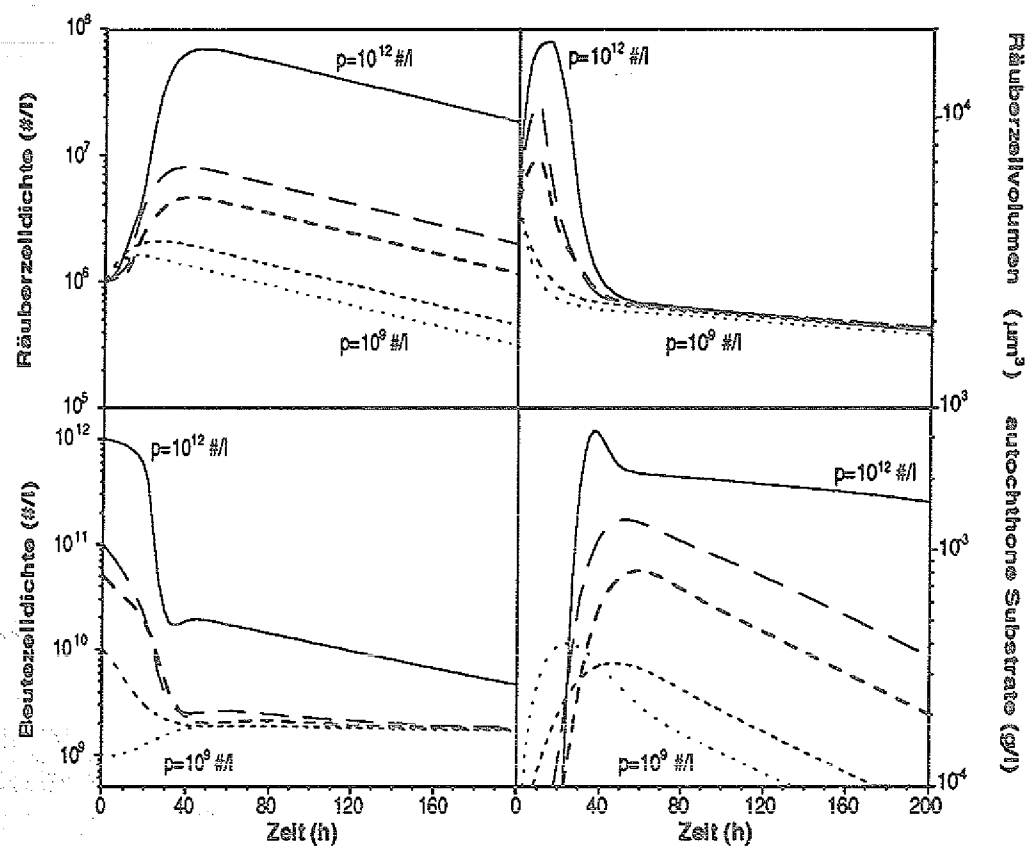


Abb. 5.2: Auswirkung der Variation der Beutezelldichte (p) beim Start stationärer Laborkulturen. Die Startzelldichten sind: $p=10^9$ #/l, $p=10^{10}$ #/l, $p=5\cdot10^{10}$ #/l, $p=10^{11}$ #/l, $p=10^{12}$ #/l.

5.2.1.2 Startbedingungen der Räuberzelldichte

Die Variation der Zelldichte der Räuber kann in Parallele zu den Versuchsergebnissen von HABTE & ALEXANDER (1978 a/b) betrachtet werden, wonach hohe Räuberzelldichten (*Tetrahymena pyriformis*) beim Start stationärer Laborkulturen höhere Beutedichten (getestet wurden diverse Bakterienarten) im Verlauf des Experiments/Simulation bedingen. Diesen Befund gibt die Simulation wieder (Abb. 5.3).

Je mehr Räuber beim Start anwesend waren, desto früher erfolgte der Einbruch der Beutepopulation, die sich dann aber auf einem höheren Niveau stabilisierte. Große Räuberzellvolumina wurden nur erreicht, wenn die Starträuberdichte gering war. Die höchsten Konzentrationen autochthoner Substrate wurden bei hohen Starträuberdichten vorhergesagt.

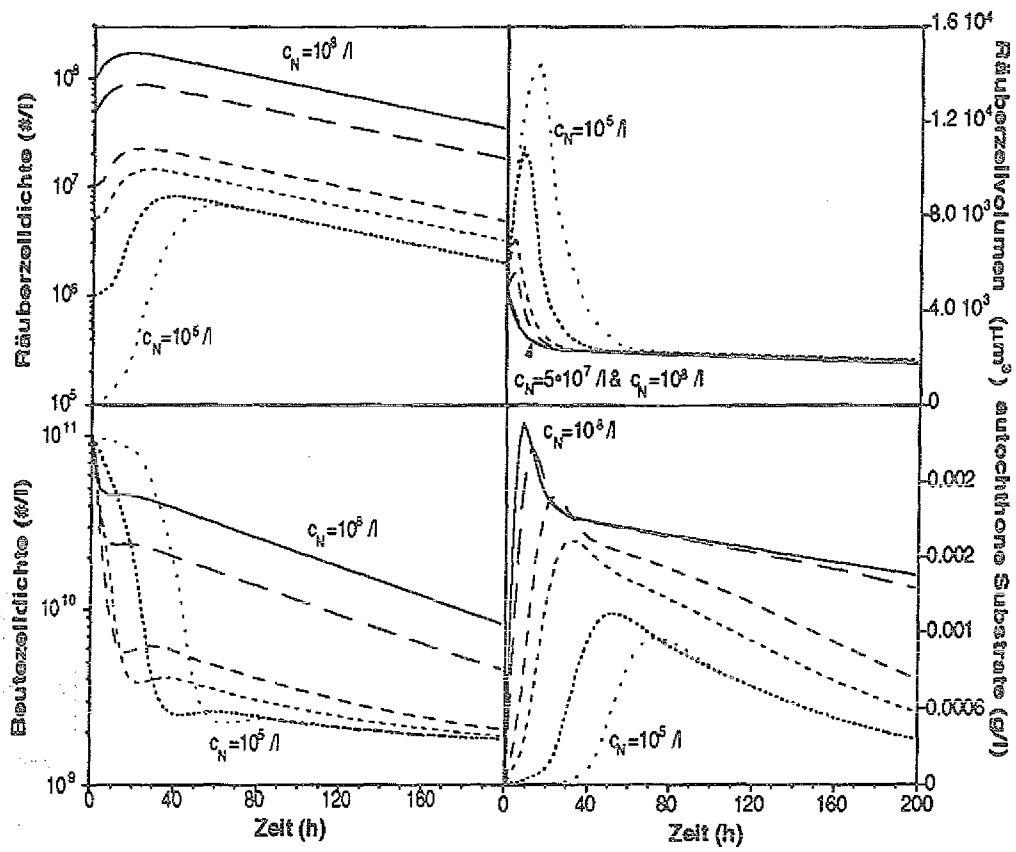


Abb. 5.3: Auswirkung der Variation der Räuberzelldichte (c_N) beim Start stationärer Laborkulturen. Die Startzelldichten sind: $c_N=10^5$ #/l; $c_N=10^6$ #/l; $c_N=5\cdot10^6$ #/l; $c_N=10^7$ #/l; $c_N=5\cdot10^7$ #/; $c_N=10^8$ #/l.

5.2.1.3 Zellvolumina der Räuber beim Start

Die Variation des Zellvolumens der Räuber beim Start der Kulturen hat im wesentlichen quantitative Auswirkungen auf die Dynamik der Populationen (Abb. 5.4). Sie gleicht der für die Simulation der Basiswerte (s. Abb. 5.1). Mit dem Startzellvolumen wird auch die maximale Zelldichte der Räuber im System bestimmt und damit auch die Beutedichte und die Konzentration autochthoner Substrate. Ein großes Startzellvolumen der Räuber führt zu einer höheren maximalen Räuberdichte. Der Zusammenhang ist allerdings nicht linear: ein Faktor von 18 zwischen den Startzellvolumina reduziert sich auf einen Faktor um 2 für die Maxima der Räuberzelldichte. Dieser Faktor entspricht wiederum annähernd der Relation der Zellvolumenmaxima in den Simulationen.

Im Modell legen die vier niedrigen Startzellvolumina "shift up" Situationen fest (Aufstockung der Nahrungsverfügbarkeit im Vergleich zur Vorkultur; s. Kap. 4.3). Bei ansteigendem Startzellvolumen verkürzt sich die "lag-Phase" des Teilungswachstums der Räuber. Das höchste getestete Startzellvolumen entspricht einer "shift down" Bedingung. Es tritt keine Verzögerung der Teilung und auch keine zwischenzeitliche Zunahme des

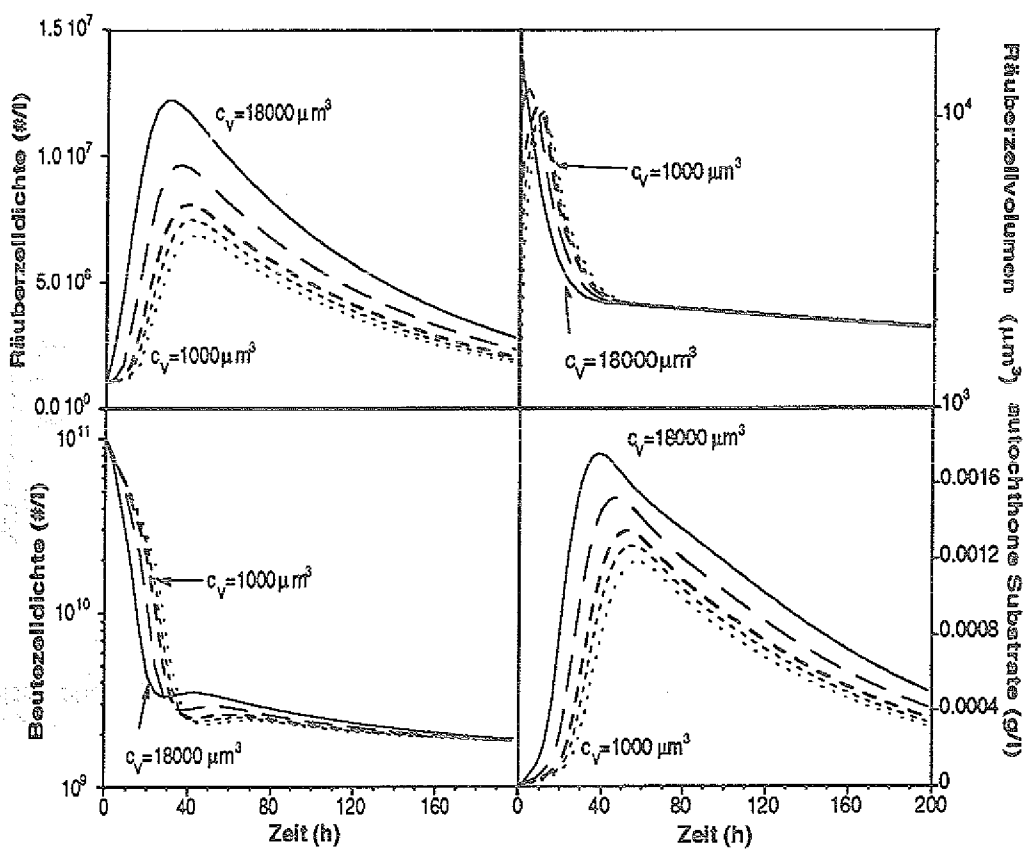


Abb. 5.4: Auswirkung der Variation des Räuberzellvolumens (c_V) beim Start stationärer Laborkulturen. Die Startzellvolumina sind: c_V=1000 µm³; c_V=3000 µm³; c_V=5000 µm³; c_V=10000 µm³; c_V=18000 µm³.

Zellvolumens mehr auf.

Langfristig gleichen sich die Simulationswerte der Populationen für die unterschiedlichen Startbedingungen einander an. Unterschiede der Startzellvolumina sind also nur kurzfristig von Bedeutung.

5.2.2 Variation der bakterieller Wachstumskinetik

Die Wachstumskinetik der Beute ist mit entscheidend für die Quantität der rezyklierten Substrate im System. Bei der Variation der Parameter wurden biologisch sinnvolle Obergrenzen eingehalten.

5.2.2.1 Maximale spezifische Teilungsrate

Erhöhung der maximalen spezifischen Teilungsrate der Beute vom Basiswert aus (0.378 /h) führt nur zu geringfügigen Änderungen der Dynamik der Populationen (Abb. 5.5). Eine Verringerung von μ_{max1p} auf ein Zehntel des Basiswertes erzeugt hingegen deutliche

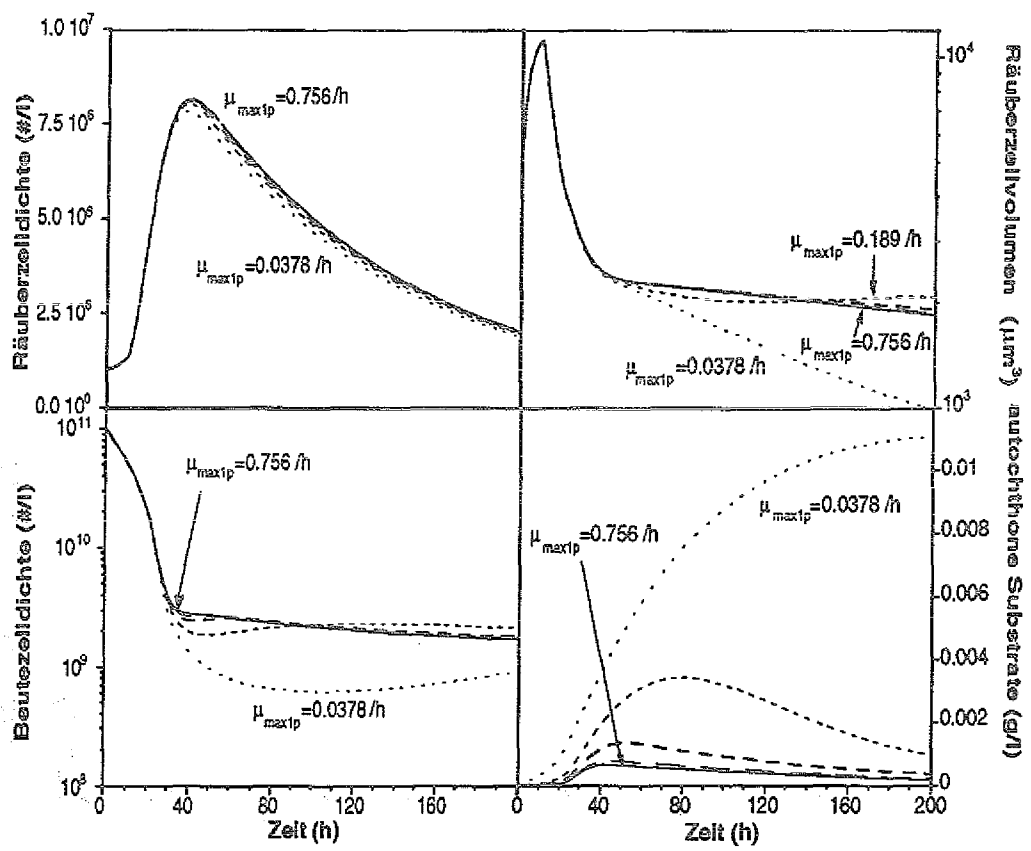


Abb. 5.5: Auswirkung der Variation der maximalen spezifischen Teilungsrate der Beutebakterien für das Wachstum auf autochthonen Substraten (μ_{max1p}) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die maximalen spezifischen Teilungsraten sind: μ_{max1p}=0.756 /h; μ_{max1p}=0.567 /h; μ_{max1p}=0.378 /h; μ_{max1p}=0.189 /h; μ_{max1p}=0.0378 /h.

Veränderungen:

Das Räuberzellvolumen nimmt rascher ab,

die Beutedichte durchläuft ein vertieftes, zeitlich gedehntes Minimum,

autochthones Substrat akkumuliert.

Für μ_{max1p}=0 /h strebt das System einem Grenzverhalten zu, in dem kein Nährstoffrecycling stattfindet. Die Beutezelldichte bleibt jedoch in einem Bereich, in dem sie nicht als diskrete Größe betrachtet werden muß!

5.2.2.2 Halbsättigungskonstante der Kinetik des Teilungswachstums

Die Variation der Substrataffinität (Halbsättigungskonstante, K-Wert) der Wachstumskinetik der Beute führt im zeitlichen Rahmen der Simulation zu quantitativen Änderungen insbesondere in der Dynamik der Beutepopulation und der Konzentration autochthoner Substrate (Abb. 5.6). Die Erhöhung des K-Wertes (=Verringerung der Substrataffinität) führt zu einer stärkeren Ausprägung des Minimums der Beutepopulation zwischen 40-80 h Simula-

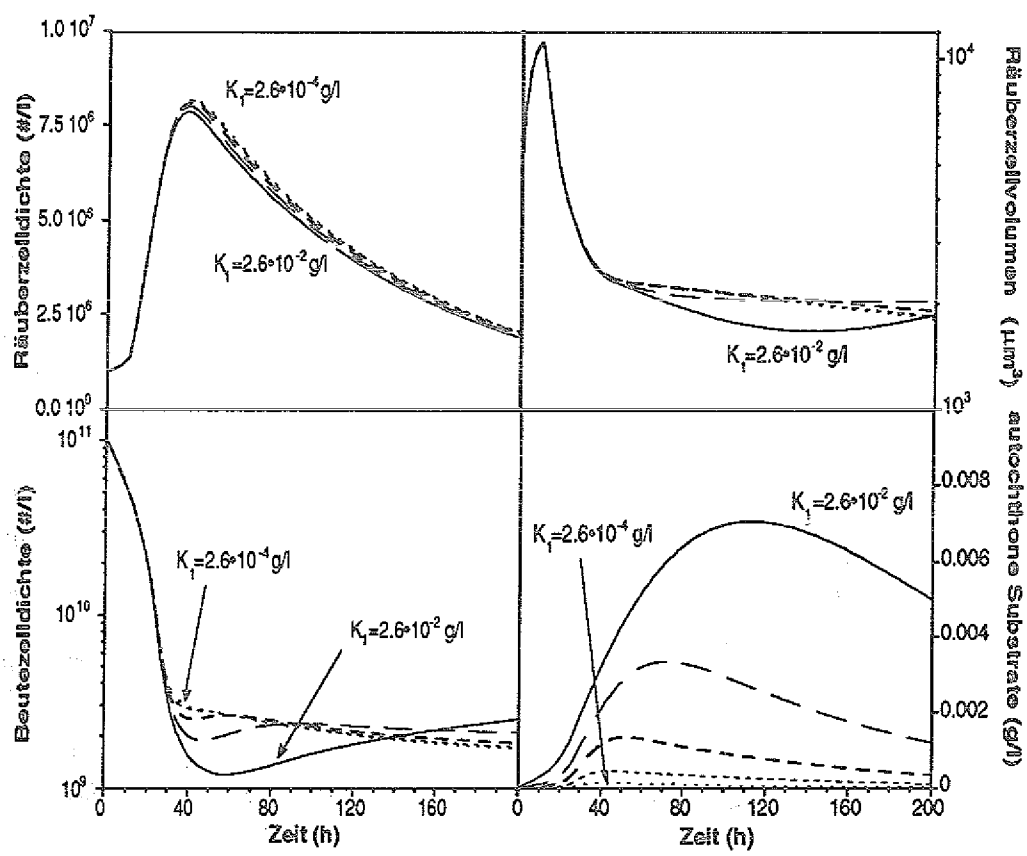


Abb. 5.6: Auswirkung der Variation der Halbsättigungskonstanten der Wachstumskinetik der Beute (K_1) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Halbsättigungskonstanten sind: K_1=2.6•10^{-4} g/l; K_1=8.7•10^{-4} g/l; K_1=2.6•10^{-3} g/l; K_1=7.8•10^{-3} g/l;K_1=2.6•10^{-2}g/l.

tionszeitraum. Sie wächst allerdings im weiteren Verlauf auf geringfügig höhere Dichten an als bei Simulationen mit niedrigeren K-Werten, da mehr Substrat akkumuliert wurde. Ähnlich wie bei der Untersuchung der spezifischen Teilungsrate (s. 5.2.2.1) scheint hier bei K_1=7.8•10^{-3} g/l ein Wert erreicht zu sein, wo die Teilungsrate der Beute die Freßverluste durch die Räuber nahezu ausgleicht (für t>80 h).

5.2.2.3 Ausbeutekoeffizient

Eine Erhöhung des Ausbeutekoeffizienten der Beute für das Wachstum auf autochthonen Substraten (Y_{1p}) führt zu parallelen Erhöhungen der Populationsdichten (s. Abb. 5.7). Für die Räuberpopulationsdichte, die Räuberzellvolumina und die Beutezelldichte bedeutet dies im wesentlichen eine Einschränkung der Nettoverluste. Die Erhöhung der Substratkonzentration mit steigendem Y_{1p} resultiert aus der Freßkontrolle der Räuber über die Beutepopulation, die den Input an Substrat nicht durch ungehindertes Wachstum abschöpfen kann. Es wird deutlich, welch grundlegend bestimmenden Einfluß die Freßkinetik auf die Dynamik des Systems hat.

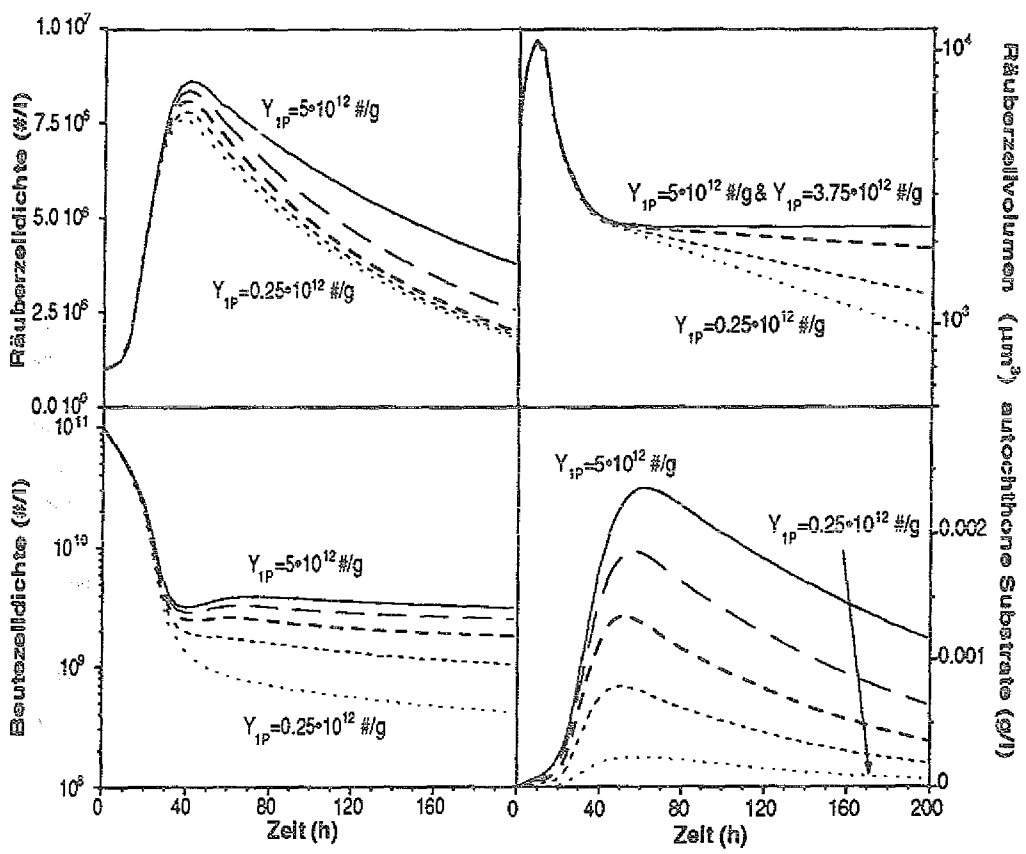


Abb. 5.7: Auswirkung der Variation des Ausbeutekoeffizienten des Wachstums der Beute auf autochthonen Substraten (Y_{1p}) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Ausbeutekoeffizienten sind: Y_{1p}=0.25•10^{12} #/g; Y_{1p}=1.25•10^{12} #/g; Y_{1p}=2.5•10^{12} #/g; Y_{1p}=3.75•10^{12} #/g; Y_{1p}=5.0•10^{12} #/g.

5.2.3 Variationen der Parameter des Teilungswachstums der Räuber

5.2.3.1 "shift up"-Teilungskinetik

Die Variationen der Parameter der spezifischen Teilungskinetik der Räuber (a_{11}und a_{12}) für den Fall, daß die Räuber beim Start der Kulturen von schlechten in gute Nahrungsbedingungen überführt wurden, sind für beide Parameter gleichgerichtet (Abb. 5.8 für a_{11}). Es ergeben sich leichte quantitative und zeitliche Verschiebungen zur Simulation mit den Basiswerten (vgl. Abb. 5.1). Eine Erhöhung der Parameter führt jeweils

- zur Verkürzung der "lag-Phase" des Teilungswachstums,
- zu höheren Maximalwerten der Räuberdichte,
- aber zu geringeren maximalen Zellvolumina,
- zur rascheren Dezimierung der Beutepopulation, ohne das langfristige Niveau deutlich zu erniedrigen,
- zum früheren Anstieg sowie zur Erhöhung der maximalen Konzentration autochthoner Substrate.

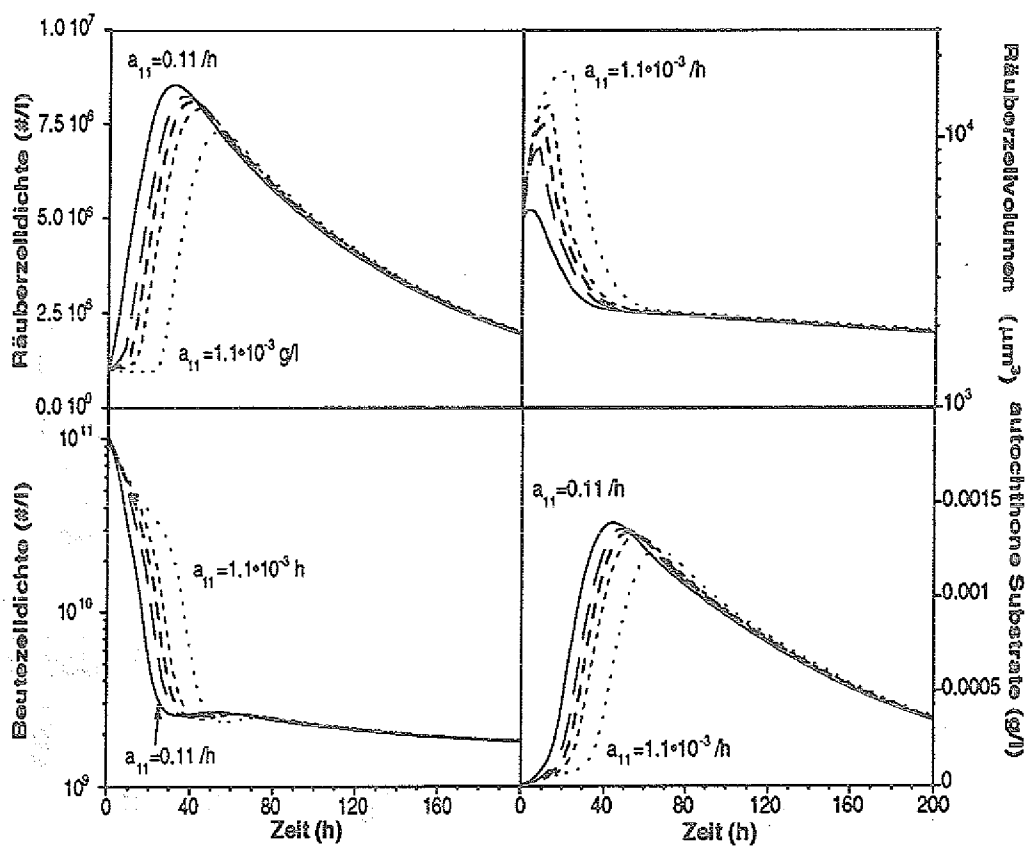


Abb. 5.8: Auswirkung der Variation der Teilungskinetik der Räuber für "shift up" (hier a_{11}) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: a_{11}=0.0011 /h; a_{11}=0.0055 /h; a_{11}=0.011 /h a_{11}=0.022 /h; a_{11}=0.11 /h. (Ähnliche Ergebnisse ergeben sich für den Parameter a_{12} bei: $a_{12}=0.27 \cdot 10^{-5}$ µm³; $a_{12}=0.67 \cdot 10^{-4}$ µm³ $a_{12}=1.3 \cdot 10^{-4}$µm³; $a_{12}=2.7 \cdot 10^{-4}$ µm³; $a_{12}=6.7 \cdot 10^{-4}$ µm³.)

5.2.3.2 *Parameter der normalen Teilungskinetik*

Maximale Teilungsrate (a_{21}) und Halbsättigungskonstante (a_{22})

Auch die Variationen der Parameter der normalen Teilungskinetik (a_{21} und a_{22}) haben einander ähnliche Auswirkungen auf die Dynamik. Allerdings ist aufgrund der hyperbolischen Kinetik eine Erhöhung von a_{21} gleichgerichtet mit einer Verminderung von a_{22} und führt zu einer höheren spezifischen Teilungsrate der Räuber.

Die Erhöhung von a_{21} bzw. Verminderung von a_{22} führt

- zu einer Erhöhung und schärferen Ausprägung des Maximums der Räuberzelldichte
- zu einer rascheren Verringerung des Zellvolumens durch die erhöhte spezifische Teilungsrate
- zu einer beschleunigten Dezimierung der Beutepopulation
- zu einer Erhöhung und Verschärfung des Maximums der Konzentration autochthoner Substrate.

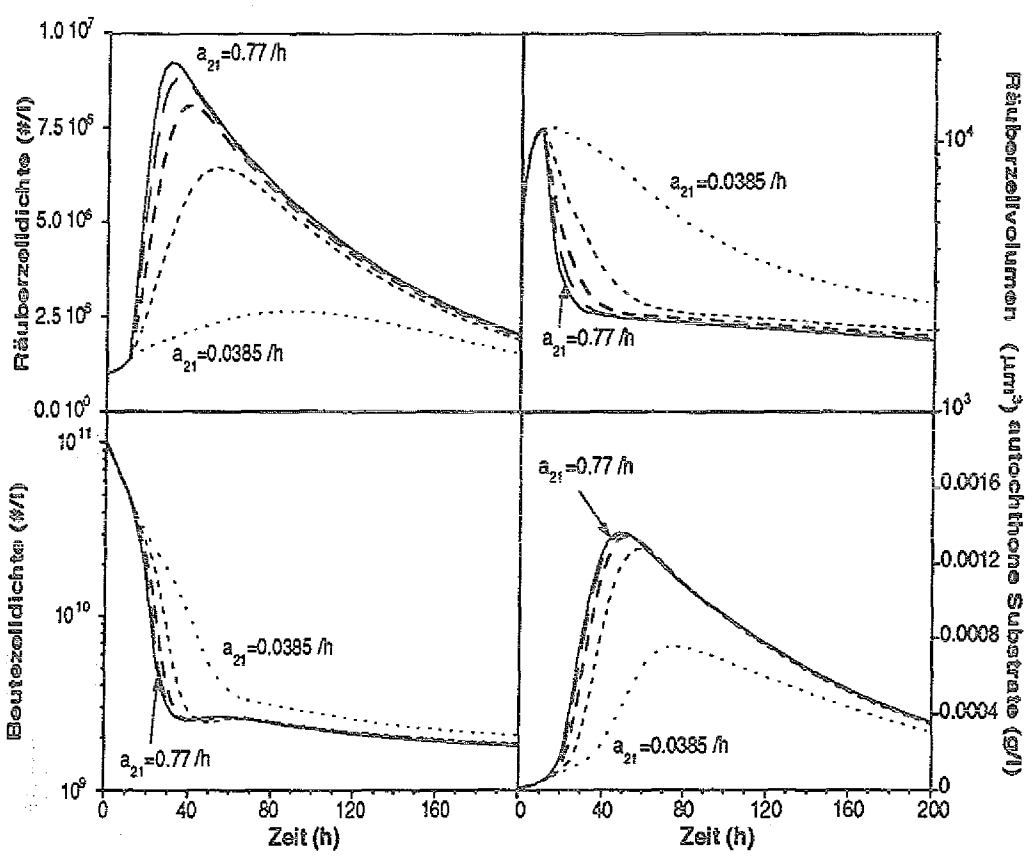


Abb. 5.9: Auswirkung der Variation der normalen Teilungskinetik der Räuber (hier a_{21}) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: a_{21}=0.039 /h; a_{21}=0.193 /h; a_{21}=0.385 /h; a_{21}=0.578 /h; a_{21}=0.77 /h. (Ähnliche Ergebnisse ergeben sich für den Parameter a_{22} bei: a_{22}=74740 µm³; a_{22}=37370 µm³; a_{22}=7474 µm³; a_{22}=3737 µm³; a_{22}=747 µm³.)

Die Veränderungen der Dynamik der Populationen sind gegenüber der Start-Variationsbreite von einem Faktor 20 für a_{21} und einem Faktor 100 für a_{22} deutlich gedämpft: So wird die maximale Populationsdichte der Räuber bei Erhöhung von a_{21} nur um das 3.5-fache bei Variation von a_{22} nur um das 3.4-fache erhöht.

Minimales teilungsfähiges Zellvolumen der Räuber

Die Auswirkungen der Variation des minimalen teilungsfähigen Zellvolumens (c_{V0}) auf die Dynamik des Systems sind vielschichtig (Abb. 5.10). Eindeutig ist die Wirkung auf die Zelldichte und das Zellvolumen der Räuber: Eine Erhöhung von c_{V0} führt im Simulationszeitraum zur Verminderung der Zelldichte und zur Erhöhung des Niveaus der mittleren Zellgröße. Der eingesetzte Maximalwert (c_{V0}=22980 μm^3) liegt über dem Zellvolumen, das theoretisch durch die Nahrungsaufnahme möglich ist. In diesem Fall finden keine Teilungen mehr statt (z.B. Blockade des Teilungsmechanismus).

Die Beutezelldichte wird von den c_{V0}-Variationen uneinheitlich beeinflußt. Ausgehend von dem niedrigsten Wert c_{V0}=229.8 μm^3, einem Zehntel des Basiswertes, führt eine Erhöhung bis zum Basiswert zunächst zu einer Nivellierung des Minimums, jedoch im weiteren

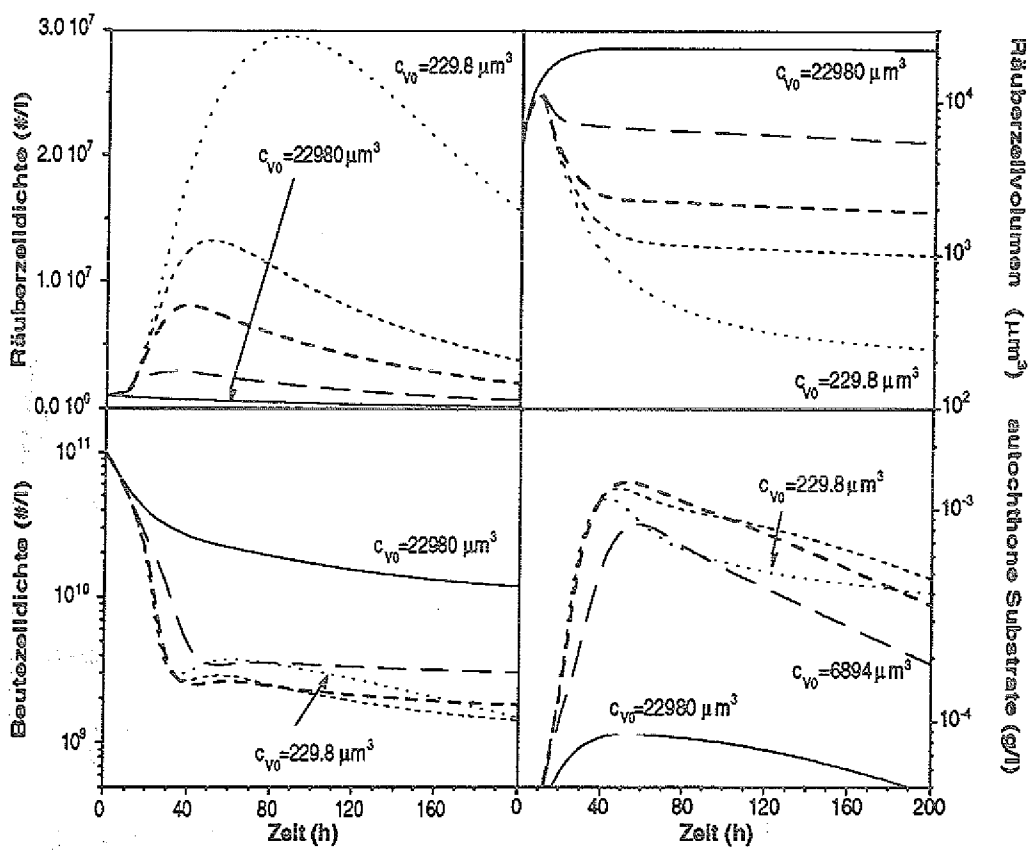


Abb. 5.10: Auswirkung der Variation des minimalen teilungsfähigen Zellvolumens der Räuber (c_{V0}) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: c_{V0}=230 μm^3; c_{V0}=1149 μm^3, c_{V0}=2298 μm^3; c_{V0}=6894 μm^3; c_{V0}=22980 μm^3.

zeitlichen Verlauf auch zu zwischenzeitlich geringeren Beutedichten. Eine weitere Erhöhung von c_{v0} führt dann zu einer langfristigen Anhebung des Niveaus der Beutedichte. (Für c_{v0}=229.8 μm^3 beträgt der Simulationswert der Beutedichte bei t=150 h 111 % des Simulationswertes für c_{v0}=2298 μm^3, der Simulationswert für c_{v0}=22980 μm^3 beträgt 690%.)

Die Konzentration der autochthonen Substrate zeigt im mittleren Zeitrahmen bei Erhöhung von c_{v0} ebenfalls eine schwache Erhöhung des Niveaus. Weitere Erhöhungen von c_{v0} über den Basiswert hinaus führen zur drastischen Minderung der Substratkonzentration. (Der Simulationswert des Substrates für c_{v0}=229.8 μm^3 bei t=150 h liegt bei 80 % des Simulationswertes für c_{v0}=2298 μm^3, der Simulationswert für c_{v0}=22980 μm^3 bei 11%.)

Änderungen in c_{v0} werden nur schwach gedämpft und bewirken deutliche Veränderungen in der Dynamik des Systems.

5.2.4 Variation der Freßkinetik

5.2.4.1 Freßkinetik für niedrige Beutedichten

Variationen der Freßkinetik für niedrige Beutedichten wirken sich dann aus, wenn die diesbezüglich errechnete spezifische Freßrate größer ist als diejenige, die durch die Kinetik für höhere Beutedichten festgelegt wird. Da das Modell so formuliert wurde, daß immer die Teilkinetik gilt, die die höchste spezifische Nahrungsaufnahmerate ergibt, verschiebt sich mit der Variation der Parameter auch der Gültigkeitsbereich der Teilkinetiken in bezug auf die Beutedichte gegeneinander.

Maximale spezifische Freßrate

Die Auswirkungen der Variation der maximalen spezifischen Freßrate (u_{max1}) auf die Dynamik des Systems besteht in der quantitativen Verschiebung der Populationsniveaus (Abb. 5.11). Im Simulationszeitraum werden die Zelldichte und das Zellvolumen der Räuber kaum beeinflußt. Letzteres zeigt bei hohem u_{max1} einen leichten Anstieg am Ende der Simulation. Eine Erhöhung von u_{max1} führt zu einer stärkeren Ausprägung des Minimums und Absenkung des langfristigen Niveaus der Beutedichte. Eine Variation von u_{max1} um den Faktor 50 wird in der Beutepopulation durch eine Variationsbreite mit dem Faktor 5.2 beantwortet (bei t=150 h). Im Gegensatz dazu führt die erhöhte maximale spezifische Freßrate auch zu einer Erhöhung der Konzentration autochthoner Substrate, da ja die Substratverbrauchende Beutepopulation geringer ist. Die Dämpfung der Eingangsvariationsbreite ist hier geringer als bei der Beutepopulation. Zum Zeitpunkt t=150 h variieren die Konzentrationswerte (noch) um den Faktor 16.

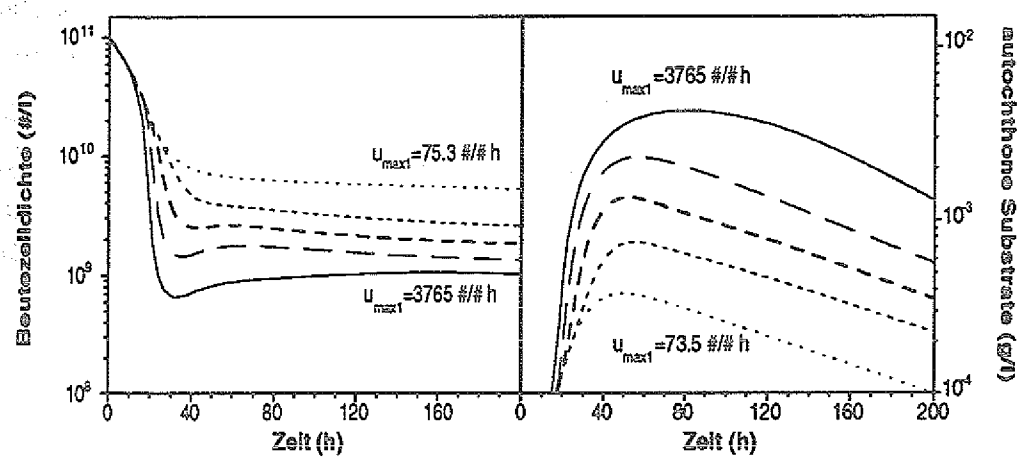


Abb. 5.11: Auswirkung der Variation der maximalen spezifischen Freßrate für niedrige Beutedichte (u_{max1}) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: u_{max1}=75.3 #/# h; u_{max1}=137.7 #/# h; u_{max1}=753 #/# h; u_{max1}=1506 #/# h; u_{max1}=3765 #/# h.

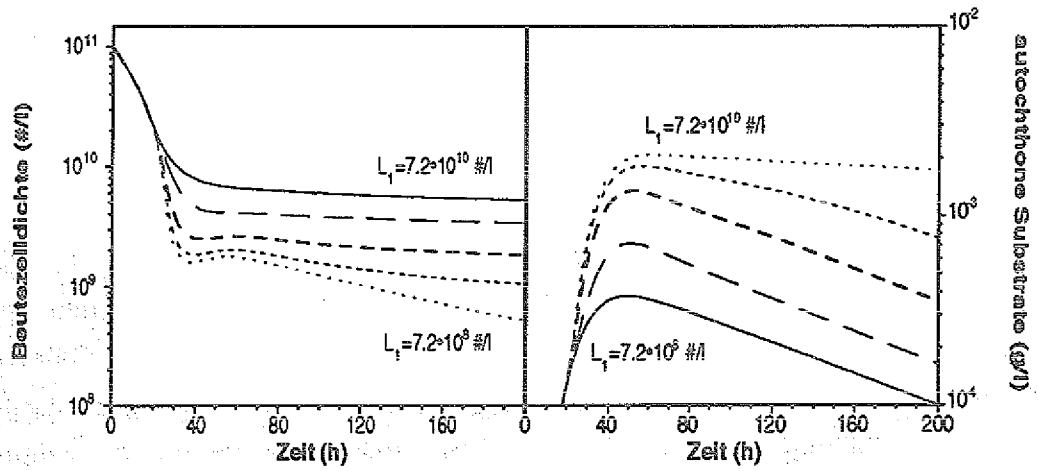


Abb. 5.12: Auswirkung der Variation der Konstanten L_1 der Freßkinetik für niedrige Beutedichte auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: L_1=7.2•10^8 #/l; L_1=3.6•10^9 #/l; L_1=7.2•10^9 #/l; L_1=3.6•10^{10} #/l; L_1=7.2•10^{10} #/l.

Halbsättigungskonstante

Ähnlich wie für die Variation von u_{max1} gilt auch für die Variation der Halbsättigungskonstanten L_1, daß im Wesentlichen die Dynamik der Beutedichte und der Konzentration autochthoner Substrate quantitativ verändert werden. Eine Verminderung von L_1 bewirkt ähnliche Effekte wie eine Erhöhung von u_{max1}:

- Verminderung des Niveaus der Beutepopulation,
- Erhöhung der Nettoverlustrate der Beute,
- Erhöhung des Niveaus der Substratkonzentration,
- Verminderung des Nettoverbrauchs der autochthonen Substrate infolge geringerer Beutedichte.

Die mathematische Formulierung (Formel 5.5) der Freßkinetik läßt schon erkennen, daß sich eine Verminderung von L_1 bei relativ geringen Räuber- und Beutedichten auswirkt. Dies wird in Abbildung 5.12 deutlich: im Bereich niedriger Beute- und hoher Räuberdichten sind die Kurven relativ dicht beieinander, divergieren aber parallel zur Abnahme der Räuberpopulation.

Räubereinfluß

Der Räubereinfluß auf die spezifische Freßrate wird mit der Variation des gewichtenden Faktors F_1 verändert. Ähnlich wie für L_1 gilt, daß sich Variationen nur dann deutlich auf die Kinetik auswirken können, wenn das Produkt $F_1 \cdot c_N$ gegenüber der Beutedichte und L_1 bedeutend ist, also insbesondere bei niedrigen Beute- und hohen Räuberdichten. Wie bei den anderen Parametern der Freßkinetik gilt auch für die Variation von F_1, daß die Dynamik der Zelldichte und des Zellvolumens der Räuber nur geringfügig beeinflußbar ist (Abb. 5.13).

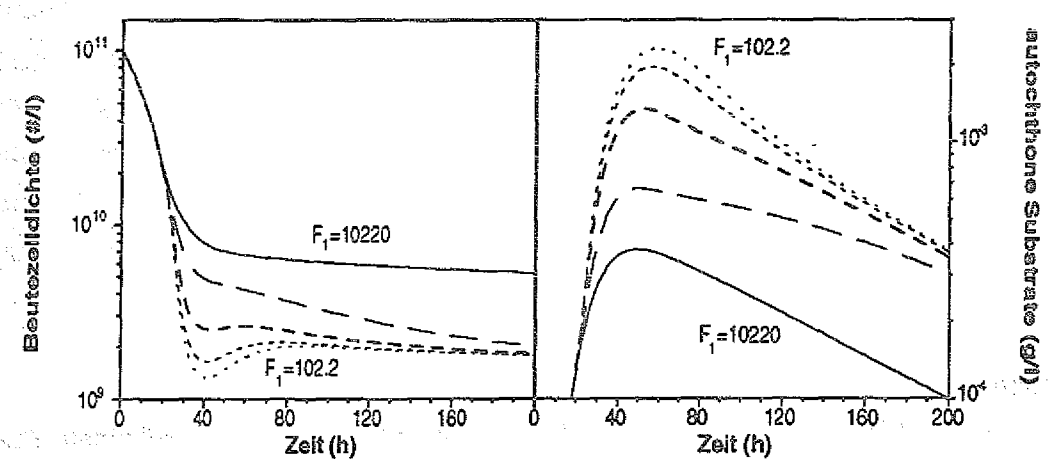


Abb. 5.13: Auswirkung der Variation des Räubereinflusses auf die Freßkinetik für niedrige Beutedichte (F_1) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: F_1=102.2; F_1=511; F_1=1022; F_1=5110; F_1=10220.

Die Verminderung von F_1 unter den Basiswert (F_1=1022) verringert den inhibierenden Einfluß der Räuber auf die spezifische Freßrate. Das Minimum der Beutedichte prägt sich bei hohen Räuberzellzahlen deutlicher aus, die Konzentration autochthoner Substrate wird erhöht. Die Dynamik strebt also einem Grenzverhalten für F_1=0 zu.

Eine Erhöhung von F_1 führt zu einer (zwischenzeitlichen) Anhebung der Niveaus der Beutezelldichte, die sich jedoch im Laufe der Simulationen mit der Abnahme der Räuberdichte angleichen. Bei extremen Erhöhungen von F_1 ist auch langfristig ein hohes Niveau der Beutedichte zu erwarten.

5.2.4.2 Variation der Freßkinetik für hohe Beutedichten

Die Variation der Freßkinetik für hohe Beutedichten wirkt sich bei den gewählten Startbedingungen zu Beginn der Simulationen aus.

Maximale spezifische Freßrate

Eine Variation der maximalen spezifischen Freßrate der Kinetik für hohe Beutedichten (u_{max2}) wirkt sich weitgehend als zeitliche Verschiebung in den Trajektorien der einzelnen Variablen aus (Abb 5.14). Eine Erhöhung von u_{max2} führt zum früheren Anwachsen der Räuberpopulation, entsprechender Abnahme der Beutedichte und zum Anstieg der Konzentration autochthoner Substrate. Neben der zeitlichen Verschiebung werden die Maxima der Räuberzellzahl, des mittleren Zellvolumens und der Konzentration autochthoner Substrate erhöht bzw. verschärft. Nur die extremen Parametervariationen rufen deutliche qualitative Änderungen der Dynamik hervor.

Halbsättigungskonstante

Die Verminderung der Halbsättigungskonstanten der Freßkinetik für hohe Beutedichten (L_2) hat im Wesentlichen ähnliche Auswirkungen wie die Erhöhung von u_{max2}. Die Ausnahme stellt der niedrigste zur Simulation ausgewählte L_2-Wert dar, der etwa dem L_1-Basiswert entspricht: ei niedriger Räuberdichte und damit geringem Räubereinfluß auf die Freßkinetik gilt für den zeitlichen Rahmen der Simulationen auch bei niedrigen Beutedichten noch $u_2>u_1$. Dies führt zu einer stärkeren Reduzierung der Beutepopulation und langfristig höherem Substratniveau (Abb. 5.15).

Räubereinfluß

Der Räubereinfluß auf die Kinetik für hohe Beutedichten ist relativ schwach. Erst eine Verzehnfachung des Basiswertes des gewichtenden Faktors F_2 führt bei den vorgegebenen Startbedingungen zu einer schwachen zeitlichen Verschiebung der Trajektorien der einzelnen Variablen um ca. 10 h.

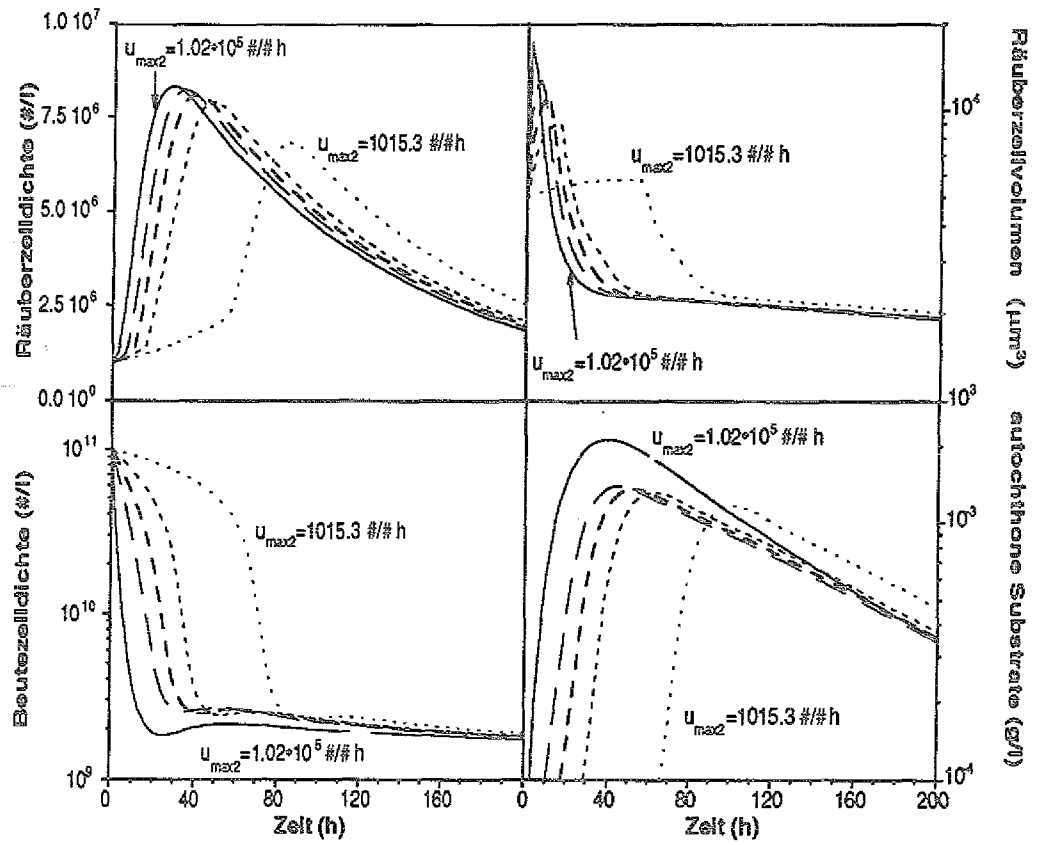


Abb. 5.14: Auswirkung der Variation der maximalen spezifischen Freßrate der Freßkinetik für hohe Beutedichten (u_{max2}) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die u_{max2}-Werte sind: u_{max2}=1015.3 #/# h; u_{max2}=5076 #/# h; u_{max2}=10153 #/# h; u_{max2}=50765 #/# h; u_{max2}=101530 #/# h.

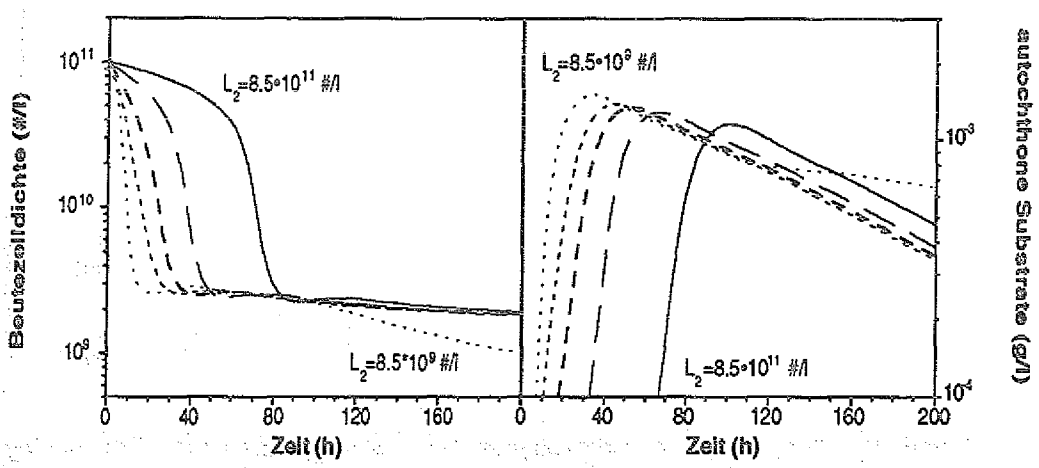


Abb. 5.15: Auswirkung der Variation des L-Wertes der Freßkinetik bei hohen Beutedichten (L_2) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die L-Werte sind: $L_2=8.5\cdot10^9$ #/l; $L_2=4.25\cdot10^{10}$ #/l; $L_2=8.5\cdot10^{10}$ #/l; $L_2=1.7\cdot10^{11}$ #/l; $L_2=8.5\cdot10^{11}$ #/l.

5.2.4.3 Biovolumen-Ausbeute der Räuber

Die Variation des Ausbeutekoeffizienten des Biovolumenwachstums der Räuber (Y_V) zeigt sowohl quantitative Veränderungen in der Dynamik aller Populationen als auch Veränderungen qualitativer Art in der Dynamik der Räuberdichte und deren mittlerer Zellvolumina (Abb. 5.16).

Eine Verminderung von Y_V auf ein Zehntel des Basiswertes (also: Y_V=0.024 µm³/#) vermindert das Niveau der Populationen:

- Das Maximum der Räuberdichte beträgt ca. 25% des Wertes der Simulation mit dem Basiswert.
- Das mittlere Räuberzellvolumen durchläuft kein Maximum mehr und nimmt direkt nach Start der Simulation ab. Die Nettoverluste verstärken sich mit dem verminderten Wachstum der Beutepopulation.
- Das Niveau der Beutepopulation wird bei t=150 h im Verhältnis zur Simulation des Basiswertes auf 91% gesenkt.

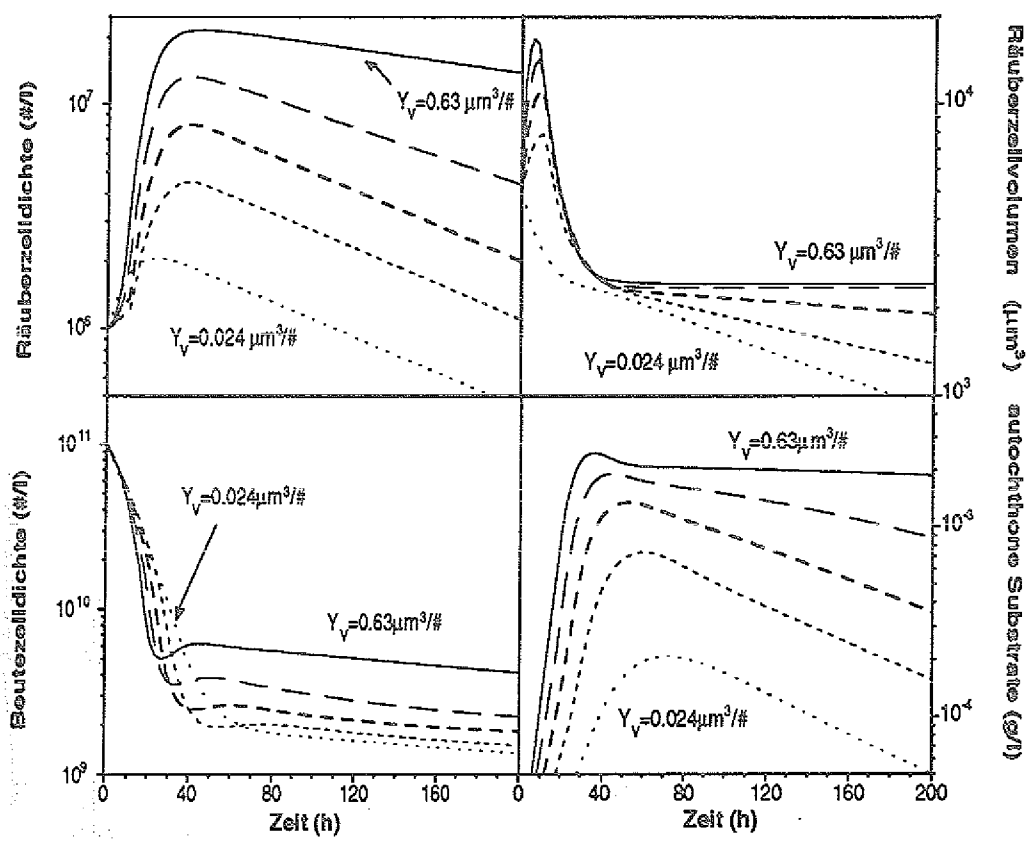


Abb. 5.16: Auswirkung der Variation des Biovolumen-Ausbeutekoeffizienten der Räuber (Y_V)auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: Y_V=0.024 µm³/#; Y_V=0.12 µm³/#; Y_V=0.24 µm³/#; Y_V=0.40 µm³/#; Y_V=0.063 µm³/#.

- Die maximale Konzentration autochthoner Substrate wird im Verhältnis zur Simulation des Basiswertes auf ca. 17% vermindert, damit auch das Wachstum der Beutepopulation.

Die Dämpfung der Eingangsvariationsbreite ist also in den einzelnen Populationen unterschiedlich stark. Der Fall Y_v=0 $\mu m^3/\#$ (kein Wachstum der Räuberpopulation) stellt eine "untere Grenze" für die Dynamik des Systems dar (maximale spezifische Netto-Verlustraten der Räuber, geringe Substrateinträge ins Medium, relativ geringe Beutedichte).

5.2.5 Variation der Verlustraten der Organismen

Die Verluste der Organismen sind in diesem Modell mit dem autochthonen Substratpool gekoppelt. Sie sind damit ein wesentlicher Teil im Prozeß des Nährstoffrecyclings.

5.2.5.1 Verluste der Beute

Die Auswirkung der spezifischen Verlustrate der Beutepopulation (γ_p) auf die simulierte Dynamik der Populationen ist gering. Eine Verzehnfachung des Basiswertes ändert das quantitative Niveau der Populationen nur geringfügig:

Maximum der Räuberdichte:	- 6 %
Räuberzellvolumen (t=150 h):	- 3 %
Beutezelldichte (t=150 h):	- 7 %
Substratkonzentration (t=10.5 h):	+ 49 %
Substratkonzentration (t=150 h):	+ 2 %

Hohe Verluste der Beutepopulation wirken sich besonders zu Beginn der Kultivierung (bis ca. 20 h) auf die Konzentration der autochthonen Substrate aus, da dann die Beutedichten noch relativ hoch sind. Die Absolutwerte sind jedoch so niedrig, daß die Dynamik der anderen Populationen praktisch unbeeinflußt bleibt.

Die Beuteverluste sind also für die Dynamik des Systems unter diesen Bedingungen unbedeutend.

5.2.5.2 *Lysis der Räuber*

Wird die spezifische Lysisrate der Räuber (γ_N) im Bereich vom 0.1- bis zum 10-fachen des Basiswertes (γ_N=0.009 /h) variiert, so lassen sich deutliche quantitative und geringfügige qualitative Änderungen der Dynamik des Systems erkennen (Abb. 5.17).

Die spezifische Lysisrate bestimmt das quantitative Niveau aller Populationen. Eine Erhöhung führt zu Reduzierung der Räuberzelldichte, jedoch zu einem relativ höheren Niveau des Räuberzellvolumens und der Beutedichte (nach 40 h). Die Konzentration autochthoner Substrate ist ambivalent betroffen: Erhöhung von γ_N bis um den Faktor 2 vom Basiswert führt zu höheren Maxima der Substratkonzentration, jedoch längerfristig zu niedrigeren Konzentrationen. Für γ_N=0.09 /h wurden extrem niedrige Substratkonzentrationen simuliert, wobei auch der Maximalwert deutlich unter denen der übrigen Simulationen lag (-90% des Maximumwertes der Simulation des Basiswertes).

Moderate Variationen von γ_N wirken sich im wesentlichen auf die Räuberdichte und die Zellgröße aus. Gravierende Erhöhungen (10-facher Basiswert) der Lysisverluste der Räuber führen hingegen auch zu entsprechend gravierenden Änderungen in der Beutepopulation

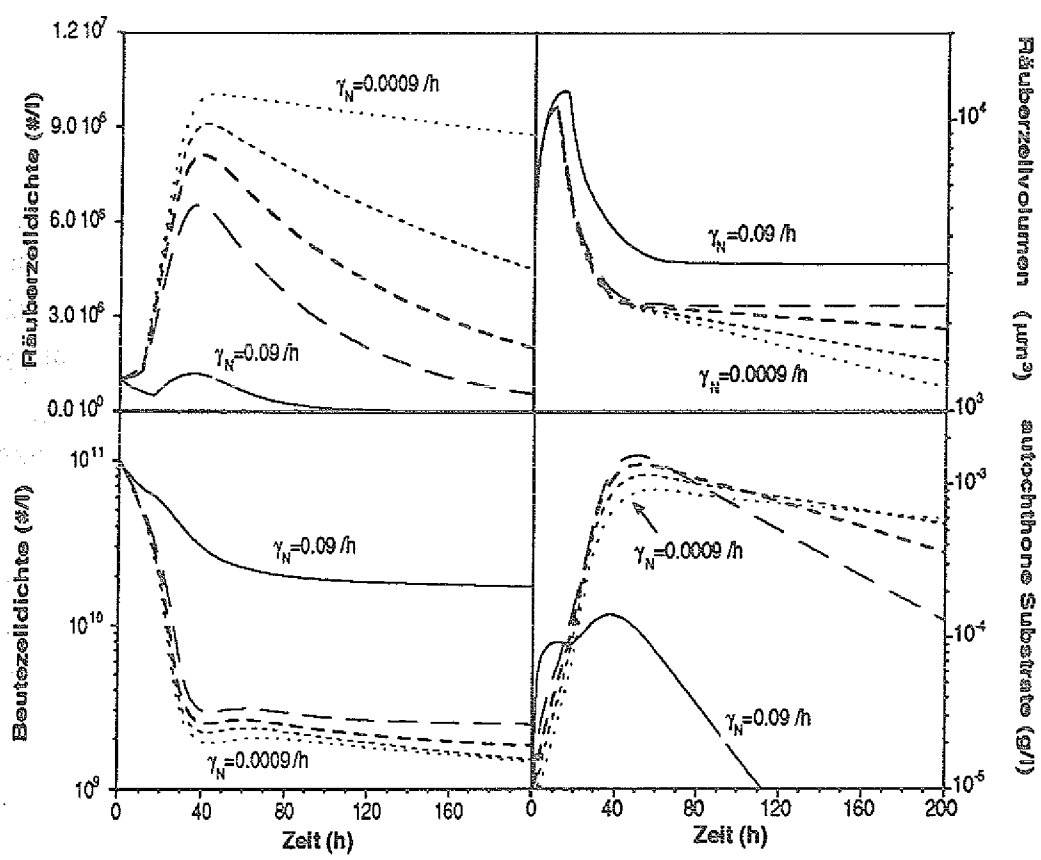


Abb. 5.17: Auswirkungen der Variationen der spezifischen Lysisrate der Räuber (γ_N) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: γ_N=0.0009 /h; γ_N=0.0045 /h; γ_N=0.009 /h; γ_N=0.018 /h; γ_N=0.09 /h.

(etwa verzehnfacht zum Basissimulationswert bei 150 h) und der Konzentration autochthoner Substrate. Das System zeigt also ein begrenztes Pufferungsvermögen gegenüber Änderungen von γ_N.

5.2.5.3 Variation der spezifischen Biovolumenverlustrate der Räuber

Moderate Variationen der spezifischen Biovolumenverlustrate der Räuber (γ_V) ändern die Dynamik der Variablen vornehmlich quantitativ (Abb. 5.18). Eine Verminderung von γ_V führt

- erhöht sich die Räuberzelldichte,
- die Verluste an Zellvolumen werden geringer,
- das Niveau der Beutepopulation reduziert sich etwas,
- die Konzentration autochthoner Substrate durchläuft ein schwach erhöhtes Maximum, nimmt aber rascher ab.

Das System strebt einem Grenzverhalten für γ_V=0/h zu.

Eine Verzehnfachung des Basiswertes (also γ_V=0.065 /h) reduziert das Populationswachstum der Räuber deutlich (im Maximum 55% der Basiswert-Simulation) und führt

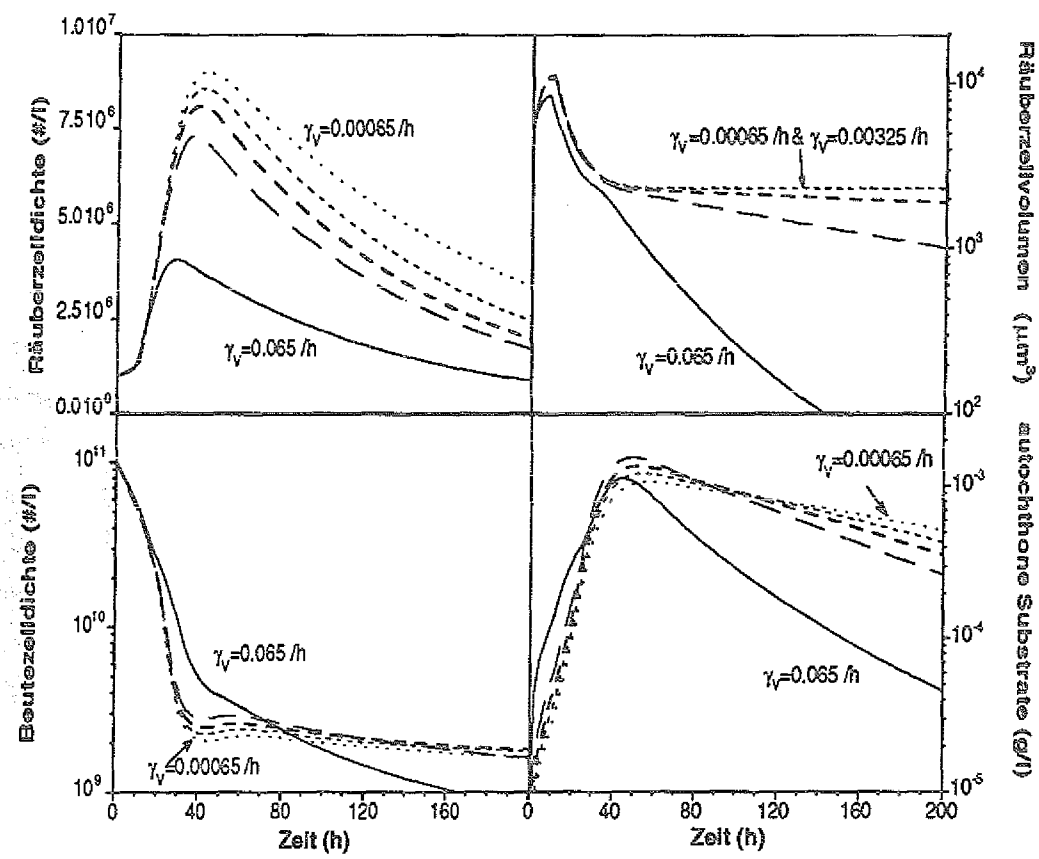


Abb. 5.18: Auswirkungen der Variationen der spezifischen Biovolumenverlustrate der Räuber (γ_V) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: γ_V=0.00065 /h; γ_V=0.0033 /h; γ_V=0.0065 /h; γ_V=0.013 /h; γ_V=0.065/h.

natürlich zu einer raschen Abnahme der Zellgröße. Die Beutepopulation wird anfangs weniger rasch dezimiert, da weniger Räuber im System sind. Die geringere Räuberdichte (vgl. Abb. 5.17) führt dazu, daß der Räubereinfluß auf die Freßrate gering bleibt und die Beutepopulation langfristig stärker dezimiert wird als in den anderen Simulationen. Hinzu kommt, daß die Ausschüttung autochthoner Substrate durch die Räuber im Wesentlichen zu Beginn der Kultivierung erfolgt und im weiteren Verlauf aufgrund des geringen Biovolumens der Räuber niedrig ist.

5.2.6 Variation der Ausbeute autochthonen Substrates

Die Variationsbreite der Substrat-Ausbeutekoeffizienten ist aus biologischen bzw. thermodynamischen Gründen im realistischen Sinne begrenzt. Ausbeuten von 100% (Substratäquivalenz) sind nicht möglich. Für den maximalen Fall wurden hier Werte von 80% simuliert. Die untere Grenze der Variation lag bei 3%, während der Basiswert bei 30% lag.

5.2.6.1 Sustratausbeute durch Verluste der Bakterien

Die Variation des Substrat-Ausbeutekoeffizienten für Verluste der Beute (Z_p) im Rahmen von $1.2 \cdot 10^{-14}$ g/# bis $3.2 \cdot 10^{-13}$ g/# führte nur zu geringen quantitativen Veränderungen der Populationsdichten im Verlauf der Simulationen. Die Unterschiede zwischen dieser unteren und der oberen Grenze der Variation betrugen bei allen Populationen immer weniger als 2%. Auch hier zeigt sich der geringe Einfluß der Beuteverluste auf den Pool autochthoner Substrate unter diesen Systembedingungen.

5.2.6.2 Substratausbeute durch Lysis und Biovolumenverluste der Räuber

Die Variation der Substrat-Ausbeutekoeffizienten für Lysis- und Biovolumenverluste der Räuber (Z_N und Z_v) führt im Prinzip zu quantitativen Verschiebungen der Populationen (Abb. 5.19 für Z_N). Für einen Wert von Z_N=0 bzw. Z_v=0 ergibt sich für alle Variablen eine untere Grenze der Trajektorien. Dieses quantitative Niveau kann nicht mehr unterschritten werden. Je größer Z_N bzw. Z_v ist, desto höher sind die erreichten Populationsdichten. Mehr Substrat (im biologisch sinnvollen Rahmen) begünstigt das Wachstum der Beute, das wiederum durch den Fraß die Nettoverlustrate der Räuberpopulation dämpft.

Bei gleichen Parameterwerten waren die Unterschiede zwischen den Simulationen mit Variation von Z_N und Z_v nur unbedeutend.

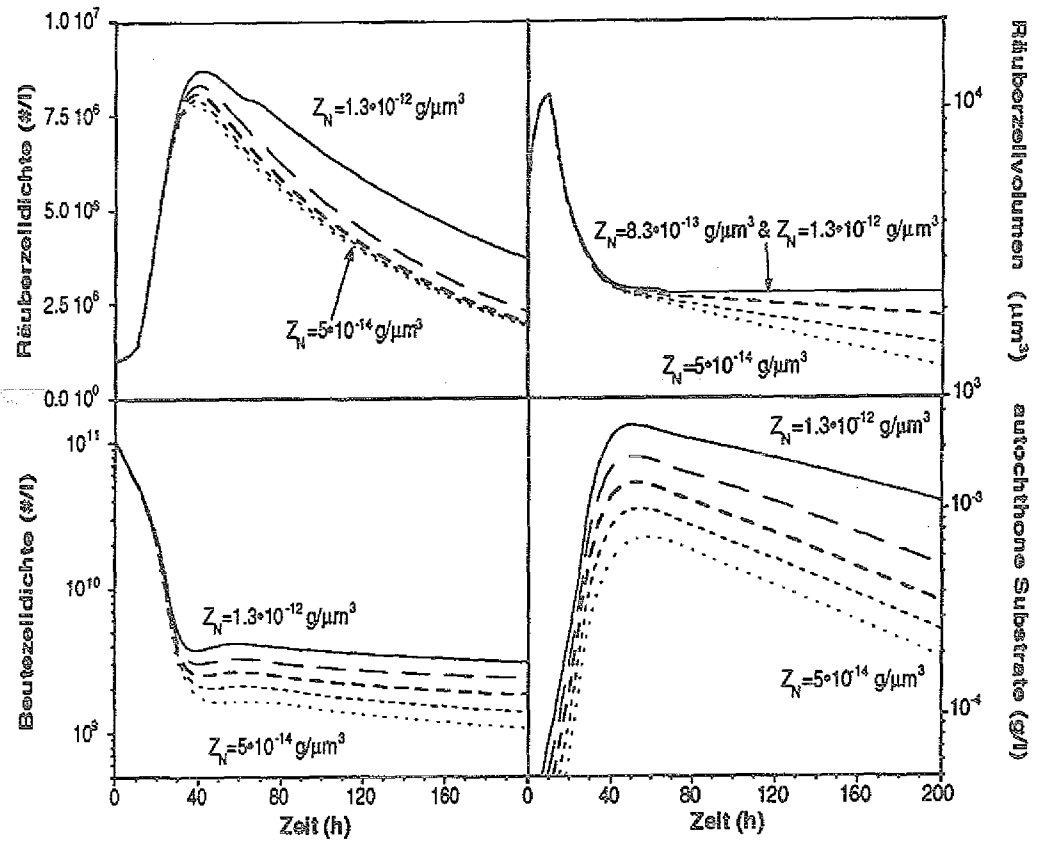


Abb. 5.19: Auswirkung der Variation des Substrat-Ausbeutekoeffizienten für Lysisverluste der Räuber (Z_N) auf die Dynamik stationärer Laborkulturen. Die Parameterwerte sind: Z_N=5•10^{-14} g/µm^3; Z_N=2.5•10^{-13} g/µm^3; Z_N=5•10^{-13} g/µm^3; Z_N= 8.3•10^{-13} g/µm^3; Z_N=1.3•10^{-12} g/µm^3.

5.3 Modellmodifikationen

5.3.1 Modellvorhersage unter Berücksichtigung einer verhaltensphysiologisch begründeten Freßkinetik

Die im Anhang E hergeleitete und bei den Kurvenanpassungen (s. 4.4, Tab. 4.3 & 4.4) eingesetzte Kinetik

$$u(b,c_N) = \frac{(u_{max} - F\,c_N)\,b^2}{L^2 + b^2}$$

begründet sich auf verhaltensphysiologischen Annahmen zur Freßaktivität der Räuber. Ihr Nachteil ist, daß sie für $F \cdot c_N > u_{max}$ negative Werte annehmen kann und daher auf $u(b,c_N) \geq 0$ beschränkt werden muß, um biologisch sinnvoll zu sein. Mit dieser Kinetik konnten jedoch gute Anpassungen an die Meßdaten gefunden werden (s. 4.4). Im folgenden wird daher untersucht, ob und wo sich Unterschiede zu der zuvor untersuchten Alternative

$$u(b,c_N) = \frac{u_{max}\;b^2}{L^2 + (F\,c_N)^2 + b^2}$$

ergeben. Die Simulationen wurden mit einer Modifikation des skalierten Gleichungssystems durchgeführt (s. Anhang F). Die Parametervariationen wurden in Analogie zu Kapitel 5.2 getestet.

Bei den meisten Sensitivitätstests mit dieser Kinetik ergaben sich nur geringe Unterschiede zu den Ergebnissen der vorherigen Analyse. Einige Auswirkungen resultieren daraus, daß die angepaßten Parameter dieser Funktion (s. Tab 4.3 & 4.4) einen steileren Übergang zu niedrigen Freßraten festlegen. In den Simulationen erzeugt das einen zeitlich schärferen Übergang von abfallender zu persistierender Beutedichte (vgl. Abb. 5.20 und 5.2).

Bei hohen Räuberdichten ergeben sich jedoch deutliche Unterschiede im Systemverhalten zu den Simulationen in Kapitel 5.2. Dies sei am Beispiel der Variation der Anfangsbeutedichte dargestellt. Sie legt ebenfalls die maximal erreichbare Räuberdichte des Systems fest. Abbildung 5.20 zeigt das Ergebnis einiger Simulationen.

Bei Erreichen hoher Räuberdichten wird die spezifische Freßrate 0. Da durch die Verluste der Räuber viele autochthone Substrate freigesetzt werden, kann die Beutepopulation zunächst stark anwachsen und wird nach Absinken der Räuberdichte und der damit verbundenen Erhöhung der spezifischen Freßrate erneut dezimiert.

Daneben zeigen insbesondere die Variationen der kinetischen Konstanten L_1 und F_1 für die Freßkinetik bei niedrigen Beutedichten und L_2 für die Freßkinetik bei hohen Beutedichten deutliche Unterschiede im Vergleich zu den Simulationen in Kapitel 5.2.

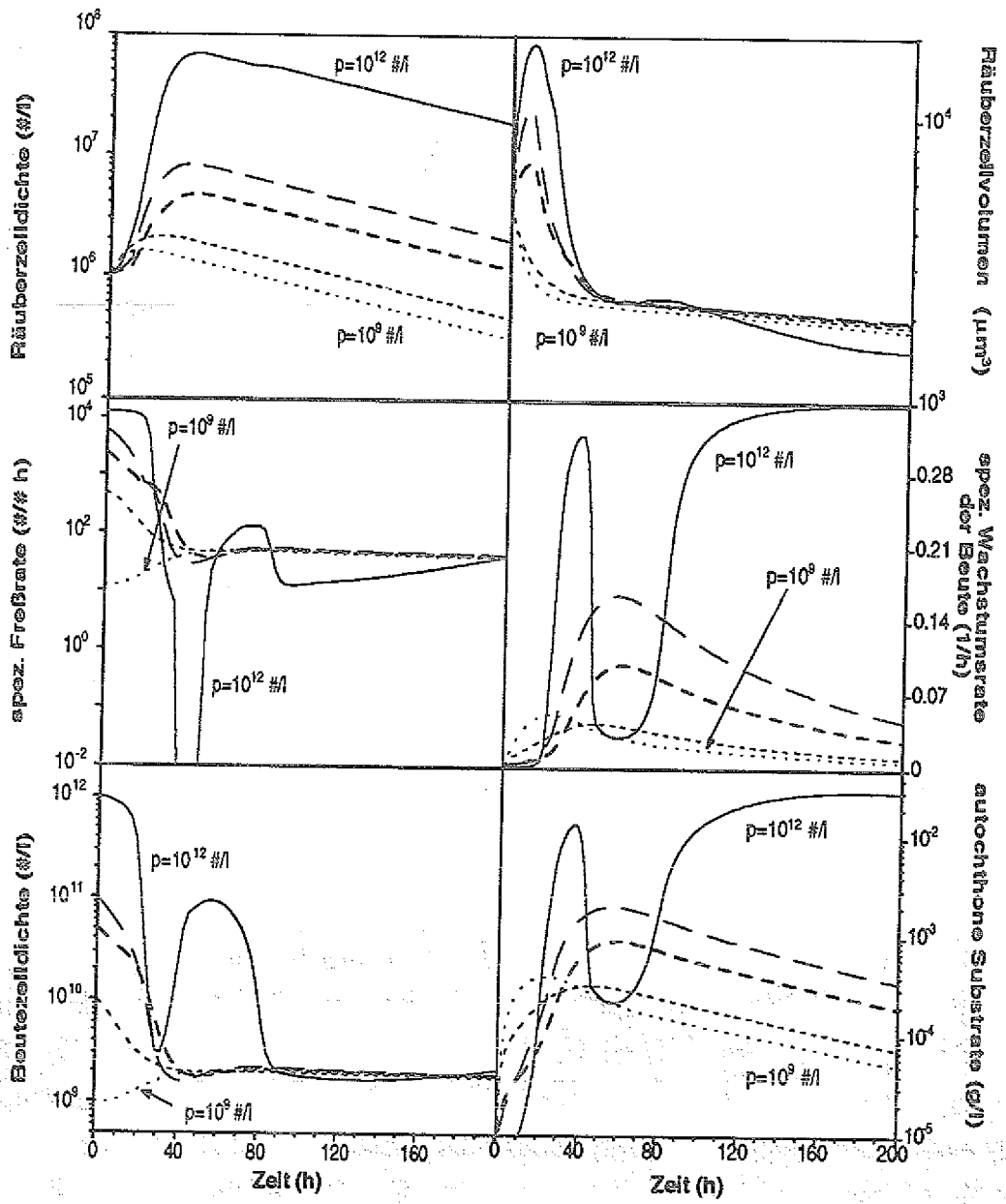


Abb. 5.20: Auswirkung der Variation der Startbeutezelldichte bei einem Modell, das die verhaltensphysiologische Freßkinetik berücksichtigt. Parametervariationen wie in Abb. 5.2 (vgl. Abb. 5.1).

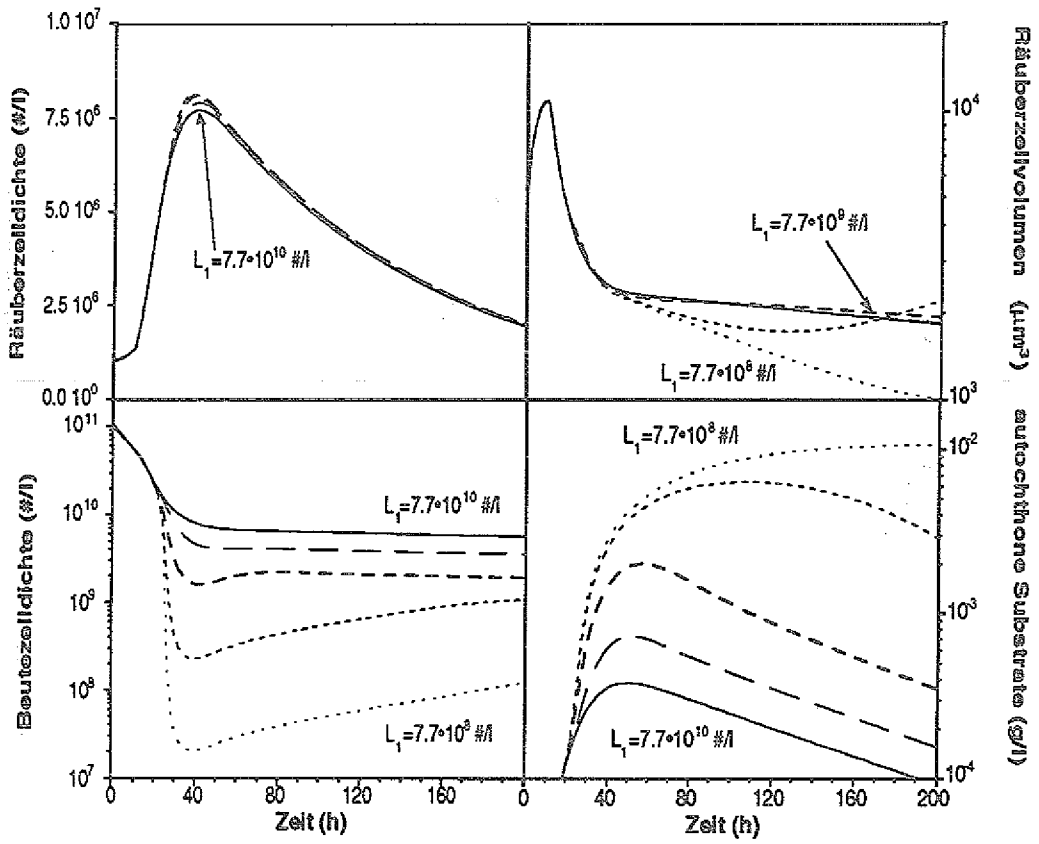


Abb. 5.21: Auswirkung der Variation von L_1 bei einem Modell, das die verhaltensphysiologische Freßkinetik berücksichtigt.

Bei Verminderung von L_1 (s. Abb. 5.21) wird das Minimum (bei ca. 40 h) der Beutepopulation verstärkt. Bei $L_1=7.7\cdot10^8$ #/l (Basiswert $L_1=7.7\cdot10^9$ #/l) sinkt die Beutedichte unter $2\cdot10^7$ #/l ab (zum Vergleich: Der Wert für die Simulation in Abschnitt 5.2.4.1 lag bei ca. $2\cdot10^9$ #/l). Das anschließende starke Anwachsen der Beutepopulation erzeugt eine zweite Zunahme des Zellvolumens der Räuber.

Die Verstärkung des Räubereinflusses auf die Freßkinetik für niedrige Beutedichten zeigt insbesondere in der Dynamik der Beutepopulation und der autochthonen Substrate Effekte, die in Abbildung 5.22 dargestellt sind.

Die Effekte einer Variation der Halbsättigungskonstanten (L_2) für die Freßkinetik bei hohen Beutedichten gleicht weitgehend den Ergebnissen in Kapitel 5.2.4.2 (s. Abb. 5.23). Lediglich für den niedrigsten L_2-Wert ergibt sich ein deutlicher Unterschied, da auch bei niedrigen Beutedichten noch gilt, daß die spezifische Freßrate u_2 größer als die spezifische Freßrate u_1 ist (s. 5.1; Anhang F.1).

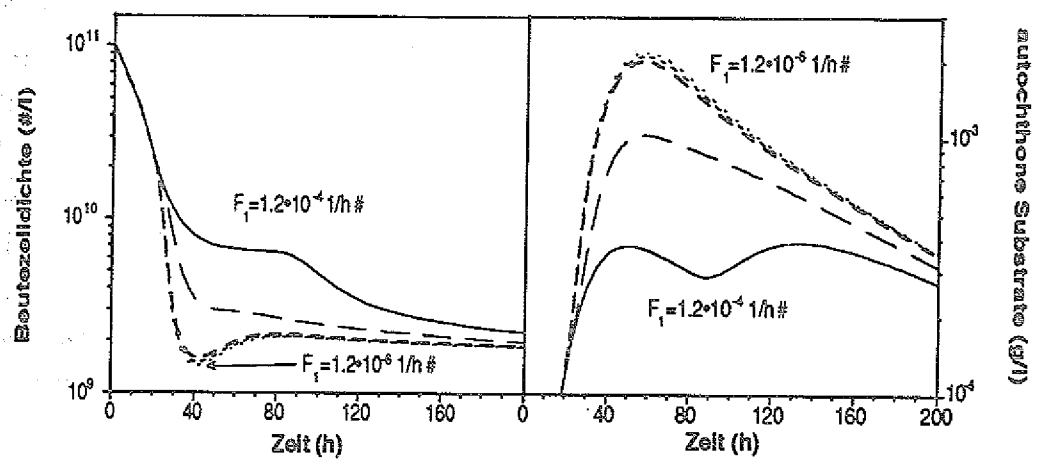


Abb. 5.22: Auswirkung der Variation von F_1 bei einem Modell, das die verhaltensphysiologische Freßkinetik berücksichtigt. (Zelldichte und Zellvolumina der Räuber wurden im simulierten Zeitraum nicht wesentlich beeinflußt.)

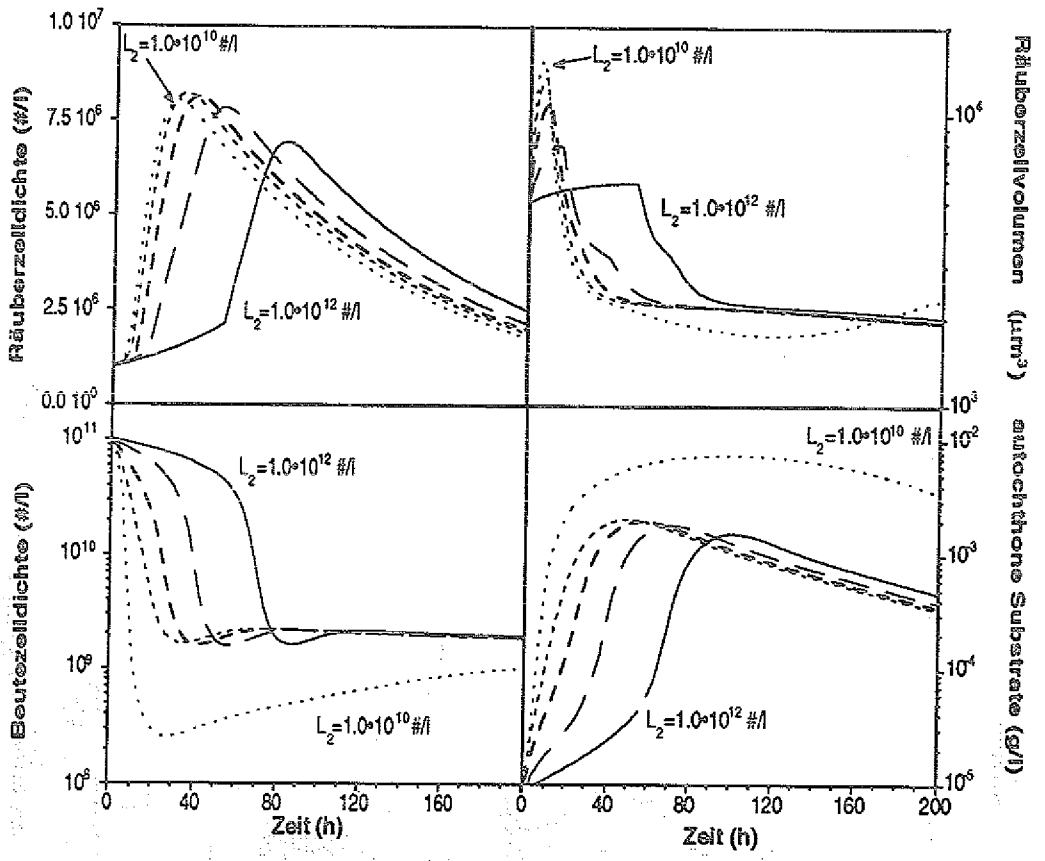


Abb. 5.23: Auswirkung der Variation von L_2 bei einem Modell, das die verhaltensphysiologische Freßkinetik berücksichtigt.

5.3.2 Modellvorhersage unter Berücksichtigung einer fraßgekoppelten Substratfreisetzung

Im Modell, das in Kapitel 5.2 untersucht wurde, wurde die Freisetzung autochthoner Substrate an die Verluste der Organismen gekoppelt. Ähnlich wie für die Bakterien (s. 3.6.2) ist jedoch auch eine Substratfreisetzung in direkter Kopplung an die Freßaktivität der Protozoen möglich (Ausscheidung unverdauter Nahrungsreste, "sloppy feeding"). Da für *Tetrahymena* Biomasseausbeuten von 50% bis 75% beim Wachstum auf Bakterien dokumentiert wurden (CURDS & COCKBURN, 1968, 1971) und die Räuberzellen aus den übrigen 50% bis 25 % Nahrungsbiomasse ihre Stoffwechselenergie beziehen müssen, ist zunächst anzunehmen, daß nicht über 10% der aufgenommenen Beutebiomasse wieder exkretiert werden. Von der exkretierten Nahrung ist nur ein Teil als autochthones Substrat wieder verfügbar; hierfür seien als Grundlage (analog den Betrachtungen unter 5.1.2) zunächst 30% angenommen. Das ursprüngliche Modell (s. 5.1.1) wurde wie folgt modifiziert:

In Gleichung 5.4 ist der aus den Verlusten der Organismen definierte Term für den Substrateintrag durch $Z_f \cdot \alpha \cdot u_{(p,c_N)}$ zu ersetzen. Dabei ist $Z_f = Z_p = 1.2 \cdot 10^{-13}$ g/#, $\alpha = 0.1$ und $u_{(p,c_N)}$ die jeweils gültige Freßkinetik. Für die Simulationen wurden sonst die Gleichungen 5.1-9 benutzt (s.a. Anhang F.3)

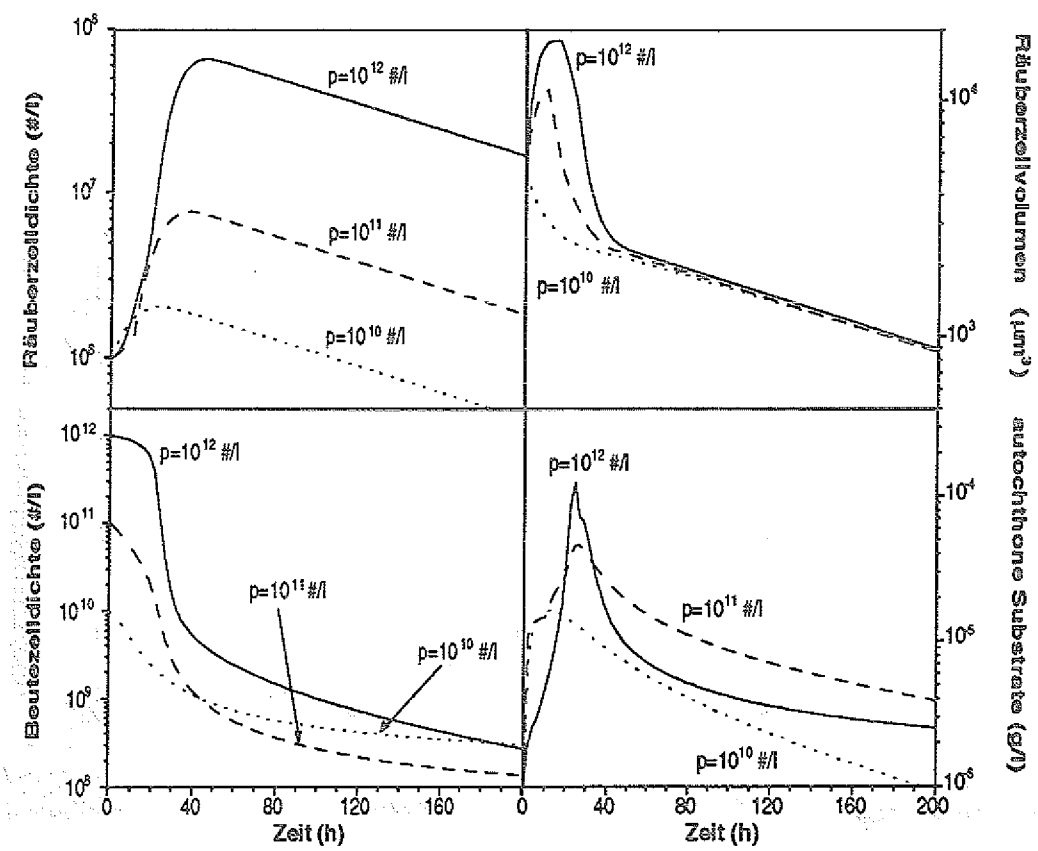


Abb. 5.24: Modellvorhersage bei Freisetzung autochthoner Substrate in direkter Kopplung an die Freßaktivität der Räuber bei drei verschiedenen Beutezelldichten zu Beginn der Kultivierung.

Abbildung 5.24 zeigt die Dynamik des Systems für drei verschiedene Beutezelldichten beim Start der Kultur. Im Vergleich zu den Simulationen mit dem Basismodell (Abb. 5.2) fallen insbesondere die abweichenden Vorhersagen für die Beutedichte und Konzentration autochthoner Substrate auf. Unter den hier gewählten Bedingungen werden weniger autochthone Substrate freigesetzt als durch Verluste der Organismen und daraus folgen geringere Bakteriendichten in den Kulturen. Der Verlauf der Konzentrationskurven zeichnet den Verlauf der Freßrate ($u(p,c_N) \cdot c_N$) nach. Die abrupten Sprünge der Substratkonzentration ergeben sich durch das Umschalten zwischen den verschiedenen Freß- und Teilungskinetiken.

Das Wachstum der Bakterien auf autochthonen Substraten in den Versuchskulturen, die mit einer Dichte von ca. 10^{12} #/l gestartet wurden (s. 3.5; 4.1), läßt darauf schließen, daß mehr als 0.001 g/l Substrate vorlagen. Dies deckt sich nicht mit der Simulation für diese Modellmodifikation. Nimmt man an, daß größere Anteile der Nahrung wieder exkretiert werden oder, was in diesem Fall gleichbedeutend ist, daß die teilweise angedaute Nahrung mehr autochthone Substrate freisetzt, wären für Z_f, α doppelt bis dreimal so hohe Werte denkbar. Simulationen zu dieser Annahme ergeben jedoch ebenfalls keine befriedigende Vorhersage in bezug auf die Konzentration der verwertbaren Substrate im Vergleich zu den Ergebnissen der Simulationen unter 5.2 und den Versuchen (Abb. 5.25, vgl. Abb. 3.9 und 4.2-6).

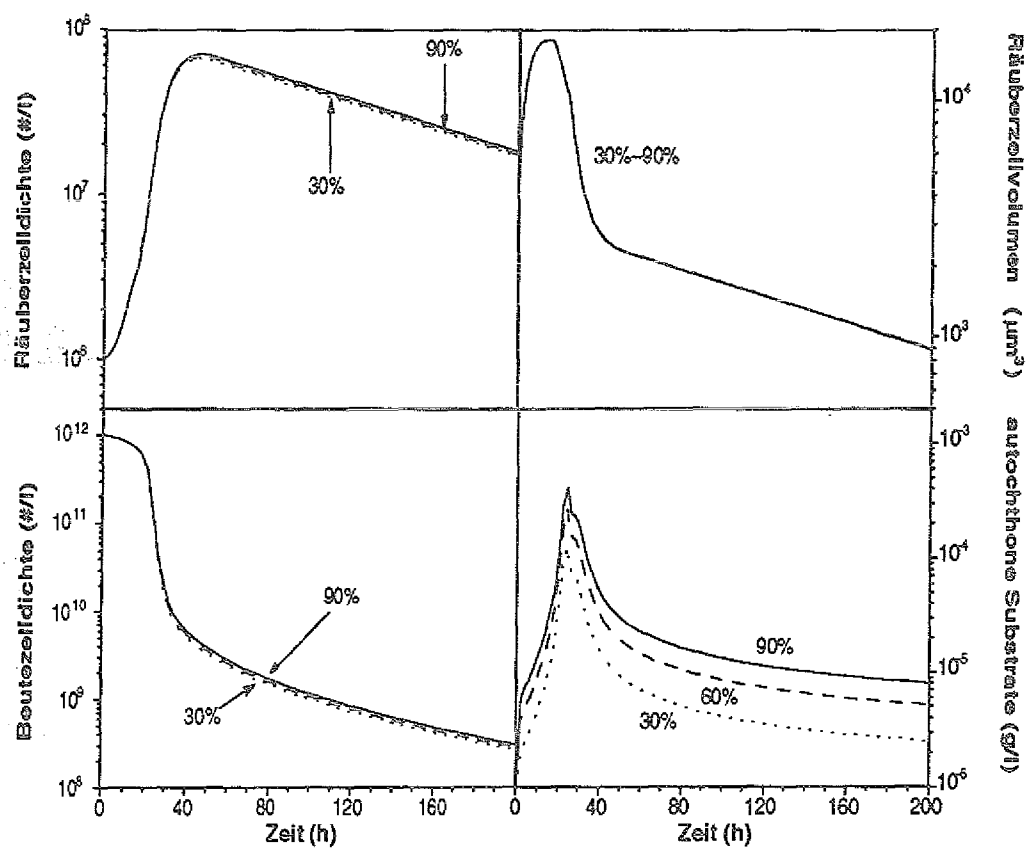


Abb. 5.25: Modellvorhersage bei Freisetzung autochthoner Substrate in direkter Kopplung an die Freßaktivität der Räuber bei drei verschiedenen Freisetzungsanteilen.

Eine Untersuchung zeitverzögerter Freisetzung autochthoner Substrate (mit $Z_f = 1.2 \cdot 10^{-13}$ g/#, $\alpha = 0.1$) aufgrund der Dauer des Digestitionszyklus der Nahrungsvakuolen von ca. 2 h in den Räuberzellen (NILSSON, 1976) erbrachte keine deutlichen Änderungen der Ergebnisse. Lediglich bei Zeitverzögerungen von mehr als 10 h konnten vorübergehend Substratkonzentrationen über 0.001 g/l vorhergesagt werden (s. Abb. 5.26). Diese Zeitspanne deutet dann aber darauf hin, daß die Zeitverzögerung in einem extrazellulären Pool refraktärer Substrate begründet ist; d.h. die exkretierten Stoffe sind nicht unmittelbar von den Beutebakterien zu verwerten. Natürlich läßt sich ein refraktärer Substratpool (Partikel) auch für Stoffe fordern, die durch Verluste der Zellen entstehen, und ist nicht notwendigerweise direkt an die Freßaktivität gekoppelt. Es ist festzustellen, daß für die Erklärung der experimentellen Ergebnisse die Annahme notwendig ist, daß der Pool autochthoner Substrate durch Verluste der Organismenbiomasse aufgefüllt wird.

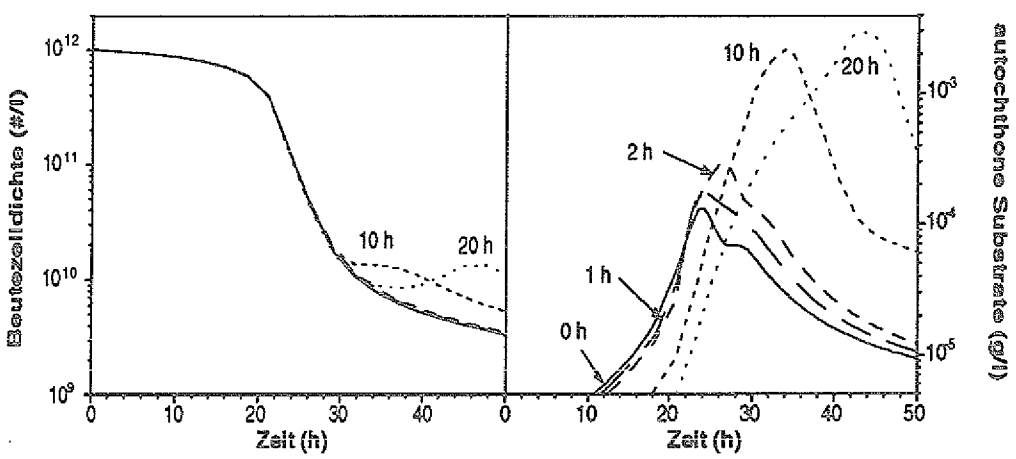


Abb. 5.26: Modellvorhersage zur Freisetzung autochthoner Substrate in direkter Kopplung an die Freßaktivität der Räuber und bei verschiedenen Zeitverzögerungen zwischen Nahrungsaufnahme und Substratfreisetzung. (Zelldichte und Zellgröße der Räuber werden im simulierten Zeitraum nicht erkennbar beeinflußt).

5.4 Vergleich von Modellvorhersagen und Batch-Experimenten

Im Rahmen dieses Abschnitts soll die Vorhersage des Basismodells (s. 5.1) mit den tatsächlichen Versuchsergebnissen (s. 4.4) verglichen werden. Modifikationen wurden nicht eingebracht, da nach Kapitel 5.3 entweder keine deutlichen Änderungen zu erwarten sind (5.3.1) oder die zu erwartenden Änderungen offensichtlich nicht mit den experimentellen Befunden übereinstimmen (s. 5.3.2).

Die experimentelle Serie aus Kapitel 4.4 entsprach einer Variation der Startbeutedichte. Analog den Experimenten wurden Simulationen durchgeführt. Beide werden in den Abbildungen 5.27 bis 5.30 miteinander verglichen. Der DOC wurde nicht angegeben, da keine direkte Korrelation zu den autochthonen Substraten gegeben ist.

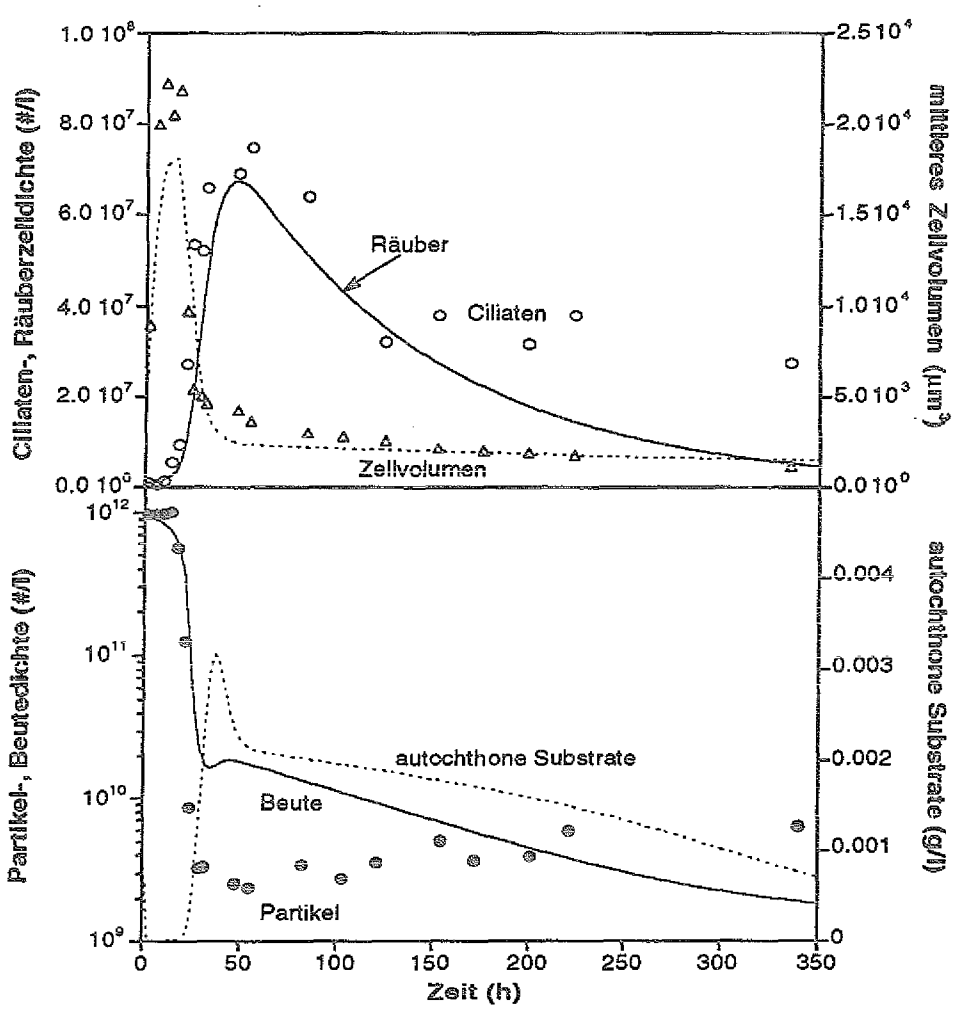


Abb. 5.27: Vergleich von Experiment und Simulation einer Batch-Kultur von *Tetrahymena thermophila* (Räuber) und *E.coli* (Beute), die als bakteriengroße Partikel gemessen wurden. Startzelldichte der Bakterien ca. 10^{12} #/l, der Räuber ca. 10^{6} #/l.

Qualitativ entsprechen die Simulationsergebnisse weitgehend den experimentellen Resultaten. Die Beutedichte sinkt in keinem Fall in einen Bereich, in dem ein zufälliges Ausrotten möglich wäre. Für einige Versuchsbedingungen und Versuchsparameter muß das Simulationsergebnis sogar als quantitativ richtig eingestuft werden (s. Abb. 5.29), ohne daß die Parameterwerte des Modells diesen Versuchsbedingungen gesondert angepaßt wurden. Damit ist die Möglichkeit gegeben, aus den Differenzen zwischen Experiment und Simulation eine eingegrenzte Betrachtung der Ursachen dieser Unterschiede durchzuführen.

Zwei generelle Differenzen zwischen Simulation und Experiment sind auffällig:

- Die Zeitskalen von Experiment und Simulation sind meist gegeneinander verschoben (z.B. Abb. 5.30).
- Die Verluste und Ausbeute der Ciliaten-/Räuberpopulation sind teilweise falsch geschätzt.

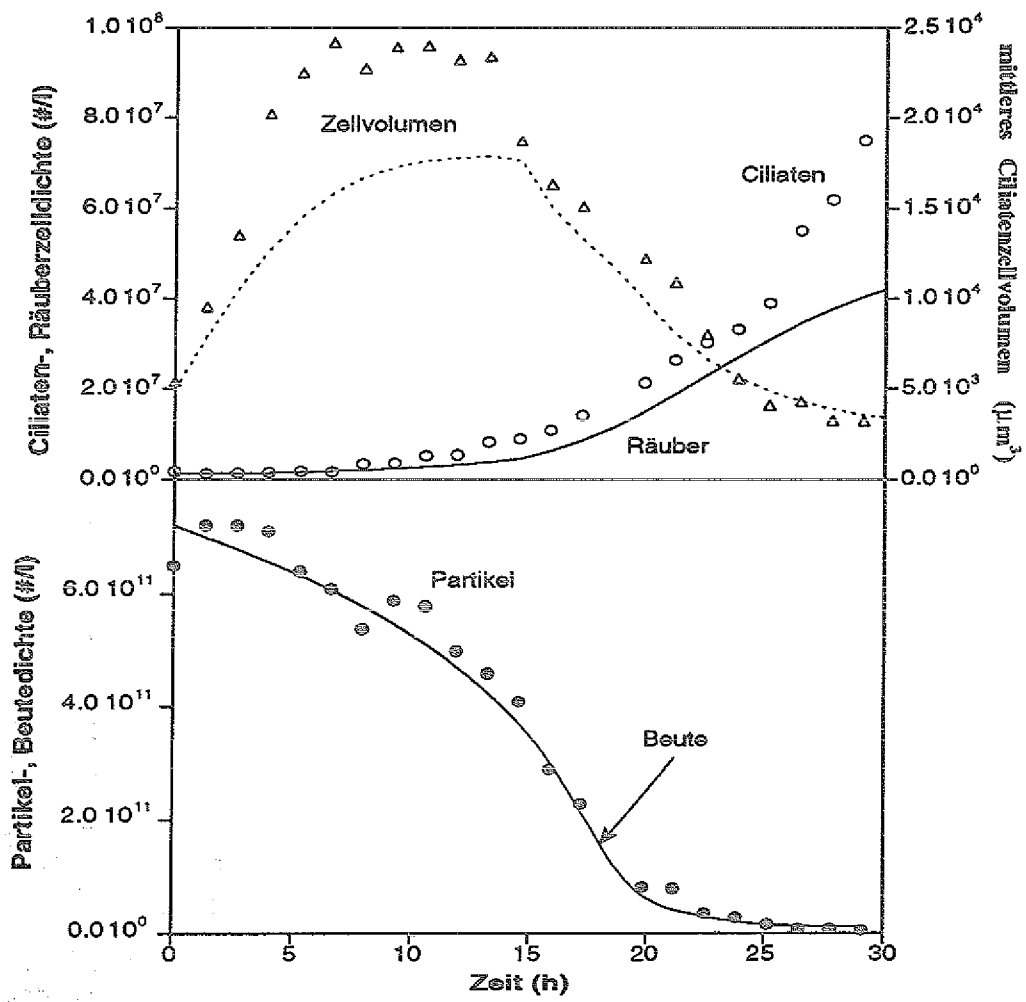


Abb. 5.28: Vergleich von Experiment und Simulation einer Batch-Kultur von *Tetrahymena thermophila* (Räuber) und *E.coli* (Beute). Startzelldichte der Bakterien $7 \cdot 10^{11}$ / l, der Räuber ca. 10^6 #/l; Kurzzeitkultur.

Die zeitliche Verschiebung resultiert einerseits daraus, daß lag-Phasen, die auf physiologischer oder Störungsadaptation der Zellen beruhen, in diesem Modell nicht erfaßt sind (s. Abb. 5.30 & 5.31). Andernteils führt die Modellstruktur bzw. die Parameterisierung dazu, daß einige Vorgänge in der Simulation nicht zeitgleich zum Experiment ablaufen. So überschreitet in Abbildung 5.29 das mittlere Ciliatenzellvolumen im Experiment sein Maximum einige Stunden früher als in der Simulation. Das Überschreiten des Maximums korreliert im Experiment mit der Erhöhung der Teilungsrate. Im Modell ist das Umschalten zwischen den beiden Teilungskinetiken für die "shift up" Situation (s. 5.1.1, 4.3) ebenfalls an das Überschreiten des Zellvolumenmaximums gekoppelt. Da dies hier jedoch später geschieht als beim realen Versuch, verschieben sich die Zeitskalen von Simulation und Experiment.

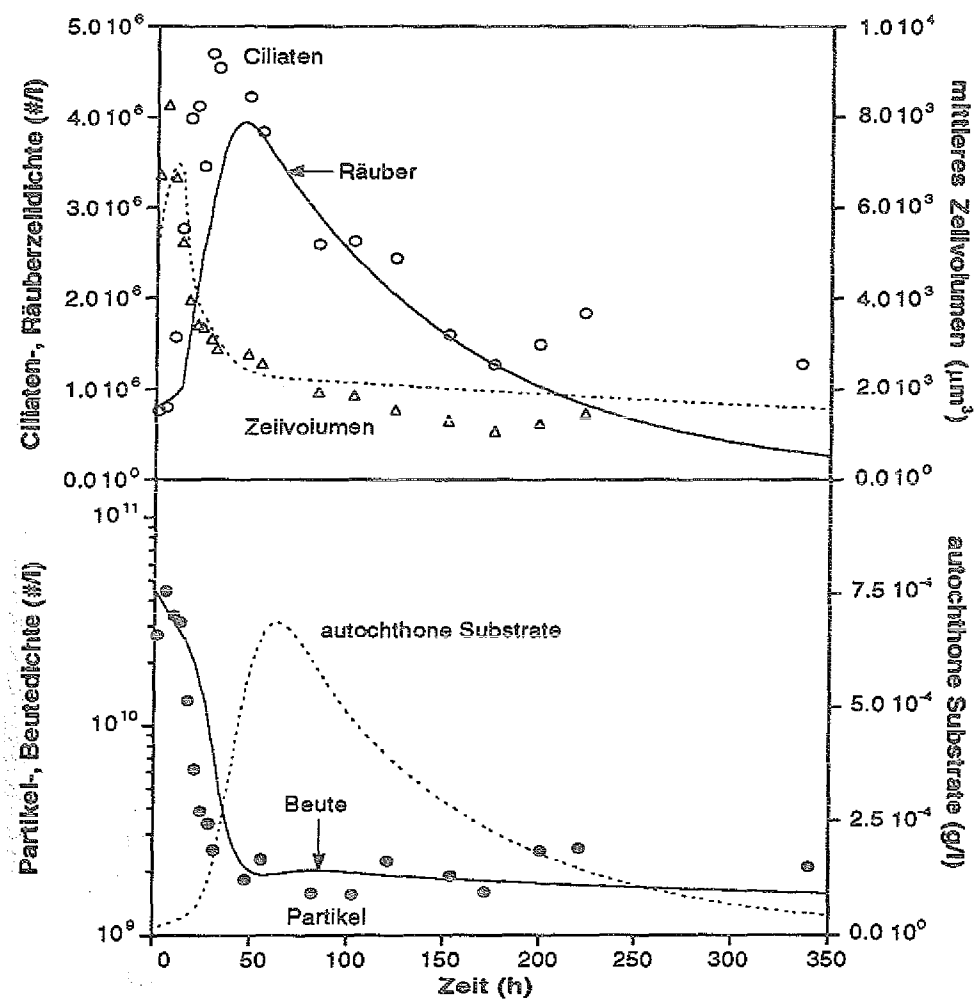


Abb. 5.29: Vergleich von Experiment und Simulation einer Batch-Kultur von *Tetrahymena thermophila* (Räuber) und *E.coli* (Beute). Startzelldichte der Bakterien $4.5 \cdot 10^{10}$ #/ l, der Räuber ca. $8 \cdot 10^{5}$ #/l.

Bei langfristiger Kultivierung (>150 h) zeigt sich für alle Kulturen, daß die Lysisrate der Ciliaten überschätzt und die endogene Verlustrate (s. Zellvolumen) unterschätzt wurde. Tatsächlich persistieren (bis zur Nachweisgrenze) mehr, aber kleinere Ciliaten als vom Modell vorhergesagt. Zwischenzeitlich, direkt nach Überschreiten der maximalen Zelldichte, gibt das Modell das Absterbeverhalten der Ciliatenpopulation jedoch recht genau wieder. Dies kann bedeuten,

- daß die Netto-Teilungsrate nicht wie im Modell angenommen auf 0 sinkt,
- daß die Ciliaten ihre Verlustrate physiologisch an geänderte Kulturbedingungen anpassen und ihren Metabolismus optimieren.

Die Festlegung der Biovolumenausbeute der Ciliaten (Y_v) als Modellkonstante wirkt sich negativ bei hohen Start-Beutedichten aus, denn nach den experimentellen Ergebnissen (s. 4.1, 5.1.2) ist in dieser Situation Y_v unterschätzt worden. Die Prognosen der Zellvolumina und Zelldichten der Ciliaten liegen deshalb unter den experimentellen Befunden. (Die Problematik

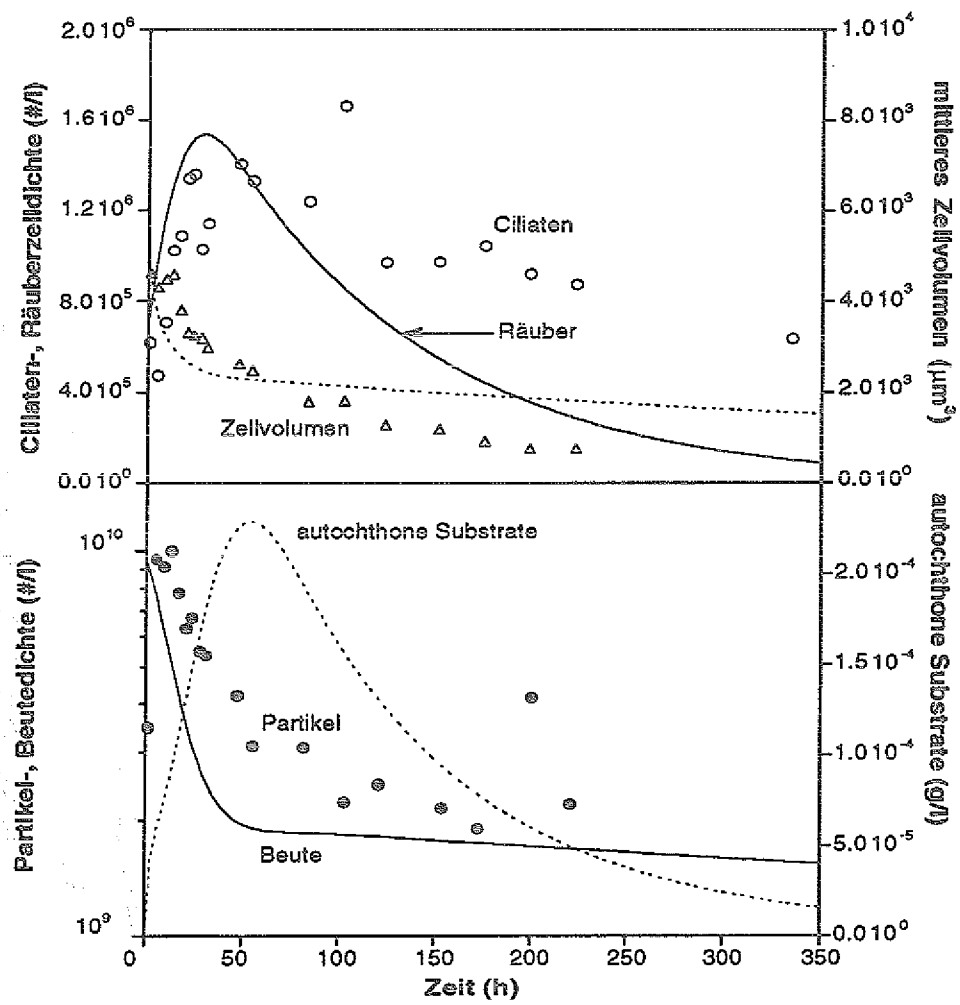


Abb. 5.30: Vergleich von Experiment und Simulation einer Batch-Kultur von *Tetrahymena thermophila* (Räuber) und *E.coli* (Beute). Startzelldichte der Bakterien $9.5 \cdot 10^9$ #/l, der Räuber ca. $6 \cdot 10^5$ #/l.

der Definition dieses Ausbeutekoeffizienten wurde bereits in Kapitel 4.1 angesprochen. Die Sensitivitätsanalyse (5.2.4.3) zeigte aber, daß mit dem experimentell ermittelten Wertebereich (0.16-0.31 μm^3) keine qualitativen Veränderungen der Modellvorhersage zu erwarten sind.)

Das Modell unterschätzt zudem die tatsächliche spezifische Freßrate, wenn hohe Räuberdichten und Beutedichten im Bereich von 10^{10}-$2 \cdot 10^{10}$ #/l vorliegen (vgl. Abb. 4.17). So wird in Abbildung 5.27 im Zeitraum zwischen 30 h und 150 h eine zu hohe Beutedichte vorhergesagt. Für geringe Beutedichten (Abb. 5.31) ist die vorhergesagte Dynamik nur noch partiell mit den Versuchsergebnissen übereinstimmend. Es waren jedoch auch die Meßgrenzen erreicht. Die Dynamik der Ciliatenzelldichte ist aufgrund der Streuung der Meßwerte kaum zu erkennen.

Die Dynamik der autochthonen Substrate kann nicht auf der Grundlage der DOC-Werte beurteilt werden, da ja nur ein Teil dieses DOC tatsächlich für die Organismen verwertbar ist. Zumindest für Kulturen, die mit hohen Beutedichten gestartet wurden, liegen die Vorhersagen

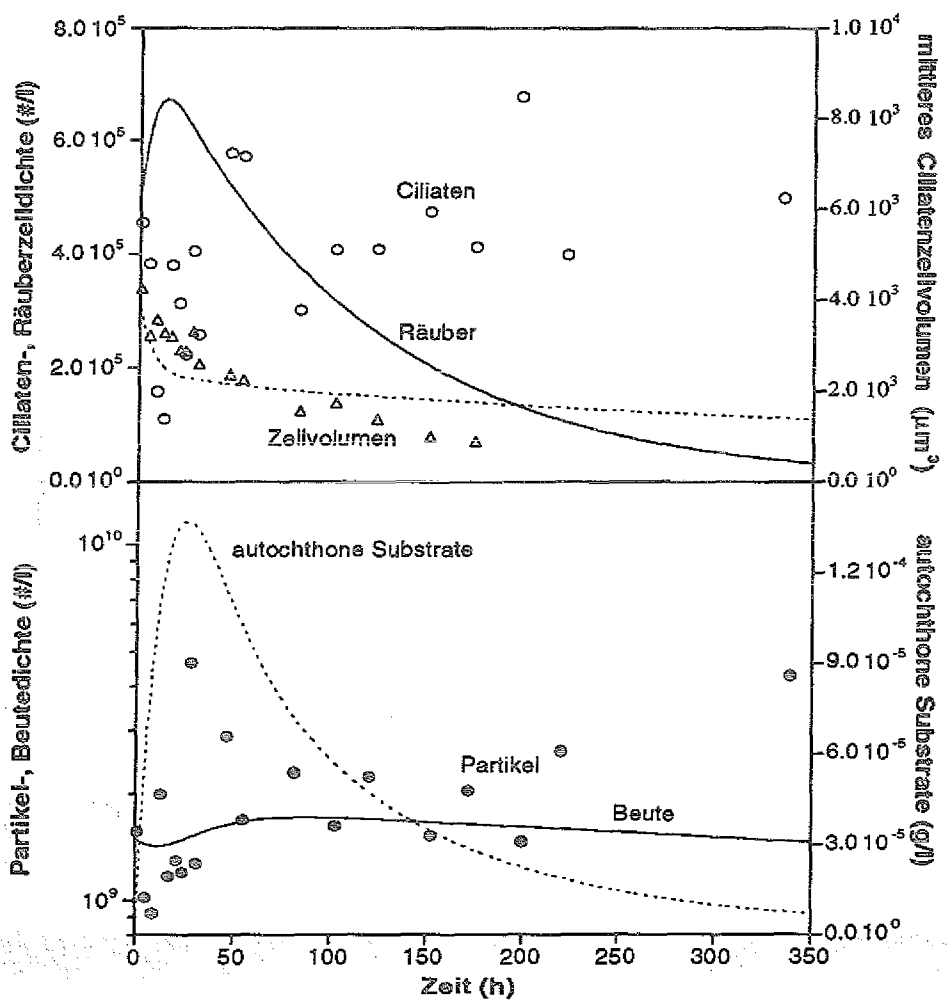


Abb. 5.31: Vergleich von Experiment und Simulation einer Batch-Kultur von *Tetrahymena thermophila* (Räuber) und *E.coli* (Beute). Startzelldichte der Bakterien $1.5 \cdot 10^9$ #/l, der Räuber ca. $5 \cdot 10^5$ #/l.

der Konzentration autochthoner Substrate in dem Bereich, der aus den Experimenten geschlossen werden kann (s. 3.5).

Geringe Modifikationen des Modells ergeben eine verbesserte Übereinstimmung von Simulation und Meßergebnissen: Für eine Kultur, die mit hohen Beutedichten gestartet wurde (vgl. Abb. 4.2, 5.27), verdeutlicht Abbildung 5.32 die Auswirkung einer Erhöhung der Biovolumenausbeute (auf Y_V=0.28 $\mu m^3/\#$ statt 0.24$\mu m^3/\#$), einer Verminderung des Räubereinflusses auf die Freßkinetik (F_1=370 statt F_1=1022; s. Formel 5.5) und der Verringerung der spezifischen Lysisrate (γ_N) von 0.009 /h auf 0.001 /h bei 106 h Versuchsdauer. Diese Modifikationen verringern nicht nur die Verluste der Ciliatenpopulation, sondern auch die Verlustrate der Bakterienpopulation um ca. 25% (im Bereich von $t_{(p=7.8 \cdot 10^9/l)}$ bis t=350 h; vgl. Abb. 5.27 ohne Modifikation).

Zusammenfassen sei festgestellt, daß bereits das Basismodell gute Vorhersagen für die Dynamik stationärer Laborkulturen trifft. Für bestimmte Bedingungen ergeben sich zwischen den Simulationen und Versuchsergebnissen Diskrepanzen, die auf der Annahme konstanter spezifischer Lysisraten und Ausbeutekoeffizienten der Räuber und auf Ungenauigkeiten des Modells der Freßkinetik beruhen. In Kapitel 6.1.3 und 6.2 werden Modelle und Vorhersageeigenschaften diskutiert.

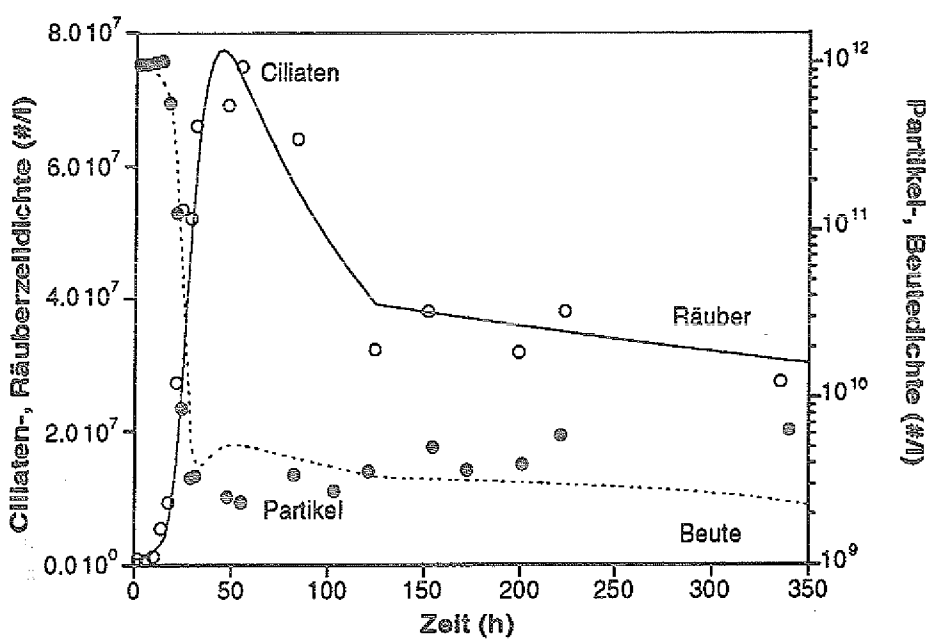


Abb. 5.32: Vergleich von Experiment und Simulation einer Batch-Kultur von *Tetrahymena thermophila* (Räuber) und *E.coli* (Beute). Startzelldichte der Bakterien 10^{12} / l. Im Gegensatz zu Abb. 5.27 wurde in der Simulation der Räubereinfluß auf die Freßkinetik vermindert und bei t=120 h die spezifische Lysisrate der Räuber reduziert (s.Text).

5.5 Ein Modell zur Beschreibung einstufiger Chemostatenkulturen

Die bisher diskutierten Experimente und Modelle betrafen stationäre Laborkulturen mikrobieller Räuber-Beute-Systeme. Wie in der Einleitung vorgestellt, wurden jedoch von anderen Arbeitsgruppen auch Versuchsergebnisse mit kontinuierlichen Chemostatenkulturen erzielt und modelliert (s. 1.3.3 & 1.4). In diesem Kapitel soll dargestellt werden, wie weit das erweiterte Basismodell experimentelle Beobachtungen an Chemostatenkulturen beschreiben kann. Da hierzu keine eigenen Experimente unternommen wurden, können an dieser Stelle nur die Modellvorhersagen im Vergleich zu Literaturangaben beschrieben werden.

5.5.1 Modifikation des Basismodells zur Simulation einstufiger Chemostatenkulturen

Einer einstufigen kohlenstofflimitierten Chemostatenkultur mit Ciliaten und Bakterien fließt mit konstanter Rate (D = Durchflußrate) ein allochthones Substrat (z.B. Glucose) zu. Dieser Substratzustrom gleicht unter bestimmten Betriebsbedingungen (im Idealfall werden nur D und die zufließende Substratkonzentration (s_D) eingestellt) die stofflichen und energetischen Verluste der Bakterien und über diese die der Ciliaten aus. Die Kultursuspension enthält neben den Organismen allochthone und autochthone Substrate. Sie werden ebenfalls mit der Rate *D* abgeführt.

Um ein Modell zur Beschreibung einstufiger Chemostatenkulturen zu erstellen, muß in das Gleichungssystem des Basismodels 5.1-4 ein zweites, allochthones Substrat (s_2) eingefügt werden. Somit wachsen die Beutebakterien nicht mehr auf einem autochthonen Substratpool, sondern zusätzlich auf dem allochthonen Substrat. Insbesondere für Glucose als allochthones Substrat kann nicht davon ausgegangen werden, daß beide Substratklassen identisch sind. In Kapitel 3.6.1-2 wurde verdeutlicht, daß Glucose im Rahmen der Katabolit-Repression (NEIDHARDT, 1987) die Umsetzung anderer Substrate hemmen kann. Deshalb wurden die Kinetiken für das Teilungswachstum von *E.coli* auf diesen beiden Substratklassen gemäß dem "antagonistischen Modell" formuliert (s. 3.6, Anhang D.2). Die Werte (K_i), die die Hemmwirkung des einen Substrates auf die Umsetzung des anderen festlegen, wurden willkürlich gewählt, wobei davon ausgegangen wurde, daß das allochthone Substrat eine deutlich stärkere Hemmwirkung erzielt. Also ist die Wachstumskinetik der Beute auf autochthonen Substraten

$$\mu_{1p}(s_1,s_2)=\frac{\mu_{max1p}\, s_1}{K_1 + s_1 + K_{i2}\, s_2} \qquad (5.10.1)$$

auf allochthonem Substrat

$$\mu_{2p}(s_1,s_2)=\frac{\mu_{max2p}\, s_2}{K_2 + s_2 + K_{i1}\, s_1} \qquad (5.10.2)$$

und insgesamt $\mu_p(s_1,s_2)= \mu_{1p}(s_1,s_2) + \mu_{2p}(s_1,s_2)$.

Zudem wurde gezeigt, daß bei *E.coli* wahrscheinlich mit der Umsetzung der Glucose autochthone Substrate freigesetzt werden (s. 3.1 & 3.6). Die Parameter dieser Umsetzung (s. Formel 5.14-15; α, *der Faktor, der den tatsächlichen Verbrauch an Substrat in Relation zum direkten Wachstum von E.coli auf Glucose setzt,* und β, *der Anteil, der in den autochthonen Substratpool fließt*) wurden in Anlehnung an die Betrachtungen in Kapitel 3.6.2 gewählt.

Daraus resultiert unter Berücksichtigung der Zu- und Abläufe folgendes Gleichungssystem:

$$\frac{d\,c_N}{d\,t} = \mu_N(c_V)\,c_N - (\gamma_N + D)\,c_N \tag{5.11}$$

$$\frac{d\,c_V}{d\,t} = Y_V\;u(p,c_N) - \mu_N(c_V)\,c_V - \gamma_V\,c_V \tag{5.12}$$

$$\frac{d\,p}{d\,t} = (\mu_{1p}(s_1, s_2) + \mu_{2p}(s_1, s_2))\,p - u(p,c_N)\,c_N - (\gamma_p + D)\,p \tag{5.13}$$

$$\frac{d\,s_1}{d\,t} = -\frac{1}{Y_{1p}}\mu_{1p}(s_1, s_2)\,p + (Z_N\,\gamma_N + Z_V\,\gamma_V)\,c_N\,c_V + Z_p\,\gamma_p\,p + (\alpha-1)\,\beta\frac{1}{Y_{2p}}\mu_{2p}(s_1, s_2)\,p - D\,s_1 \tag{5.14}$$

$$\frac{d\,s_2}{d\,t} = -\,\alpha\frac{1}{Y_{2p}}\mu_{2p}(s_1, s_2)\;p + D\,(s_D - s_2) \tag{5.15}$$

Ferner gilt für die spezifische Freßrate $u_{(p,c_N)}$, wenn $u_{1(p,c_N)} > u_{2(p,c_N)}$ ist

$$u(p,c_N) = u_1(p,c_N) = \frac{u_{max1}\,p^2}{L_1^2 + (F_1\,c_N)^2 + p^2} \tag{5.16.1}$$

bzw.

$$u(p,c_N) = u_2(p,c_N) = \frac{u_{max2}\,p^2}{L_2^2 + (F_2\,c_N)^2 + p^2} \tag{5.16.2}$$

wenn $u_{2(p,c_N)} > u_{1(p,c_N)}$ ist.

Für die spezifische Teilungsrate $\mu_N(c_V)$ der Protozoen gilt im Falle eines "shift up"

$$\mu_{1N}(c_V) = a_{11}\,e^{(a_{21}\,c_V)} \tag{5.17.1}$$

bis zum Erreichen der maximalen Zellgröße $\left(\frac{d\,c_V}{d\,t} > 0\right)$, danach und im Normalfall

$$\mu_{2N}(c_V) = \backslash F(a_{21}\,(c_V - c_{VO}), a_{22} + c_V - c_{VO}) \tag{5.17.2}$$

Die Werte der Parameter in Tabelle 5.1 wurden beibehalten. Tabelle 5.2 listet die Werte der neu eingeführten Parameter auf.

Die Simulationen wurden mit einem skalierten Modell durchgeführt (Anhang F.4).

Parameter	Wert	Bezeichnung
		Betriebsparameter
D	$0\ h^{-1}$ - $0.4\ h^{-1}$	Durchflußrate
s_D	0 g/l - 0.5 g/l	Substratkonzentration im Zulauf
		Teilungswachstum der Beute
K_{i1}	0.01	Hemmfaktor für die Wirkung des autochthonen (s_1) auf die Umsetzung des allochthonen Substrates (s_2)
μ_{max2p}	$0.342\ h^{-1}$	maximale spezifische Teilungsrate der Beute für das Wachstum auf allochthonem Substrat
K_2	0.0002 g/l	Halbsättigungskonstante der Wachstumskinetik der Beute für Teilungswachstum auf allochthonem Substrat
K_{i2}	0.1	Hemmfaktor für die Wirkung des allochthonen (s_2) auf die Umsetzung des autochthonen Substrates (s_1)
Y_{2p}	$2.5 \cdot 10^{12}$ #/l	Zellzahlausbeutekoeffizient für die Beute beim Wachstum auf allochthonem Substrat
		Input autochthonen Substrates
α	1.3	Faktor, der den tatsächlichen Verbrauch an allochthonem Substrat in Relation zum direkten Wachstum der Beute setzt
β	0.7	Anteil des allochthonen Substrates, der durch Einwirkung der Beute direkt in den autochthonen Substratpool fließt

Tab 5.2: Zusätzliche Parameter und ihre Werte zum Modell der einstufigen Chemostatenkultur. Weitere Parameter s. 5.1.2, Tab. 5.1.

5.5.2 Vorhersagen für einstufige Chemostatenkulturen

Um einen ersten Vergleich zwischen den Vorhersagen und dokumentierten experimentellen Ergebnissen an einstufigen Chemostatenkulturen mit mikrobiellen Räuber-Beute-Systemen zu ermöglichen, wurden die in der Einleitung dargestellten Bedingungen (s. 1.2.3.3) durch Simulationen nachvollzogen. Im folgenden werden nur die Systemzustände betrachtet, die ein Koexistenzgleichgewicht ermöglichen. Das Auswaschen der Räuber und schließlich der Beutepopulation ergibt sich jeweils zwangsläufig, wenn die Auswaschrate (D) die Nettowachstumsraten der Organismen übersteigt (s. z.B. JOST *et al.*, 1973 a).

Für Bedingungen unter denen Räuber und Beute im System koexistieren, sagt das Modell generell so hohe Beutedichten vorher, daß ein zufälliges Aussterben der Beutepopulation unmöglich ist.

Bei Verringerung der Durchflußrate und konstanter Substratkonzentration im Zulauf gehen beständige Oszillationen in den Populationen (Grenzzyklen) in gedämpfte Schwingungen und schließlich in einen stabilen Fokus über (s. Abb. 5.33-36). Dies entspricht den experimentellen Resultaten anderer Arbeitsgruppen (DRAKE & TSUCHIYA, 1976; JOST *et al.*, 1973 a). Bei sehr niedrigen Durchflußraten (Abb. 5.35, D=0.001/h), für die aber keine experimentellen Vergleiche vorliegen, wird eine niedrige Gleichgewichtskonzentration des allochthonen Substrates im Reaktor vorhergesagt (s.a. 6.1.3). In einem "mittleren" Bereich der Durchflußrate treten dann hohe Konzentrationen des allochthonen Substrates auf (Abb. 5.35, D=0.05/h), wie es auch dokumentiert wurde. Bei hohen Durchflußraten (D=0.15/h; Abb. 5.33) oszilliert die Konzentration des allochthonen Substrates entsprechend den Erwartungen (DRAKE & TSUCHIYA, 1976). Es sei angemerkt, daß die Form der Schwingungsamplituden nicht denen entspricht, die DRAKE & TSUCHIYA mit *Colpoda* und *E.coli* erhalten haben, sondern etwa eine Spiegelung darstellen. Dies kann in anderen Parameterwerten der Freß- und Wachstumskinetik begründet liegen, zumal sie mit anderen Stämmen bzw. Arten arbeiteten.

Vermindert man bei gegebener Durchflußrate die Zulaufkonzentration des Substrates, so vermindert sich die Schwingungsamplitude (im wesentlichen die Maxima) bzw. die Dämpfung nimmt zu. Konstante Schwingungen (Abb. 5.33) gehen in gedämpfte über (vgl. Abb. 5.37-38 für D=0.15/h, s_D=0.5 g/l - 0.1 g/l). DRAKE & TSUCHIYA konnten in ihrem System allerdings die Substratkonzentration im Zulauf von 0.5 g Glucose/l auf 0.025 g/l verringern, ohne daß sich der Charakter der Schwingungen änderte (s.a. 6.1.3). Wie realistisch die Vorhersage des Modells tatsächlich ist, kann nicht entschieden werden, da keine Vergleichsexperimente existieren.

Insgesamt ist jedoch festzustellen, daß mit dem entwickelten Modell weitreichende qualitative Übereinstimmungen mit dokumentierten Phänomenen bestehen. Es prognostiziert im Gegensatz zu anderen einfachen Modellen (s.1.3) auch für kontinuierliche Kulturen die geforderte Systemstabilität.

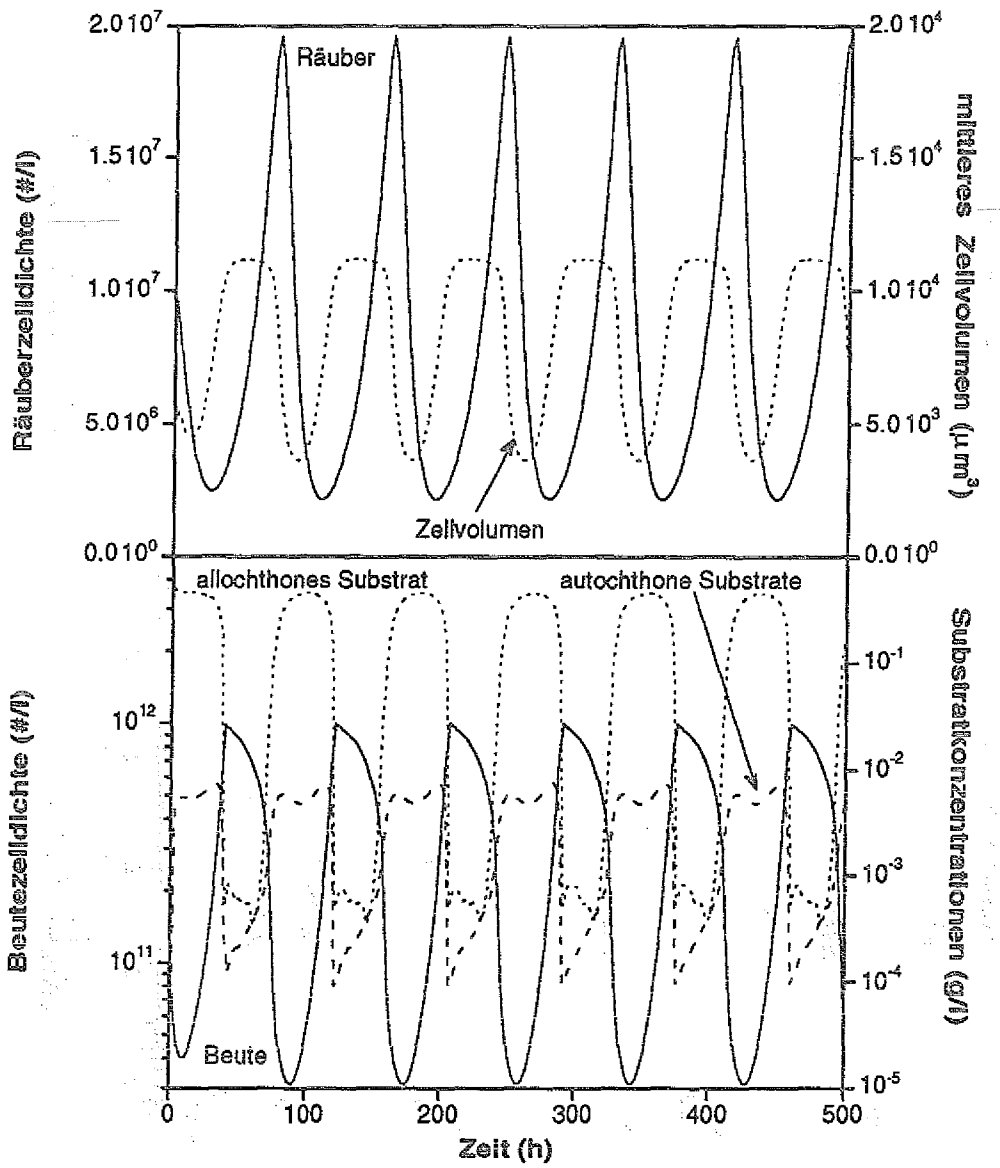


Abb. 5.33: Anhaltende Schwingungen (Grenzzyklus) in einem einstufigen Chemostaten mit mikrobiellem Räuber-Beute-System. Simulation nach dem im Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Modell. Betriebsbedingungen: D=0.15 /h; s_D=0.5 g/l.

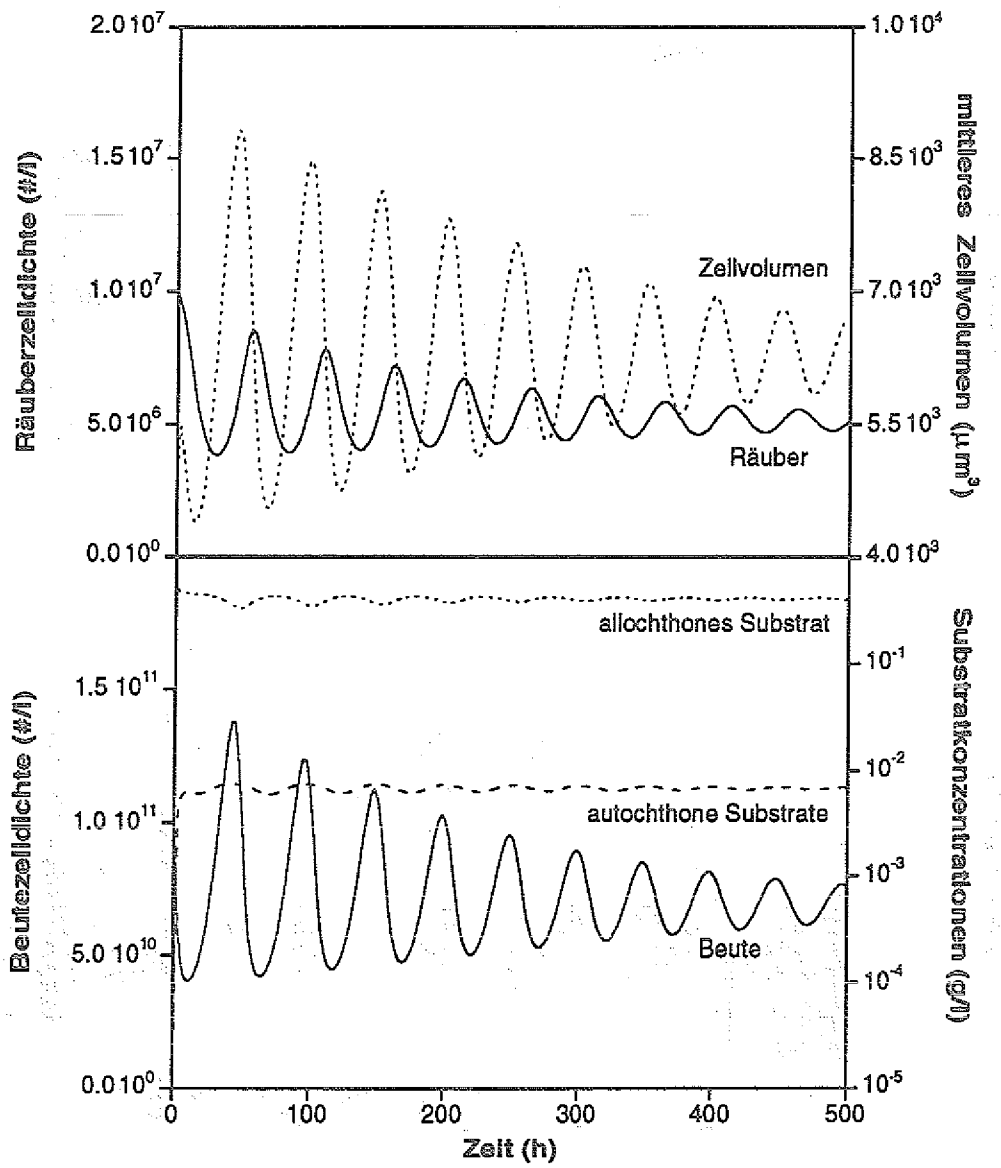


Abb. 5.34: Gedämpfte Schwingungen (-> stabiler Fokus) in einem einstufigen Chemostaten mit mikrobiellem Räuber-Beute-System. Simulation nach dem im Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Modell. Betriebsbedingungen: D=0.125 /h; s_D=0.5 g/l.

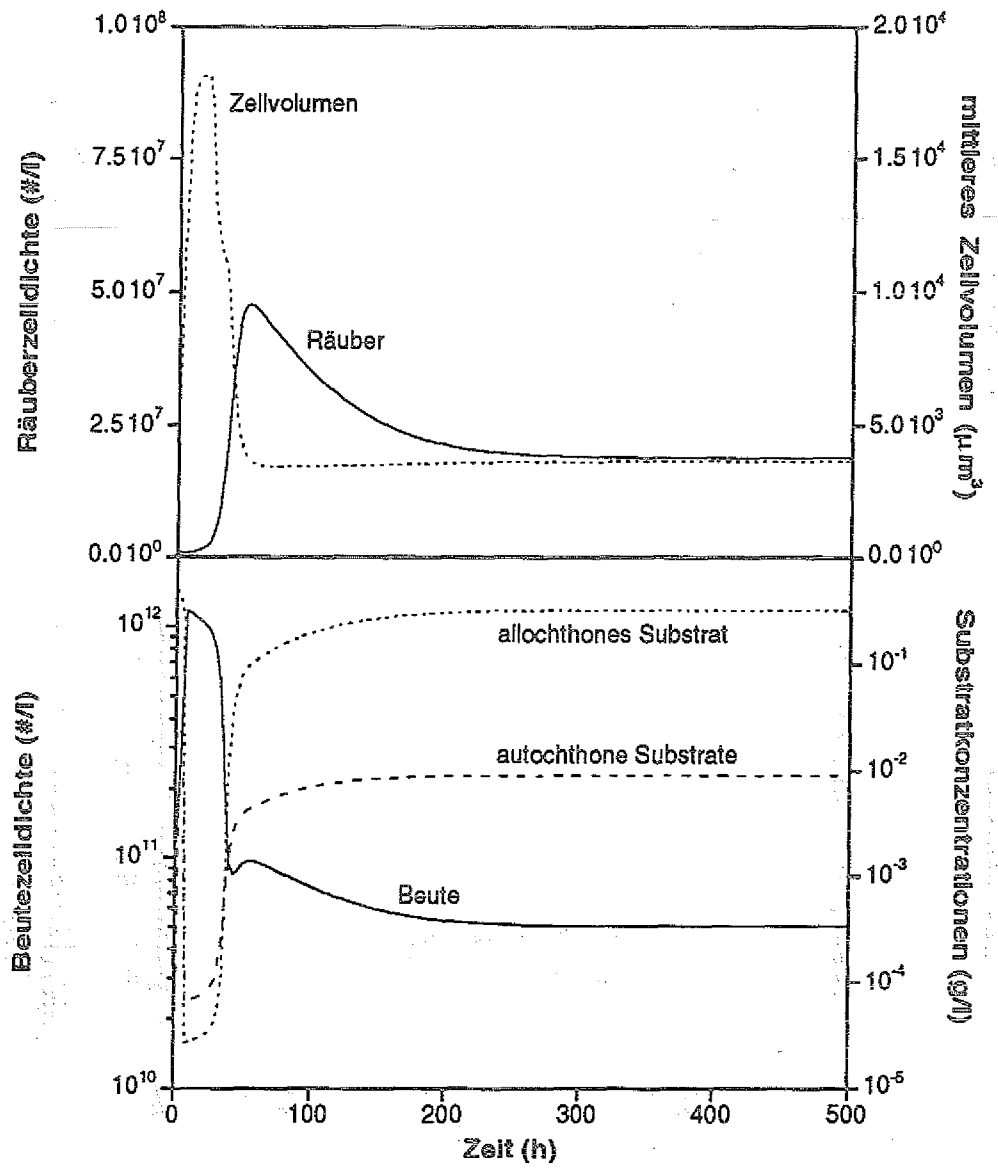


Abb. 5.35: Gedämpfte Schwingungen (stabiler Fokus) in einem einstufigen Chemostaten mit mikrobiellem Räuber-Beute-System. Simulation nach dem im Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Modell. Betriebsbedingungen: D=0.05 /h; s_D=0.5 g/l.

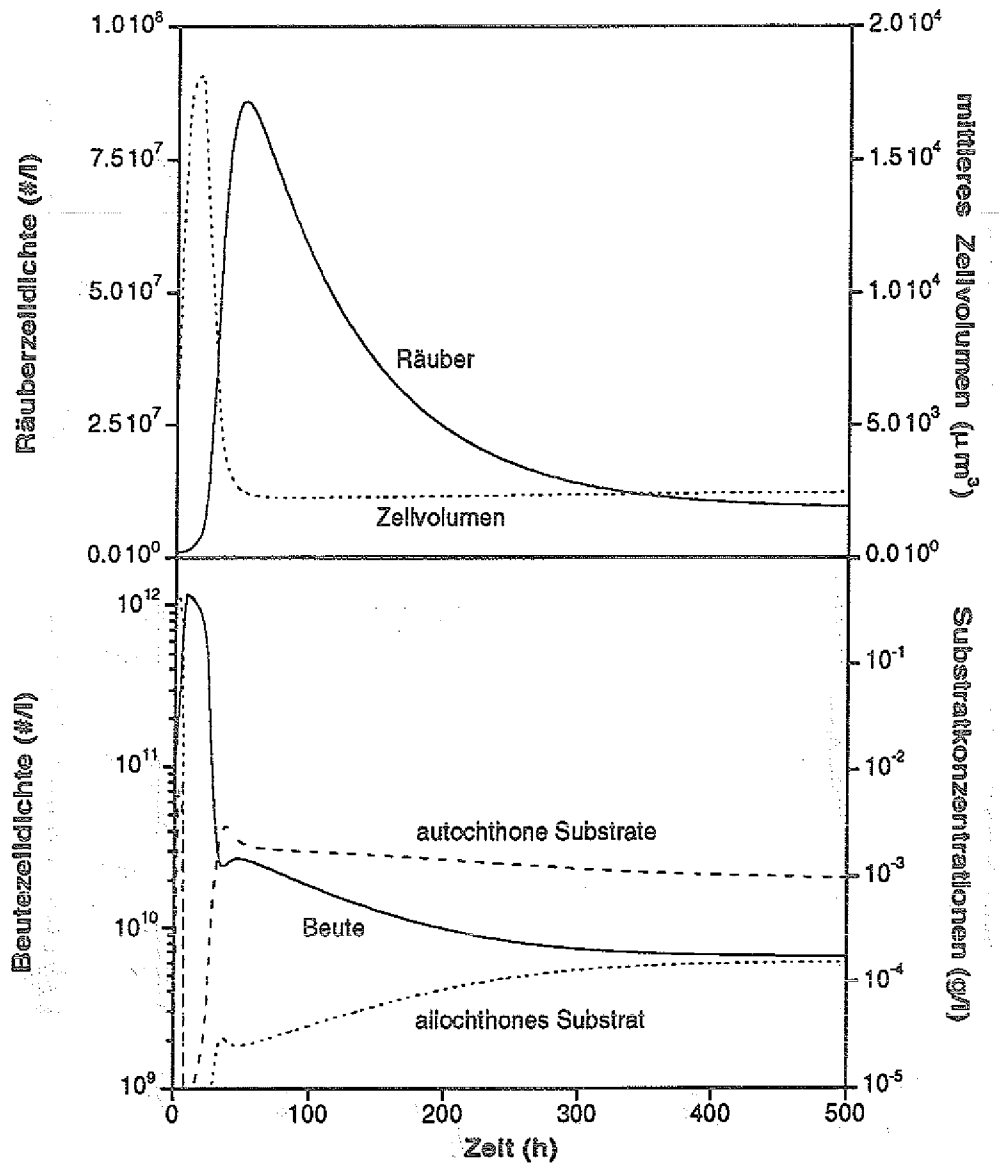


Abb. 5.36: Gedämpfte Schwingungen (stabiler Fokus) in einem einstufigen Chemostaten mit mikrobiellem Räuber-Beute-System. Simulation nach dem im Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Modell. Betriebsbedingungen: D=0.001 /h; s_D=0.5 g/l.

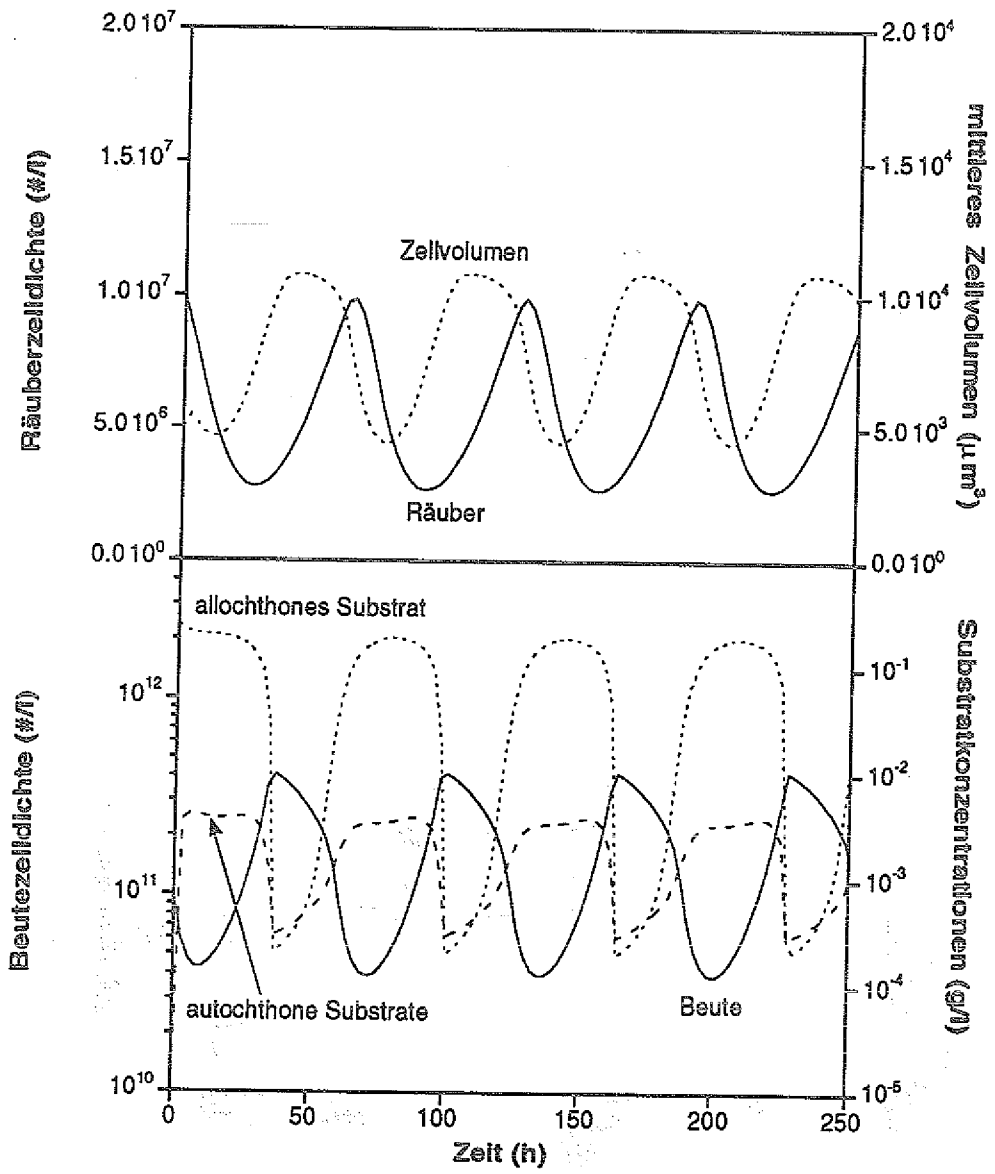


Abb. 5.37: Simulation nach dem im Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Modell. Betriebsbedingungen: D=0.15 /h; s_D=0.25 g/l; vgl. Abb. 5.33.

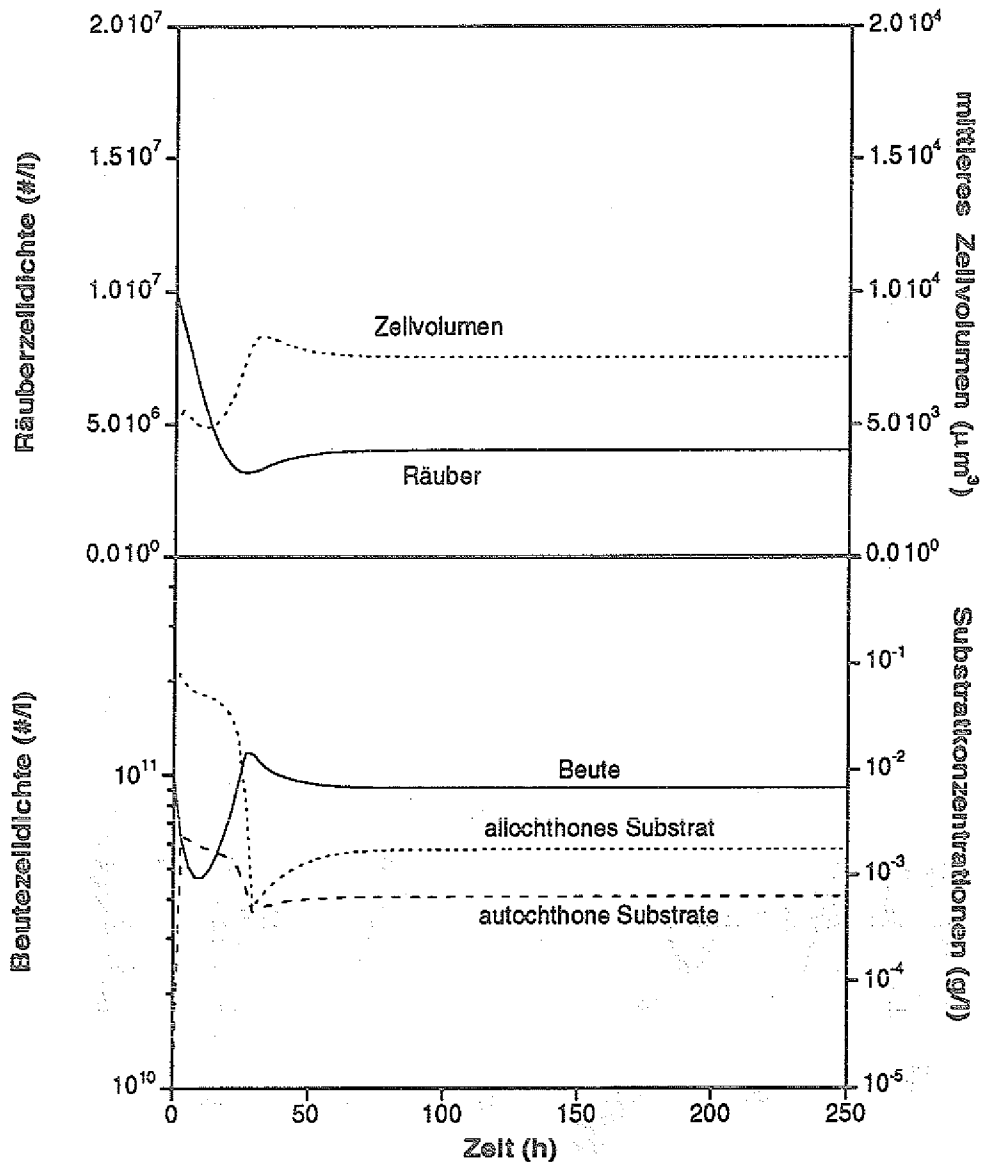


Abb. 5.38: Simulation nach dem im Abschnitt 5.5.1 beschriebenen Modell. Betriebsbedingungen: D=0.15 /h; s_D=0.1 g/l; vgl. Abb. 5.33.

6 Allgemeine Diskussion

6.1 Bewertung der Ergebnisse

6.1.1 Anpassung der Organismen an unterschiedliche Lebensbedingungen

In der Einleitung (1.2.4.4) wurde die Adaptation von Mikroorganismen in Reaktion auf veränderte Umweltbedingungen dargestellt. Viele Umweltfaktoren wurden bei den durchgeführten Untersuchungen von experimenteller Seite konstant gehalten, aber es konnten nicht alle Bedingungen in den Kulturen kontrolliert und geregelt werden. So lassen sich in den batch-Versuchen einige "induzierte" Anpassungsmechanismen nachweisen. Naturgemäß hängt auch bei Mikroorganismen die Populationsdynamik nicht nur von Anzahl und Biomasse der Individuen, sondern auch von physiologischen Zuständen der Zellen ab.

Die Erfassung physiologischer Zellzustände in Kombination mit populationsdynamischen Untersuchungen wurde bisher nicht (weitreichend) betrieben, da der zusätzliche methodische Aufwand mit älteren Analyseverfahren unverhältnismäßig hoch ist. Auch in meiner Arbeit mußte eine detaillierte physiologische Charakterisierung der Organismen deshalb unterbleiben. Zum Verständnis und zur Modellierung von Adaptationsphänomenen, Verhaltensänderungen der Organismen (Freßaktivität, Induktion verschiedener Stoffwechselleistungen), Ernährungszustand und Nährwert der Beute usw. sind gezielt ausgewählte und gemessene physiologische Parameter notwendig. Hier bietet der Einsatz fluoreszenter Farbstoffe in Kombination mit Flowcytometern einen guten Ansatz gleichzeitig verschiedene physiologische und populationsdynamische Parameter zu messen (Zellvolumina, Zellzahl, biologische Aktivität, Teilungsphasen, intrazelluläre Potentiale u.a.; Überblick s. MELAMED *et al.*, 1990). Da diese Methode hauptsächlich im Hinblick auf medizinische Anwendungen entwickelt wurde, kann im Bereich der Mikrobiologie noch nicht auf weitreichende Erfahrungen und entsprechend optimierte Geräte zurückgegriffen werden. Allerdings sollte die Anwendung der Flowcytometrie in bezug auf Protozoenpopulationen unproblematisch sein, da die medizinischen Methoden ebenfalls für Eukaryontenzellen ausgelegt sind.

Verschiedene Phänomene, die bei meinen Untersuchungen beobachtet wurden, können mit Hypothesen, die bei der Physiologie der Organismen ansetzen, erklärt werden (s. 3.6.1, 4.5). Die Beweise sind an eine entsprechend zu erweiternde Analytik geknüpft und stehen noch aus.

6.1.1.1 Anpassung der Bakterien

Eine besondere Problematik bei der Interpretation der Meßergebnisse von Bakterienkulturen stellt das mögliche Wandwachstum dar. Es tritt (unter bestimmten Betriebsbedingungen) wahrscheinlich häufig in kontinuierlichen Kulturen auf (HELLER, 1992; VAN DEN ENDE, 1973). Biofilmbildung und -auflösung sind generell mögliche Reaktionen von Bakterien auf Änderungen der Umweltbedingungen, insbesondere der Substratverfügbarkeit (CHARACKLIS & WILDERER, 1989; DELAQUIS *et al.*, 1989; LOGAN & HUNT, 1988).

Bei den von mir durchgeführten Untersuchungen mit batch-Kulturen wurde innerhalb der Versuchszeiträume kein wesentliches Wandwachstum der Bakterien festgestellt (Vergleich der Immigration von Bakterienzellen von der Wand in die Kulturlösung eines batch-Ansatzes nach normaler batch-Vorkultivierung mit einem Ansatz mit ausgeprägtem Wandbewuchs, der in kontinuierlicher Kultur 3 Wochen vorgezogen wurde). Bei Arbeiten mit anderen *E.coli*-Stämmen wurde jedoch ein Anhaften der Bakterien an Gefäßwände dokumentiert (RATNAM *et al.*, 1982).

Einige der hier untersuchten stationären Versuchskulturen enthielten (mindestens) zwei Substratklassen: von außen vorgegebene (allochthones Substrat, Glucose) und organismenbürtige Substrate (autochthone Substrate, nicht definiert). In Kapitel 3 wurde das Wachstum der Bakterien auf verschiedenen Substraten (allo- und autochthonen) untersucht und besprochen. Zum einen stellte sich die Frage, welche Substrate bevorzugt aufgenommen werden. Dabei spielen Regulation von Stoffwechsel und Substrataufnahmemechanismen eine wichtige Rolle (s. 3.6; SCHLEGEL, 1985). So ist davon auszugehen, daß in Abhängigkeit von den Substratkonzentrationen die verschiedenen Substrate unterschiedlich genutzt werden. Bei den durchgeführten Versuchen tritt dieses Problem in den Hintergrund, da in den unter Kapitel 4 geschilderten Versuchen nur autochthone Substrate vorlagen. Bei der Betrachtung kontinuierlicher Räuber-Beute-Kulturen spielt die Regulation der Substrataufnahme und Umsetzung jedoch eine zentrale Rolle für die Dynamik des Systems (SAMBANIS, 1985).

Neben die Frage der Regulation der Aufnahme verschiedener Substrate tritt das Problem, Substrate in verschiedenen Konzentrationsbereichen zu nutzen. Es gibt Hinweise darauf, daß in Abhängigkeit von der Substratkonzentration unterschiedlich affine Transportsysteme aktiviert werden (s. 3.1, 3.6.1; TEMPEST & NEIJSSEL, 1978). Für viele Organismen und Substrate liegen die Konzentrationsbereiche hochaffiner Aufnahmesysteme oft jenseits der einfachen Meßtechnik. Die Stabilität einer Bakterienpopulation knüpft sich jedoch gerade an jene Mechanismen, die ihr Überleben unter schlechten Umweltbedingungen erlauben. Und gerade in Konkurrenz zu anderen Arten können spezifische, hochaffine Transportsysteme entscheidende Selektionsvorteile bieten, insbesondere wenn die Organismen sich damit

ändernden Umweltbedingungen anpassen können (r- und K-Strategen; ODUM, 1991; GISI, 1990).

6.1.1.2 Anpassung der Ciliaten

Wie bereits erwähnt, stellt der untersuchte Ciliat *Tetrahymena thermophila* einen unabhängig von der Beutedichte aktiven Räuber dar, während andere Protozoen bei niedrigen Beutedichten enzystieren (BRADBURY, 1987). Wie die Versuche in Kapitel 4.1 zeigten, reichte die in den Langzeit-batch-Kulturen verbliebene Bakteriendichte nicht aus, die Verluste der Ciliaten auszugleichen. Es fanden sich Hinweise auf Verhaltensänderungen, die die Nettoverluste einschränken oder u.U. noch ein Nettowachstum gestatten:

- Spezielle (sigmoide) Freßkinetik für niedrige Beutedichten (s.4.4),
- Verringerung der Lysisrate (s. 4.1 & 5.4).

Hingegen scheint die Biovolumenausbeute unter schlechten Nahrungsbedingungen geringer zu sein. Einerseits ist der Parameter "Biovolumenausbeutekoeffizient" nur ein unzureichendes Maß, da noch nicht umgesetzte Nahrung in den Vakuolen mit erfaßt wird. Andererseits deckt sich dieser Befund dem bei der Kultivierung von Bakterien gewonnenen Ergebnis, daß die Ausbeute nur deswegen so niedrig erscheint, weil die Bestimmungsmethodik den Anteil des Grundstoffwechsels mit erfaßt. Dieser fällt insbesondere bei geringem Nahrungsangebot ins Gewicht (BERGTER, 1983).

Die beobachteten Änderungen der Freßkinetik bzw. der Strategie des Nahrungserwerbs (s. 4.4) stehen im Einklang mit den beschriebenen verschiedenen Stadien im Lebenszyklus von *Tetrahymena*, die bei einigen Arten (*T.vorax*, *T.patula*) noch deutliche morphologische Veränderungen hervorrufen (CORLISS, 1953). Hinzu kommen Beobachtungen von Änderungen des Schwimmverhaltens (WATSON *et al.*, 1981) und von nichtfressenden Teilpopulationen (LAVIN *et al.*, 1990). Die durchgeführten mikroskopischen Untersuchungen ließen keine generelle Abhängigkeit des Verhaltens der Ciliaten von den Nahrungsbedingungen erkennen. Vielmehr schienen unterschiedliche Bewegungsmuster nebeneinander aufzutreten, allerdings mit unterschiedlichen Anteilen (s. 4.1; 4.5). Die Ergebnisse zur Freßkinetik müssen daher weniger als individuelle Eigenschaften denn als durchschnittliches Verhalten der Gesamtpopulation gesehen werden (s.a. 6.3; vgl. PAVLOU, 1983)

SWIFT *et al.* (1982) untersuchten eingehend das Verhalten von *Tetrahymena*-Populationen in batch-Kulturen mit *E.coli* in Abhängigkeit von den Nahrungsbedingungen während der Vorkultivierung. Deutlicher noch als in den hier durchgeführten Versuchen belegen ihre Daten, daß der Ernährungszustand des *Tetrahymena*-Inokulums die Vermehrungsstrategie festlegt (s. 4.3; 4.5.1).

Komplizierte Verhaltensweisen können auftreten, wenn statt eines vegetativen Klons von *Tetrahymena thermophila* unterschiedliche Paarungstypen miteinander kultiviert würden. Es käme dann bei Nahrungsverknappung zu Konjugationen. Bei einigen Ciliaten sind mit der Konjugation typische Verhaltens-/Bewegungsmuster verbunden (RICCI, 1990). So ist zu erwarten, daß mit der Möglichkeit der Konjugation neue Strategien in die Populationsdynamik von Laborkulturen eingeführt werden, die auch unter dem Gesichtspunkt der Anpassung an Nahrungsverknappung zu sehen sind.

6.1.2 Nährstoffrecycling, Nährstofftransfer

In den vergangenen Jahren wurde gerade mit der Untersuchung von ozeanischen und limnischen Planktongemeinschaften das Recycling von Nährstoffen Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen (s. 1.2.4.5; SHERR & SHERR, 1991).

Im Zusammenhang mit der Dynamik von Ciliaten und Bakterien in Laborkulturen wurde dem Recycling von Kohlenstoffquellen (C-Quellen) eine hohe Bedeutung für die Stabilität des Systems beigemessen (SAMBANIS, 1985; CANALE *et al.*, 1973). Die hier erzielten Resultate zeigen im Gegensatz zu den Ergebnissen von SAMBANIS, daß das Recycling von C-Quellen (als Baustoff- und Energiequelle) quantitativ eine untergeordnete Rolle für die Dynamik oder Populationsdichte der Bakterien (*E.coli*) spielt (s. 3.5, 4.1, 4.4, 4.5, 5.2). Ganz erheblichen Einfluß haben hingegen Freßkinetiken bzw. ihre Parameter (s. 5.2).

Heterotrophe Bakterien wie *E.coli* verbrauchen 50% bis 70% des aufgenommenen Kohlenstoffs zur Energieproduktion, so daß dieser Anteil unter aeroben Bedingungen meist in Form von CO_2 die Kultur verläßt bzw. für das Wachstum nicht mehr nutzbar ist. Darüber hinaus ist ein weiterer Großteil des Kohlenstoffes in den angewachsenen Bakterien festgelegt – sie sind also auch ein "sink". Ein annähernd quantitatives Recycling von C-Quellen ist in diesem einfachen, offenen Laborsystem mit ausschließlich heterotrophen Organismen also nicht möglich. Ein Recycling kann jedoch hohe Verlustraten einer Population dämpfen (s. 4.1, 5.2; BANKS & BRYERS, 1990).

Bedeutung gewinnt ein Recycling von C-Quellen unter heterotrophen Mikroorganismen erst dann, wenn damit eine Transformation von nichtessentiellen zu essentiellen Nährstoffen verbunden ist, also der Aspekt der Energiequelle in den Hintergrund tritt. Eine solche Nährstofftransformation beschreiben HUANG *et al.* (1981) mit dem Wachstum einer bakteriellen Mangelmutante auf einem energieliefernden, allochthonen Substrat und den Ausscheidungsprodukten des Freßfeindes, die den essentiellen Nährstoff enthalten.

Die Nutzung eines Nährstoffes ist an die Verfügbarkeit anderer gekoppelt, und die Umsätze der einzelnen Nährstoffe hängen voneinander ab. Räuber, auch wenn sie teilweise ein "sink" für Nährstoffe darstellen (GUPTA & GERMIDA, 1989; TAYLOR, 1986), halten einen Stoffffluß im System aufrecht, indem sie Nährstoffe recyceln, die zunächst in den

Beuteorganismen festgelegt sind. Sie halten damit letztlich die metabolische Aktivität der Beuteorganismen aufrecht (BLOEM *et al.*, 1988; CLARHOLM, 1985). Dies ist für die Leistung von Ökosystemen wichtig (s. 6.3).

Betrachtungen zu Herkunft und Einfluß von Detrituspartikeln und Exoenzymen wurden bei den durchgeführten Untersuchungen weitgehend ausgeklammert (s. 4.5.4). Obwohl die Ergebnisse der Simulationen (s. 5) auch ohne die Modellierung dieser "Populationen" die Resultate der Experimente weitreichend wiedergeben, kann daraus nicht geschlossen werden, daß Detrituspartikel und Exoenzyme unbedeutende Strukturen sind. Erstere können wieder Nahrung für Protozoen und ein Nährstoffdepot für Bakterien darstellen, letztere primär nicht verfügbare Nährstoffe aufschließen. Im Modell wurden diese möglichen Eigenschaften mit dem Parameter des Umsatzes der autochthonen Substrate verdeckt berücksichtigt.

6.1.3 Laborkulturen und Modellvorhersagen

Eigene experimentelle Ergebnisse wie auch die in der Einleitung (s. 1.3.3.3) erwähnten Resultate anderer Arbeitsgruppen von Untersuchungen mikrobieller Räuber-Beute-Systeme können mit dem entwickelten mathematischen Modell nachvollzogen werden (s. 5).

Das Modell bezieht sich dabei im Kern auf zwei wesentliche Wechselwirkungen zwischen Organismen:

- Die Freßstrategien der Räuber in Abhängigkeit von Beute- und Räuberdichte,
- das Recycling von C-Quellen.

Die Arbeiten von SAMBANIS (1985) verdeutlichten, daß das Nährstoffrecycling nicht ausreicht, wesentliche Phänomene in den Laborkulturen zu verstehen (s. Anhang B). Erst die Kombination mit einer räuberabhängigen, sigmoiden Freßkinetik (functional response Holling Typ III) ließ es zu,

- einerseits die Persistenz oder Koexistenz von beträchtlichen Beutedichten neben aktiven Räubern und
- andererseits in batch-Kulturen höhere Beutedichten neben höheren Räuberdichten (vgl. HABTE & ALEXANDER, 1978 a/b)

vorherzusagen und zu verstehen. Die Abhängigkeit der Freßrate von der Dichte der Ciliaten ist ein wesentlicher Faktor für die Stabilität der Kulturen (vgl. WISSEL, 1990). Das entworfene Modell ist - im Gegensatz zu älteren - robust gegen Änderungen der Ausgangsbedingungen. Auch die Variation einzelner Parameter änderte die Qualität der Aussage meist nur im Detail.

Die Ergebnisse verdeutlichen auch, daß für die Stabilität von Räuber-Beute-Systemen die Mechanismen wichtig sind, die das Überleben des einen oder anderen Organismus unter schlechten Bedingungen sichern. Im hier untersuchten Fall ist dies die drastische Verminderung der spezifischen Freßrate bei niedrigen Beutedichten, die womöglich mit

einem "Emigrationsbestreben" der Räuber korreliert ist (WATSON *et al.*, 1981). So banal obige Feststellung klingen mag, behandeln doch die meisten Untersuchungen von Freßkinetiken oft Beutedichtenbereiche, die diese Situation kaum wiedergeben (z.B. FENCHEL, 1980 a/b). So finden sich meist nur hypothetische Forderungen nach sigmoiden statt hyperbolischen Freßkinetiken (JOST *et al.*, 1973 a/b). In dieser Arbeit gelang es, das methodische Blickfenster dem Bereich anzupassen, über den eine Aussage gewonnen werden soll, und damit konnten solche Kinetiken tatsächlich dokumentiert werden.

Auch die Simulationen zu einstufigen Chemostatenkulturen decken weitreichend die dokumentierten experimentellen Befunde ab (s. 1.3.3.3, 5.5):

- Zufällige Elimination der Bakterien ist ausgeschlossen.
- Es wurden Koexistenzgleichgewichte vom Typ "stabiler Fokus" und Grenzzyklen erreicht (s. Tab. 1.2).
- Bei Verminderung der Durchflußrate geht ein oszillierender Gleichgewichtszustand in einen gedämpft oszillierenden über.

Die übrigen Anforderungen müssen kritischer betrachtet werden:

Bei niedrigen Durchflußraten soll die Konzentration des allochthonen Substrates im Reaktor etwa den Wert der Zulaufkonzentration erreichen (SAMBANIS, 1985; DRAKE & TSUCHIYA, 1977). Auch hier könnte der experimentelle Rahmen, der zu dieser Aussage führte, zu eng gesteckt worden sein (es wurde keine entsprechend niedrige Durchflußrate getestet). Mit der Verminderung der Durchflußrate sollte sich eine Chemostatenkultur einem Zustand nähern, in dem metabolische Verluste und die Abschwemmung nicht mehr vom Wachstum der Ciliaten kompensiert werden können. Damit erreicht das System aber den Zustand einer Reinkultur mit Bakterien, bei der die Konzentration des allochthonen Substrates im Reaktor für niedrige Durchflußraten gering ist (vgl. Abb. C.2). Das Modell sagt dieses Verhalten auch vorher.

Bei den Simulationen oszillierender Gleichgewichtszustände führte die Verringerung der Substratkonzentration im Zulauf (bei konstanter Durchflußrate) zunächst zur Verminderung der Amplituden, schließlich zur stärkeren Dämpfung der Schwingung (Übergang von Grenzzyklen zu stabilem Fokus) und letztlich zu (anscheinend) schwingungsfreien Gleichgewichten. Erwartet wurde hingegen nach Untersuchungen von DRAKE & TSUCHIYA (1976), daß bei 20-facher Reduzierung der Substratkonzentration im Zulauf derselbe Typ eines Gleichgewichtszustandes beibehalten wird. Da sich aber in ihren Versuchen eine Verminderung der zulaufenden Substratkonzentration dämpfend auf Systemschwingungen auswirkte, ist zu erwarten, daß die mit dem Modell vorhergesagten Übergänge auch in Experimenten möglich wären. Im Extremfall, wenn die zulaufende Substratkonzentration gegen

Null strebt, ist ein Auswaschen der Populationen zu erwarten, d.h. die an die Ergebnisse von DRAKE und TSUCHIYA geknüpfte Erwartung kann nur für bestimmte Parameterbereiche gelten. Es ist daher nicht auszuschließen, daß die angesprochenen Unstimmigkeiten mit den Simulationen nur auf die Wahl der Betriebsparameter zurückzuführen sind. Entsprechende Versuche mit den Organismen, mit denen die im Modell verwendeten Parameter ermittelt wurden, sind nicht unternommen worden.

Das entwickelte mathematische Modell zur Populationsdynamik von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* beschreibt stationäre Laborkulturen treffend. Für kontinuierliche Kulturen sagt es eine hohe Stabilität der Koexistenz von Räuber und Beute vorher, wie sie aus den Experimenten anderer Arbeitsgruppen abgeleitet werden kann.

6.2 Modellierungsansätze für mikrobielle Räuber-Beute-Systeme

Experimentelle und theoretische Modelle für mikrobielle Räuber-Beute-Systeme sind aus zweierlei Gründen von wissenschaftlichem Interesse. Einerseits bieten diese Experimente die Möglichkeit, theoretisch erarbeitete Modellvorstellungen über ökologische Prozesse mit Laborkulturen in einem zeitlich begrenzbaren Rahmen zu überprüfen, andererseits spielen beteiligten Organismen auch gerade in von Menschen genutzten Biozönosen (z.B. biologischen Abwasserreinigungsanlagen, Seen) eine Rolle, die teilweise noch nicht geklärt ist.

In der Einleitung wurde die Entwicklung von einfachen mathematischen Modellen hin zu "segregated, structured, distributed models" (FREDRICKSON, 1991) beschrieben. Zwei Linien lassen sich bei den Erklärungsversuchen für die Dynamik von Protozoen-Bakterien-Kulturen mit mathematischen Modellen erkennen. Die eine verfolgte den Ansatz, daß Unstimmigkeiten von Modell und Experiment darauf beruhen, daß wesentliche Mechanismen auf der Ebene der Interaktion der Populationen nicht in die Modelle integriert waren (Art der Freßkinetik: JOST *et al.*, 1973 a/b; Wandwachstum der Bakterien: TOPIWALA & HAMMER, 1971; nicht verwertbare Beutegrößen: PAVLOU & FREDRICKSON, 1983). Die andere Denklinie geht davon aus, daß die Räuber- und/oder Beutepopulation in Subpopulationen zu unterteilen ist, die bestimmten physiologischen Zuständen entsprechen (genetische und strukturelle Biomasse: HUNT *et al.*, 1977; Größen- bzw. Altersklassen: VILLARREAL *et al.*, 1976; Verhaltensstruktur: PAVLOU, 1983; komplexere physiologische Strukturen: FREDRICKSON, 1991).

Beide Denklinien sind keineswegs gegensätzlich. Sie setzen lediglich auf unterschiedlichen Modellierungsebenen an. Während auf der einen Seite manche Modelle zu einfach bleiben, können sie auf der anderen extrem komplex werden (s.a. 1.4).

Strukturierte Modelle wurden vielfach zur Beschreibung der Populationsdynamik höherer Organismen entwickelt (METZ & DIEKMANN, 1986). Dies ist schon aus methodischen Gründen einsichtig, da Verhaltensänderungen und physiologische Zustände sich relativ leicht bei höheren Organismen wie Fischen oder Daphnien erfassen lassen. Verhaltensänderungen von Mikroorganismen lassen sich dagegen oft nur schwer dokumentieren, und nicht jeder physiologische Parameter ist methodisch so einfach nachzuweisen, daß Laborkulturen dadurch nicht manipuliert würden. Erst neuere Nachweismethoden, wie z.B. die Flowcytometrie (MONGER & LANDRY, 1993; FREDRICKSON, 1991; LAVIN *et al.*, 1990) bieten gute Möglichkeiten, biologische Parameter parallel zu physiologisch strukturierten Modellen zu erfassen (vgl. 4.5.2.4).

Wie gezeigt werden konnte, wird die Dynamik der hier untersuchten Laborkulturen weitreichend durch eine komplexe Freßstrategie der Räuber und die Nutzung autochthoner Substrate durch die Beute bestimmt. Das dazu entworfene Modell strukturiert zwar auch die Räuberpopulation in Zellzahl und mittlere Zellgröße, das Differentialgleichungsmodell umfaßt aber im Vergleich zu stärker strukturierten Modellen mit ähnlichen Vorhersageeigenschaften für batch-Kulturen von VILLARREAL *et al.* (1976, 1975) und PAVLOU (1983; diskretes Modell, ohne Substrate!) weniger Gleichungen. Auch wurden die meisten Parameter aus experimentellen Daten ermittelt, während für die beiden genannten fremden Modelle die Größen und Übergangsraten der Teilpopulationen geschätzt werden mußten, da keine adäquate Meßmethodik verfügbar war.

Das Modell von PAVLOU setzt ebenfalls bei der Modellierung des Verhaltens der Räuber an, wobei es sich an der Strukturierung des Lebenszyklus von *Tetrahymena* nach CORLISS (1953) orientiert. Der Erklärungsansatz ist also im Prinzip ähnlich demjenigen, der von mir entworfen wurde. Im Rahmen meiner Untersuchungen konnten mechanistische Vorstellungen der Räuberabhängigkeit der Freßkinetik mathematisch umgesetzt werden (s.a. 4.5.2.2, Anhang E).

Die Analyse des Verhaltens von Protozoen kann also wichtige Hinweise für das Verständnis der Dynamik mikrobieller Räuber-Beute-Systeme liefern. Das Verhalten der Protozoen ist aber nur eine Komponente. Die Einbeziehung anderer Mechanismen wie Wandwachstum, Ausscheidung und Dynamik von Toxinen und Exoenzymen erfordert zwangsläufig aufwendigere Modelle. Es ist notwendig, den Aufwand an Strukturierung in den einzelnen Populationen an die zu untersuchende Fragestellung anzupassen. Das hier entwickelte Modell bietet dabei eine gute Ausgangsgrundlage, da der Umfang relativ gering ist, jedoch hinreichende Möglichkeiten bietet, um z.B. die Freisetzungsmechanismen für autochthone Substrate (s. 5.3.2) oder den Einfluß von Detrituspartikeln, Wandwachstum und weiteren Räuber- oder Beutepopulationen zu untersuchen.

Auf bakterieller Seite entspricht der Freßstrategie der Protozoen die Aufnahme löslicher Substrate. Auch hier ist bekannt, daß verschiedene Substrate und Substratkonzentrationen nicht gleichwertig sind. Aufnahme und Umsatz werden den jeweiligen Umwelt- und physiologischen Bedingungen angepaßt (s. 6.1.1). Um hier sinnvolle Modellierungsansätze zu finden, sind weiterreichende Zusatzinformationen über den Membrantransport und Stoffwechsel sowie die Steuerung dieser Vorgänge notwendig (FISHER & SONENSHEIN, 1991; KONINGS *et al.*, 1989; SCHLEGEL, 1985; HARDER & DIJKHUIZEN, 1983). Hierbei sind sicherlich Arbeiten mit *E.coli* als Modellorganismus von Vorteil, da ein Großteil wichtiger Informationen zu diesem Organismus existiert. Unter relativ einfachen Annahmen lassen sich für zwei Substratklassen Modelle des bakteriellen Wachstums auf der Basis von Monod-Kinetiken entwickeln (s. 3.6; BALTZIS & FREDRICKSON, 1987; ROELS & KOSSEN, 1978; SAMBANIS, 1985). SAMBANIS zeigte, daß diese verschiedenen Modelle unterschiedliches dynamisches Verhalten von kontinuierlichen Räuber-Beute-Kulturen prognostizieren. Daneben wurde eine Reihe zum Teil sehr komplexer, strukturierter Modelle entwickelt (MAJEWSKI & DOMACH, 1990). Dazu zählen Kompartiment-Modelle, die den Übergang von Substraten in verschiedene zelluläre Kompartimente berücksichtigen (NIELSEN *et al.*, 1991 a/b; NIKOLAJSEN *et al.*, 1991) und "Kybernetische Modelle" (KOMPALA *et al.*, 1984; PAVLOU & FREDRICKSON, 1989), die darstellen, wie ein Organismus seine Auswahl aus verschiedenen Substraten trifft. Auch hier stellt sich die Frage: Wieviel Komplexität muß das Modell aufweisen, um wesentliche, der wissenschaftlichen Frage entsprechende Aussagen zu ermöglichen? Und umgekehrt: Welche Experimente können ein Modell verifizieren? Diese Aspekte wurden in dieser Arbeit nur am Rande behandelt. Sie gewinnen aber an Bedeutung, wenn man die Dynamik kontinuierlicher Kulturen verstehen will. Hier stellen sich besondere Anforderungen an die Methodik, und auch hier kann womöglich mit Flowcytometern eine Erfassung grundlegender physiologischen Parameter (HERBERT, 1961) erleichtert werden.

Unter bekannten Bedingungen reicht es für viele Fragestellungen wahrscheinlich aus, die Bakterienpopulation ähnlich der Ciliatenpopulation in Zellzahl und Zellvolumen zu strukturieren, um durch die Zellvolumina einen einfachen und meßbaren Schätzer für den physiologischen Zustand einer Bakterienzelle zu gewinnen. HELLER (1992) zeigte, daß dieser Ansatz es ermöglicht, bakterielle Wachstumskurven für Teilungs- und Biovolumenwachstum nachzuvollziehen. Zur Modellierung variabler, beutegrößenabhängiger Biovolumenausbeuten oder spezifischer Freßraten der Protozoen ist dieser Ansatz vorteilhaft einfach.

In vielen Laborkulturen neigen die Beutebakterien zu Wandwachstum (s. 6.1.1.1). Auch hier gibt es eine Reihe von einfachen bis komplexen Ansätzen, die Dynamik dieser Biofilme zu modellieren und in die Modellierung von Räuber-Beute-Systemen einzubeziehen (CALDWELL, 1987; ONUMA *et al.*, 1985; BONOMI & FREDRICKSON, 1976; TOPIWALA & HAMER, 1971).

Um die Diskrepanz von experimentellen Ergebnissen und Simulationsvorhersagen zu verringern, wurden verschiedentlich auch Annahmen zur technisch bedingten Inhomogenität der Laborkulturen untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit wurde dargestellt, daß Heterogenität in der Verteilung von Substraten oder Beutebakterien sich in einer Abhängigkeit der gemessenen Wachstums- oder Freßkinetik von den Organismen niederschlägt (s. Anhang C; 3.6 und 4.4, 4.5.2.2). Diese Inhomogenität resultiert daraus, daß sich punktuell erhöhte Substratkonzentrationen oder Beutedichten nicht zeitunabhängig im Reaktor verteilen lassen. Bypasseffekte und Totzonen in Chemostaten wurden bereits in ihren Auswirkungen untersucht (s. BAILEY & OLLIS, 1986) und zeigen weitere mögliche Konsequenzen mangelnder Durchmischung auf.

6.3 Übertragbarkeit von Laborexperimenten und Simulationen

Neben der Verifikation von theoretischen Modellen zur Populationsdynamik können Laborexperimente, wie sie auch im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, dazu beitragen, Mechanismen der Dynamik von natürlichen Biozönosen zu verstehen.

Ein wesentlicher Faktor für die Stabilität (s. 1.2.3.1), nämlich die heterogene, zeitliche und räumliche Strukturierung eines Biotops und der Organismenverteilung, wird in Laborkulturen zur besseren Analyse annähernd ausgeschaltet. Trotzdem lassen sich damit nicht alle Verhaltensweisen der Organismen aus den Laborkulturen eliminieren, die eine Anpassung an heterogene Lebensräume darstellen. So kann das Verhalten von *Tetrahymena* in den hier dargestellten Versuchen als ein Resultat der Anpassungen an eine inhomogene Umwelt gesehen werden: CORLISS (1953) und WATSON *et al.* (1981) wiesen auf die Änderungen des Schwimmverhaltens in Abhängigkeit von der Beutedichte hin.

Andere Ciliaten reagieren auf weitreichende Dezimierung ihrer Beute mit Enzystierung (BRADBURY, 1987). Konjugation (s. SLEIGH, 1975) und Gentransfer als Reaktion auf Nahrungsverknappung sind bei Arbeiten mit einem Klon allerdings ausgeschaltet.

Enzystierung wie deutliche Verminderung der Freßrate der Protozoen bei niedrigen Bakteriendichten führen u.a. dazu, daß keine (rasche) Elimination der Beute unter ein bestimmtes Dichteniveau erfolgt (hinzu kommen Prozesse des Nährstoffrecyclings, Refugien usw. s. 1.2). Untersuchungen in Gewässern und Böden (teilweise mit Einträgen von Fremdbakterien) zeigten, daß Protozoen (nur) oberhalb dieses Niveau Bakterienpopulationen effektiv abschöpfen können (CARRICK *et al.*, 1992; FUKAMI *et al.*, 1991; GONZALES *et al.*, 1990; GURIJALA & ALEXANDER, 1990 a/b; BLOEM *et al.*, 1989; ACEA *et al.* 1988). In eutrophen Seen stellen insbesondere heterotrophe Nanoflagellaten eine effiziente Räubergruppe für Bakterien dar. Ciliaten scheinen dort eine untergeordnete Rolle zu spielen.

MALLORY *et al.* (1983) wiesen darauf hin, daß in Abwässern Fremdbakterien durch Protozoen eliminiert werden. Darin mag ein Faktor liegen, warum gerade in Abwasserbehandlungsanlagen eine vielfältige Protozoenfauna (Ciliaten) mit guten Reinigungseigenschaften korreliert ist (CURDS, 1982). Einen weiteren Faktor mag der Transfer von Nährstoffen darstellen, indem ein gewisser Grad an physiologischer Aktivität bei den Bakterien ständig aufrechterhalten wird (s. 6.1.2).

Unumstritten ist, daß Protozoen die Remineralisierung von allen Nährelementen fördern (STOUT, 1980; BARSDATE *et al.*, 1974; s. 1.2.4.5). Welche Bedeutung sie dabei unter natürlichen Bedingungen erlangen, hängt auch davon ab, ob es konkurrierende oder räuberische Metazoen (z.B. *Daphnia,* Nematoden) gibt und wie die zeitliche Entwicklung dieser Populationen in natürlichen Ökosystemen abläuft (BEAVER & CRISMAN, 1989; INGHAM *et al.*, 1986 a/b; STERNER, 1986).

In natürlichen Ökosystemen sind die Wachstumsraten, die von Mikroorganismen erreicht werden, meist sehr niedrig, und viele Organismen haben Dauerstadien entwickelt, die es ihnen gestatten, nahrungsarme Perioden zu überstehen (s. 1.2.4.4). Aus technischen Gründen lassen sich in einfachen Chemostaten kaum solche Durchflußraten optimal realisieren, die diesen Wachstumsraten entsprechen, die in Bereichen der metabolischen Verluste der Organismen liegen. So zeigen die Untersuchungen von HELLER (1992) mit dem hier verwendeten *E.coli*-Stamm in Parallelität zu BULTHUIS *et al.* (1989), daß die Tropfenfrequenz des zulaufenden Mediums Auswirkungen auf die Zellausbeute hat. Erst Entkopplung von hydraulischer und biologischer Verweilzeit (ähnlich einer Kläranlage) ermöglicht kontinuierliche Kultivierung bei niedrigen Wachstumsraten (TAPPE, 1992). Damit wären Untersuchungen von physiologischen Gleichgewichtszuständen möglich, die eine Anpassung an diese minimalen Lebensbedingungen darstellen.

Stationäre Laborkulturen werden ebenfalls meist unter Bedingungen gestartet, die annähernd optimal sind. Oft reichen auch die analytischen Voraussetzungen nicht aus, detaillierte Aussagen zu minimalen Systemzuständen zu machen (s. z.B. Auflösung der elektrischen Partikelzählung, 2.5.2.1, 4.1). batch-Kulturen, die die stationäre Phase erreicht haben, lassen gewisse Untersuchungen an Zellen in Hungerzuständen zu. Allerdings wandelt sich ständig die Zusammensetzung des Mediums (Ausscheidungs- und Zerfallsprodukte der Organismen), was die Dateninterpretation erschwert. In gewissem Umfang sind sie jedoch geeignet, gerade den Wandel von Biozönosen und die Adaptation von Organismen mit geringem apparativen Aufwand darzustellen.

6.4 Ausblick

Die im Rahmen der Arbeit unternommenen Experimente und Modellierungen beziehen sich im Schwerpunkt auf stationäre Laborkulturen von mikrobiellen Räuber-Beute-Systemen ohne wachstumslimitierende allochthone Substrate. Die Vorhersagen des mathematischen Modells stimmen weitgehend mit den experimentellen Ergebnissen überein. Einige Befunde sollten u.U. mit anderen Methoden stärker abgesichert werden - etwa bezüglich der spezifische Freßrate der Räuber, deren Schwimmverhalten, dem Wachstum der Bakterien auf autochthonen Substraten. Die Verfügbarkeit verschiedener hochwertiger experimenteller Methoden (z.B. Flowcytometrie; s. 4.5.2.4, 6.1.1) ist ein zeitlich und finanziell begrenzender Faktor der detaillierten Analyse. Nur im Rahmen der Zusammenarbeit verschiedener Arbeitsgruppen mit einander ergänzenden Arbeitstechniken werden rasche Fortschritte möglich sein.

Aus Vergleichen zwischen Modellvorhersagen und experimentellen Resultaten lassen sich Rückschlüsse auf die Mechanismen in den realen Systemen ziehen (s. 1.1.1; 1.3.3; 1.4). Um diese Interaktion zu gewährleisten wurde bei der Entwicklung des Modells darauf geachtet, daß Meßgrößen und Modellparameter bzw. die Variablen einander entsprechend gewählt wurden. In diesem Zusammenhang unterstützt die Modellierung die Auswertung und Konzipierung von Experimenten. Wie die verschiedentlich vorgenommenen Modifikationen zeigen (s. 5.2-4), können neue Mechanismen relativ einfach in dieses Modell eingebaut werden.

Es können Fragestellungen zur Dynamik bei Anwesenheit eines zweiten Räubers oder alternativer Beute untersucht werden. Ebenso ergeben sich Ansatzmöglichkeiten zu Betrachtungen des Einfluß von Toxinen, Exoenzymen, Detritus usw. allein schon aus der Sensitivitätsanalyse (s. 5.2; Variation von Wachstums und Verlustparametern). Ein weiterer für einige Fragestellungen wesentlicher Schritt ist der Ausbau des Modells auf eine strukturierte Bakterienpopulation und die Einfügung weiterer Substratklassen (Nährelemente). In experimentellen Ansätzen sollten dazu Möglichkeiten ausgewählt werden. Dies wäre ein Schlüssel, die Dynamik komplexerer Systeme zu untersuchen, z.B. die Umsetzung von Stickstoffverbindungen in Hinblick auf Interaktionen zwischen Bakterien (Denitrifikanten-Nitrifikanten) und zwischen Bakterien und Freßfeinden (Beuteselektion, Nährstoffrecycling; s. z.B. GROVER, 1990; CLARHOLM, 1985).

Die bisher dargestellten Modelle sind in Orientierung an durchmischte Laborkulturen entwickelt worden. Räumliche Strukturen, die die Betrachtung und Bewertung der Beweglichkeit der Organismen ermöglichen, waren ausgeschlossen. Die Anwendung mathematischer, computergestützter Methoden, die räumliche Strukturen berücksichtigen (Reaktions-Diffusions-Gleichungen, zelluläre Automaten; WISSEL, 1989; EDELSTEIN-

KESHET, 1987), eröffnet die Möglichkeit, Strategien des Beutesuchens zu diskutieren. Das Verhalten einzelner *Tetrahymena*-Zellen sowie die Verteilung verschiedener Verhaltensmodi innerhalb der Population können aus den durchgeführten Untersuchungen zur spezifischen Freßrate abgeleitet werden. Die Arbeit unterstreicht die Notwendigkeit, verhaltensphysiologische Aspekte in die Betrachtung der Dynamik mikrobieller Populationen aufzunehmen, und bietet dazu mögliche Ansätze.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Populationsdynamik eines mikrobiellen Räuber-Beute-Systems (*Tetrahymena thermophila* - *Escherichia coli*) in kohlenstofflimitierten, stationären Laborkulturen untersucht. In Interaktion mit Experimenten wurden mathematische Modelle zur Analyse der Prozesse eingesetzt.

1. Zur Beschreibung der Dynamik dieses Systems in stationären Laborkulturen sind wenige grundlegende Wechselwirkungsmechanismen zwischen Räubern (*Tetrahymena*), Beute (*E.coli*) und (autochthonen) Substraten hinreichend.

2. Die Anpassung der "Freßstrategie" der Räuber an Veränderungen der Beute- und Räuberzelldichte ist der wesentliche stabilisierende Faktor des Systems. Die Räuber haben im Populationsdurchschnitt eine zweistufige Freßkinetik. Bei Verminderung der Beutedichte sinkt die spezifische Freßrate gemäß einer functional response Holling Typ III. Die spezifische Freßrate sinkt ebenfalls bei einer Erhöhung der Räuberdichte .

3. Es wurde der Einfluß einer inhomogenen Durchmischung der Kultur auf die Wachstums- und Freßkinetik der Beute und Räuber theoretisch dargestellt. Neben der Abhängigkeit der Kinetiken von der Nahrungskonzentration entsteht eine Abhängigkeit von dem Verbraucher.

4. Das Recycling von Kohlenstoffquellen zur Ernährung der Bakterien dämpft die Fraßverluste in der Beutepopulation. Es erhält einen steten Nährstofffluß im System aufrecht und damit eine gewisse physiologische Aktivität der Organismen.

5. Es wurde ein einfach strukturiertes Differentialgleichungsmodell dieses Räuber-Beute-Systems entwickelt, das wesentliche, experimentell belegte Eigenschaften stationärer Laborkulturen erklären kann. Änderungen des physiologischen Zustands der Räuberpopulation wurden im Modell deskriptiv berücksichtigt.

6. In einem ersten Ansatz konnte gezeigt werden, welche Vorhersagen das Modell für die Dynamik von kontinuierlichen Kulturen trifft. Koexistenzgleichgewichtszustände sind im Vergleich zu älteren Modellen deutlich stabiler.

7. Adaptation der Organismen muß bei der Analyse von Populationsdynamiken generell berücksichtigt werden.

Anhang

Anhang A: Systematik der Protisten

Die Systematik der Protisten ist nach wie vor an verschiedenen Punkten unsicher. HARRISON & CORLISS (1991) schlagen folgende Systematik vor. In wissenschaftlicher Hinsicht ist diese Systematik in einigen Teilen strittig und bereits überholt (Sektion I), so daß sie nur als vorläufiger Anhaltspunkt gesehen werden sollte. Sie kann jedoch einen Eindruck über die verwandtschaftlichen Beziehungen der Protistengruppen (und Lebensstrategien) geben, die im Rahmen der Arbeit erwähnt werden. Darüber hinaus spiegelt sie die Diskussion wieder, in welcher Beziehung die Protozoen zu anderen systematischen Gruppen von Einzellern gesehen werden können - z.B. den Grünalgen.

Sektion I:	Mastigophora (Flagellatenartige)
Subsektion A:	Heterokonta
Phylum:	Chrysophyta (Goldalgen)
	Haptophyta
	Xanthophyta
	Chlorarachniophyta
	Eustigmatophora
	Phaeophyta (Braunalgen)
	Phycomycetes
	Proteromonadea
	Opalinata
Subsektion B:	Chlorobionta
Phylum:	Chlorophyta (Grünalgen)
	Prasinophyta
Subsektion C:	Euglenozoa
Phylum:	Euglenophyta
	Kinetoplastidea
	Klasse: Bodoninea
	Tripanosomatea
	Hemimastigophora
	Pseudociliatea
Subsektion D:	Cryptomonadea
Phylum:	Cryptophyta
Subsektion E:	Dinozoa
Phylum:	Dinoflagellata
Subsektion F:	Polymastigota
Phylum:	Metamonadea
	Parabasalia
	Klasse: Trichomonadea
	Hypermastiginea
Subsektion G:	Choanoflagellata
Phylum:	Choanomonadea

Sektion II: Sarcodina
- Subsektion A: Rhizopoda
  - Phylum: Amoebozoa
    - Granuloreticulosa
      - Klasse: Foraminifera
  - Phylum: Mycetozoa
    - Klasse: Protosteliidea
      - Dictyosteliidea
      - Myxogastrea
      - Acrasidea
    - Plasmodiophorea
    - Xenophyophorea
- Subsektion B: Labyrinthomorpha
  - Phylum: Labyrinthulea
- Subsektion C: Actinopoda
  - Phylum: Heliozoa
    - Taxopoda
    - Acantharia
    - Polycystina
    - Phaeodaria

Sektion III: Apicomplexa (viele Parasiten)
Sektion IV: Microspora (viele Parasiten)
Sektion V: Haplospora (viele Parasiten)
Sektion VI: Myxozoa (viele Parasiten)

Sektion VII: Ciliophora
- Phylum: Ciliophora
  - Klasse: Karyorelictea
    - Spirotrichea
    - Litostomatea (z.B. *Didinium*)
    - Prostomatea
    - Phyllopharyngea
    - Nassophorea (z.B. *Paramecium*)
    - Oligohymenophorea (z.B. *Tetrahymena, Vorticella*)
    - Colpodea

Anhang B:Betrachtungen und Modellierungen zum Modell von SAMBANIS (1985)

SAMBANIS (1985) unternahm Versuche, mathematische Modellrechungen auf der Basis von Differentialgleichungen (DGL) und experimentelle Daten von Mischkulturen mit *Tetrahymena pyriformis* (*Tetrahymena elliotii*) und *E.coli* zu parallelisieren. Ausgehend von seinen Überlegungen und Ergebnissen wurden einige Hypothesen (s. 1.1.1) aufgestellt, wie "einfache" DGL formuliert werden müssen, um eine relativ gute Übereinstimmung von Meß- und Simulationsergebnissen zu bekommen.
An dieser Stelle sei entsprechend den hier durchgeführten Versuchen sein "Saprotrophy"-Modell für stationäre Kulturen dargestellt und anhand der Versuchsergebnisse diskutiert.

B.1 Das Modell von SAMBANIS (1985) zum Wachstum von *Tetrahymena* auf *E.coli* in stationären Laborkulturen

SAMBANIS Modell bezieht ähnlich wie zuvor bereits CANALE *et al.* (1973) Substratausscheidungen der Organismen (Ciliaten) in die Betrachtungen des Räuber-Beute-Systems ein. Unter Berufung auf FENCHEL (1980 a/b) modellierte er die auf das Ciliaten-Biovolumen bezogene Aufnahmerate der Ciliaten als Monod-Funktion. Ebenso modellierte er das Wachstum der Bakterien als Monod-Kinetik. Die Ausschüttung autochthoner Substrate ist an den Verlust von Ciliatenbiovolumen gekoppelt. Sein Modell für stationäre Laborkulturen umfaßt also 3 Populationen:

1.) Ciliaten-Biovolumen (Räuber)
2.) Bakterienanzahl (Beute)
3.) autochthones Substrat.

Als DGL-System formuliert :

$$\frac{dc}{dt} = Y_c \frac{u_{max}\, b}{L + b} c - \gamma c \qquad \text{für die Biovolumendichte der Räuber} \qquad \textbf{(B.1)}$$

$$\frac{db}{dt} = - \frac{u_{max}\, b}{L + b} c + \frac{\mu_{max}\, s}{K + s} b \qquad \text{für die Zelldichte der Beute} \qquad \textbf{(B.2)}$$

$$\frac{ds}{dt} = Z_c \gamma c - \frac{1}{Y_b} \frac{\mu_{max}\, s}{K + s} b \qquad \text{für dieKonzentration des autochthonen Substrates} \qquad \textbf{(B.3)}$$

c, b und s bezeichnen die Population der Biovolumendichte der Ciliaten, die Zelldichte von *E.coli* und die Konzentration des autochthonen Substrates. Alle übrigen Größen sind in Tabelle B.1 erklärt.

Symbol	Wert	Parameter
u_{max}	1.8 #/µm³ h	maximale Aufnahmerate von *E.coli*-Zellen pro Biovolumen der Ciliaten
L	$7 \cdot 10^{10}$ #/l	Halbsättigungskonstante der Freßkinetik (Zellen/Volumen)
Y_c	0.17 µm³/#	Ausbeute an Ciliaten-Biovolumen/*E.coli*-Zelle
γ	0.022 /h	spezifische Biovolumenverlustrate der Ciliaten
Z_c	$5.9 \cdot 10^{-13}$ g/µm³	Ausbeute autochthonen Substrates pro Biovolumenverlust der Ciliaten
μ_{max}	0.44 /h	maximale spezifische Teilungsrate der Bakterien auf autochthonem Substrat
K	$5 \cdot 10^{-8}$ g/l	Halbsättigungskonstante der Teilungskinetik
Y_b	$3 \cdot 10^{12}$ #/g	Ausbeute an Bakterienzellen pro g Substrat

Tab . B.1: Parameter und ihre Werte aus dem von SAMBANIS (1985) erstellten "Saprotrophy"-Modell.

Für Simulationen wurde die skalierte Form dieses DGL-Systems betrachtet. Einige generelle Eigenschaften des Modells sollen im weiteren dargestellt werden. Folgende Skalierungen wurden vorgenommen:

$x = \frac{c}{b_0 Y_c}$ die dimensionslose Ciliatenpopulation,

$y = \frac{b}{b_0}$ die dimensionslose Bakterienpopulation ,

$z = \frac{s Y_b}{b_0}$ das dimensionslose autochthone Substrat,

$\tau = t \mu_{max}$ die dimensionslose Zeit und

$r_{max} = \frac{u_{max} Y_c}{\mu_{max}}$; $l = \frac{L}{b_0}$; $p = \frac{\gamma}{\mu_{max}}$; $A_c = Y_b Y_c Z_s$; $k = \frac{K Y_b}{b_0}$

wobei b_0 die in den Versuchen eingesetzte maximale Startkonzentration der Bakterienzelldichte ist (hier: 10^{12} #/l). Die skalierten DGL lauten:

$$\frac{dx}{d\tau} = \frac{r_{max}\, y}{l + y} - p\, x \tag{B.4}$$

$$\frac{dy}{d\tau} = -\frac{r_{max}\, y}{l + y}\, x + \frac{z}{k + z}\, y \tag{B.5}$$

$$\frac{dz}{d\tau} = A_c\, p\, x - \frac{z}{k + z}\, y \tag{B.6}$$

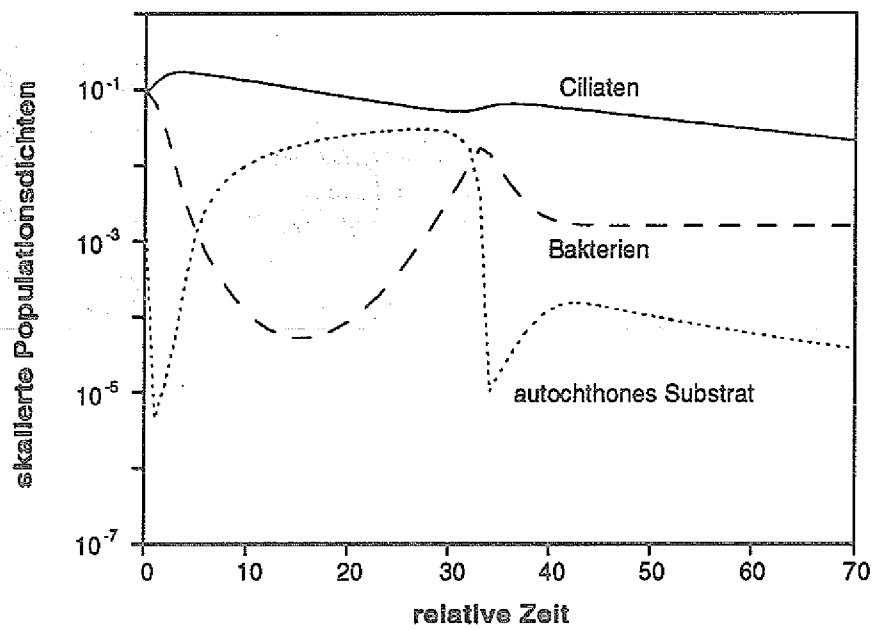


Abb. B.1: Simulation nach SAMBANIS (1985) mit den skalierten DGL 4, 5 & 6 (s. Text). Die Startbedingungen entsprechen den Angaben von SAMBANIS: x = 0.09, d.h. c = $1.53 \cdot 10^{10}$ $\mu m^3/l$; y = 0,1 d.h. b = 10^{11}/l; z = 0.00257, d.h. s = $8.57 \cdot 10^{-4}$ g/l

SAMBANIS (1985) wies in seiner Arbeit bereits darauf hin, daß die Vorhersagen dieses Modells besonders sensitiv von der Halbsättigungskonstanten *L* bzw. *l* der Freßkinetik der Räuber abhängen. Abbildung B.1 zeigt das Ergebnis einer Simulation mit einer Startzelldichte der Bakterien von 10^{11} #/l (y=0.1). Es stellt das beste Ergebnis dar. Die Vorhersage für 10^{12} *E.coli*-Zellen/l (Abb. B.2) zeigt eine weitere Problematik dieses Modells auf. Vergleicht man beide Vorhersagen mit den Versuchsergebnissen dieser Arbeit oder fremder Arbeitsgruppen (SAMBANIS, 1985; HABTE & ALEXANDER, 1978 a/b; CANALE *et al.*, 1973; JOST *et al.* 1973), so kann man folgende Probleme deutlich erkennen:

- Der Freßdruck der Räuberpopulation (Ciliaten-Biovolumen) auf die Beutepopulation ist zwischenzeitlich zu hoch (s. Abb. B.2) und anschließend zu gering.
- Das Modell ist zu empfindlich gegen Änderungen der Startbedingungen.

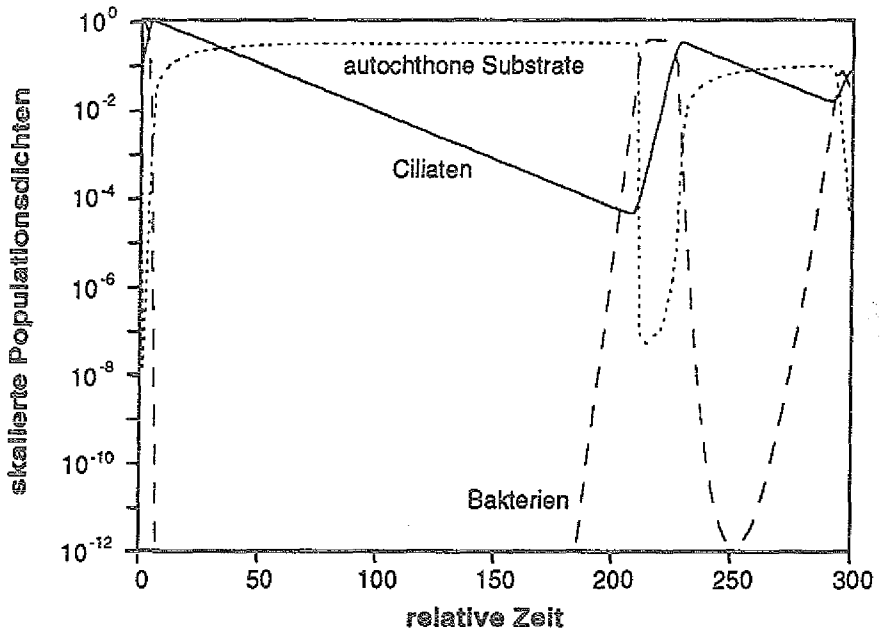


Abb. B.2: Simulation nach SAMBANIS (1985) mit den skalierten DGL 4, 5 & 6 (s. Text). Die Startbedingungen entsprechen den Angaben von SAMBANIS: x = 0.09, d.h. c = $1.53 \cdot 10^{10}$ $\mu m^3/l$; y =1, d.h. b = $10^{12}/l$; z = 0.00257, d.h. s = $8.57 \cdot 10^{-4}$ g/l.

B.2 Hypothesen zur Modifikation der Populationsstrukturierung und der Freßkinetik

Ausgehend von den Untersuchungen und Überlegungen von SAMBANIS (1985) können zwei Hypothesen aufgestellt werden, die eine sinnvolle und dabei relativ einfache Modifikation bisheriger DGL-Modelle darstellen:

- *Bezieht man die spezifische Freßrate nicht auf das Ciliaten-Biovolumen, sondern auf die Zellzahl, so kann nach den vorliegenden Experimenten davon ausgegangen werden, daß der Freßdruck langfristig stabiler bleibt, da die spezifischen Lysisraten teilweise nur 10 % der im Modell von SAMBANIS (1985) verwendeten Verlustrate betragen.* Diese Annahme ist schon von daher sinnvoll, da *Tetrahymena* über ein definiertes Nahrungsaufnahmeorganell (Cytostom) verfügt. Es wurden keine Hinweise gefunden, daß sich die Leistungsfähigkeit des Filtrations- und Ingestitionsapparates *proportional* zur Zellgröße erhöht (CURDS & COCKBURN, 1971). Ändert man stattdessen im Modell die spezifische Verlustrate (γ bzw. g), so zeigt sich ein ähnliches Verhalten der Populationen wie bei Variation der Startbedingung (vgl. Abb.

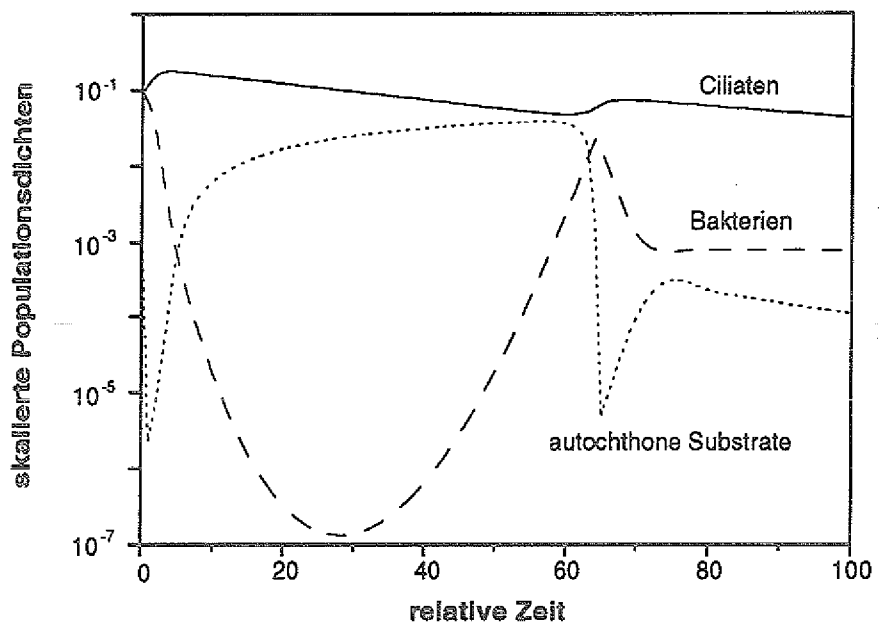


Abb. B.3: Simulation nach SAMBANIS (1985) mit den skalierten DGL 4, 5 & 6 (s. Text) und halbierter spezifischer Verlustrate der Ciliaten ($g = 0.025$ d.h. $\gamma = 0.011$ /h). Die Startbedingungen entsprechen den Angaben von SAMBANIS: $x = 0.09$, d.h. $c = 1.53 \cdot 10^{10}$ $\mu m^3/l$; $y = 0.1$, d.h. $b = 10^{11}/l$; $z = 0.00257$, d.h. $s = 8.57 \cdot 10^{-4}$ g/l.

B.2 & B.3): Die Bakterienpopulation bricht unrealistisch stark ein und zeigt im Vergleich zur Ausgangssimulation (Abb. B.1) eine zeitliche Verschiebung des Maximums. Eine Strukturierung der Ciliatenpopulation mit der dargestellten Konsequenz erfordert noch deutlicher eine Änderung der Aufnahme-Kinetik:

- *Die Freßkinetik entspricht nicht dem Monod-Typ (functional response Holling-Typ II), sondern besitzt eine sigmoide oder Offsetcharakteristik (Holling-Typ III),* denn bei niedrigen Beutedichten erscheint der Freßdruck generell zu hoch (s. Abb B.2, B.3). Eine Simulation, die eine sigmoide Kinetik berücksichtigt $\left(u = \frac{u_{max}\, b^2}{L^2 + b^2}\right.$ mit $u_{max} = 0.76$ #/μm^3 h, $L = 2 \cdot 10^{10}$ #/l bzw. $\left.\frac{r_{max}\, y^2}{l^2 + y^2}\right.$ in die Gleichungen 4 und 5 entsprechend eingesetzt, mit $r_{max} = 0.295$ und $l = 0.02\big)$, ist in Abbildung B.4 dargestellt. Dieser Befund würde die allgemeine Annahme, daß die spezifische Freßrate nicht enzystierender Ciliaten (Protozoen) dem Holling-Typ II entspricht, zumindest für *Tetrahymena* ausschließen (vgl. FENCHEL, 1980).

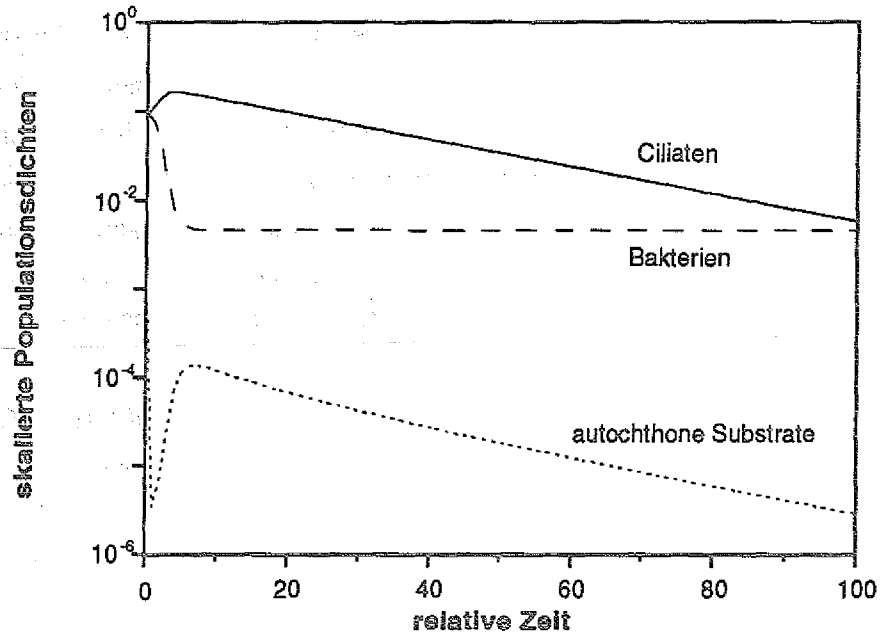


Abb. B.4: Simulation mit dem modifizierten "Saprotrophy-Modell", den DGL 4, 5 & 6 mit sigmoider Freßkinetik (s. Text). Die Startbedingungen entsprechen den Angaben von SAMBANIS: x = 0.09, d.h. $c_{Nv} = 1.53 \cdot 10^{10}\ \mu m^3/l$; y = 0.1, d.h. $b = 10^{11}/l$; z = 0.00257, d.h. $s = 8.57 \cdot 10^{-4}$ g/l.

Anhang C: Modelle zur Heterogenität in durchmischten Laborkulturen

Die einfache Anwendung von Differentialgleichungssystemen zur Beschreibung der Populationsdynamik von Mikroorganismen in Laborkulturen setzt eine homogene Verteilung der Organismen und Substrate in den Kulturen voraus. Dies ist jedoch nicht immer gewährleistet. Einige Veröffentlichungen zur Heterogenität in Laborkulturen behandeln Totraum- und Bypass-Effekte (BAILEY & OLLIS, 1986), und auf allgemeiner Ebene stellen NISBET & GURNEY (1982) die Problematik und Aspekte räumlicher Heterogenität vor. Hierauf wird im folgenden nicht eingegangen. Es soll hier der Tatsache Rechnung getragen werden, daß Durchmischungsvorgänge Zeit benötigen. So entstehen allein durch Substrateinträge räumlich-zeitliche Gradienten der Substratkonzentration. Kulturtechnik und Organismen gestalten die räumliche und zeitliche Verteilung. Es ist schwer zu berechnen, welche Auswirkungen diese Systemkomponente tatsächlich auf das Gesamtsystem und die daran vorgenommenen Messungen hat, da die exakte mathematische Beschreibung der Vorgänge (Substrataufnahme, Diffusion, Strömungen usw.) insgesamt kaum möglich ist.

Im folgenden sollen an einem stark vereinfachenden Modell die Auswirkungen der Heterogenität auf Aufnahme- und Wachstumsraten sowie die Populationsdynamik in kontinuierlichen und stationären Kulturen dargestellt werden.

C.1 Heterogenität in bakteriellen Chemostatenkulturen

Es wird angenommen, daß eine Laborkultur (Chemostat) aus zwei ideal durchmischten Kompartimenten mit den Volumina V_1 und V_2 besteht, zwischen denen Volumenströme (v_i) fließen (Abb. C.1). Die Konzentration an Substrat und Biomasse/Zellzahl in den Kompartimenten ist entsprechend s_1, b_1 und s_2, b_2. Dem Chemostaten fließt Medium mit der Substratkonzentration s_D und dem Volumenstrom v_0 zu. Die Abläufe aus den Kompartimenten verteilen sich den Kompartimentvolumina entsprechend.

Unter der Annahme einer Wachstums- und Substrataufnahmekinetik nach *Monod* und unter Berücksichtigung einer spezifischen Verlustrate der Biomasse (γ) läßt sich für dieses Modell ein Differentialgleichungssystem erstellen:

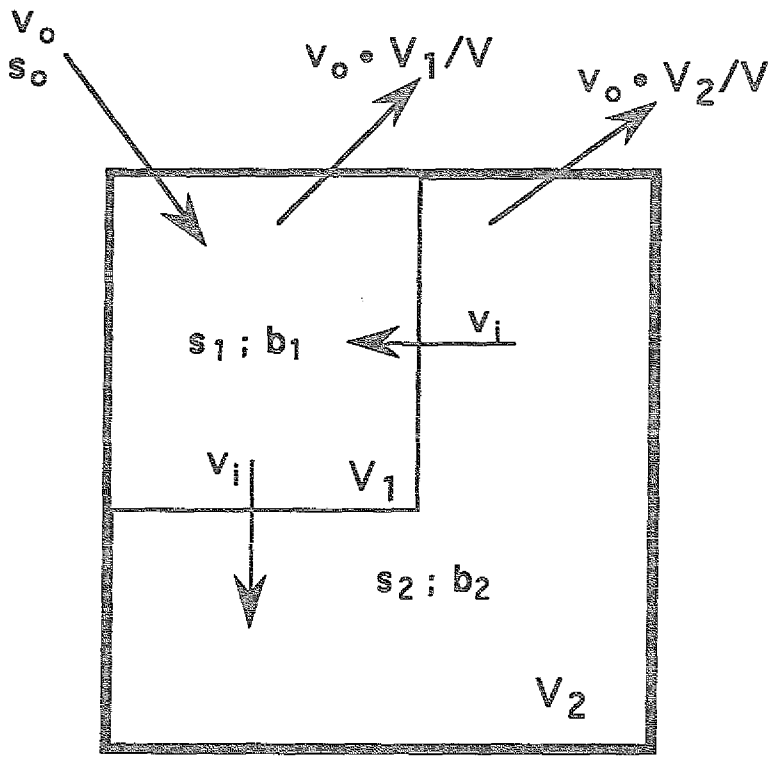


Abb. C.1: Schema eines heterogen durchmischten Chemostaten. (Erklärung s. Text)

$$V=V_1+V_2$$

$$\frac{d(s1\ V1)}{dt} = -\frac{1}{Y}\ \frac{\mu_{max}\ s_1}{K+s_1}\ b_1\ V_1 + vo\ s_D + v_1\ s_2 - v_1\ s_1 - vo\ \frac{V_1}{V}\ s1 \qquad \text{(C.1.1)}$$

$$\frac{d(s2\ V2)}{dt} = -\frac{1}{Y}\ \frac{\mu_{max}\ s_2}{K+s_2}\ b_2\ V_2 + v_1\ s_1 - v_1\ s_2 - vo\ \frac{V_2}{V}\ s2 \qquad \text{(C.1.2)}$$

$$\frac{d(b_1\ V_1)}{dt} = \frac{\mu_{max}\ s_1}{K+s_1}\ b_1\ V_1 + v_1\ b_2 - v_1\ b_1 - vo\ \frac{V_1}{V}\ b_1 - \gamma\ b_1 \qquad \text{(C.1.3)}$$

$$\frac{d(b_2\ V_2)}{dt} = \frac{\mu_{max}\ s_2}{K+s_2}\ b_2\ V_2 + v_1\ b_1 - v_1\ b_2 - vo\ \frac{V_2}{V}\ b_2 - \gamma\ b_2\ V \qquad \text{(C.1.4)}$$

Es sei die Kompartimentierung so gewählt, daß $s_2 \approx 0$ und $b_1 \approx b_2 \approx b$ ist. Das Substrat stünde dann den Organismen nur im ersten Kompartiment zur Verfügung.

Die Größe dieses Kompartiments soll mit besserer Durchmischung und steigenden Substratkonzentrationen zunehmen und mit der Organismendichte abnehmen (Substratverbrauch). Es sei

$$V_1 = V\ \frac{s}{s+F\ b} \qquad \text{(C.2)}$$

wobei F eine Konstante ist, die die durchmischungstechnischen Eigenschaften des Chemostaten repräsentiert.

Ferner sei

$$\frac{d(s\,V)}{dt} = \frac{d(s_1\,V_1)}{dt} + \frac{d(s_2\,V_2)}{dt} \tag{C.3.1}$$

und

$$\frac{d(b\,V)}{dt} = \frac{d(b_1\,V_1)}{dt} + \frac{d(b_2\,V_2)}{dt} \tag{C.3.2}$$

Durch Einsetzen entsprechend den zuvor gemachten Bedingungen erhält man

$$\frac{d(s\,V)}{dt} = -\frac{1}{Y}\,\frac{\mu_{max}\;s_1}{K + s_1}\,b\;V\,\frac{s}{s + F\;b} + vo\;(s_D - s) \tag{C.3.3}$$

$$\frac{d(b\,V)}{dt} = \frac{\mu_{max}\;s_1}{K + s_1}\,b\;V\,\frac{s}{s + F\;b} - vo\;b - \gamma\;b\;V \tag{C.3.4}$$

Durch Substitution $s_1 = s\;V/V_1$, Umstellung und Normieren der Gleichungen C.3.3 und C.3.4 auf das Volumen V ergibt sich

$$\frac{ds}{dt} = -\frac{1}{Y}\,\frac{\mu_{max}\;s}{K + F\;b + s}\,b + D\;(s_D - s) \tag{C.3.5}$$

$$\frac{db}{dt} = \frac{\mu_{max}\;s}{K + F\;b + s}\,b - (D + \gamma)\;b \tag{C.3.6}$$

wobei D die Durchflußrate ist.

Damit lassen sich die Gleichgewichtskonzentrationen für s und b errechnen. Zwei Zustände des Systems sind offensichtlich:

1. Auswaschen der Biomasse: $\tilde{b} = 0, \tilde{s} = s_D$;
2. Verbleib der Biomasse im Chemostaten:

$$\tilde{s} = \frac{D\;Y\;F\;s_D + (D + \gamma)\;K}{\mu_{max} - (D + \gamma) + D\;Y\;F} \tag{C.4.1}$$

$$\tilde{b} = Y\,\frac{D}{(D+\gamma)}\,(s_D - \tilde{s}) \tag{C.4.2}$$

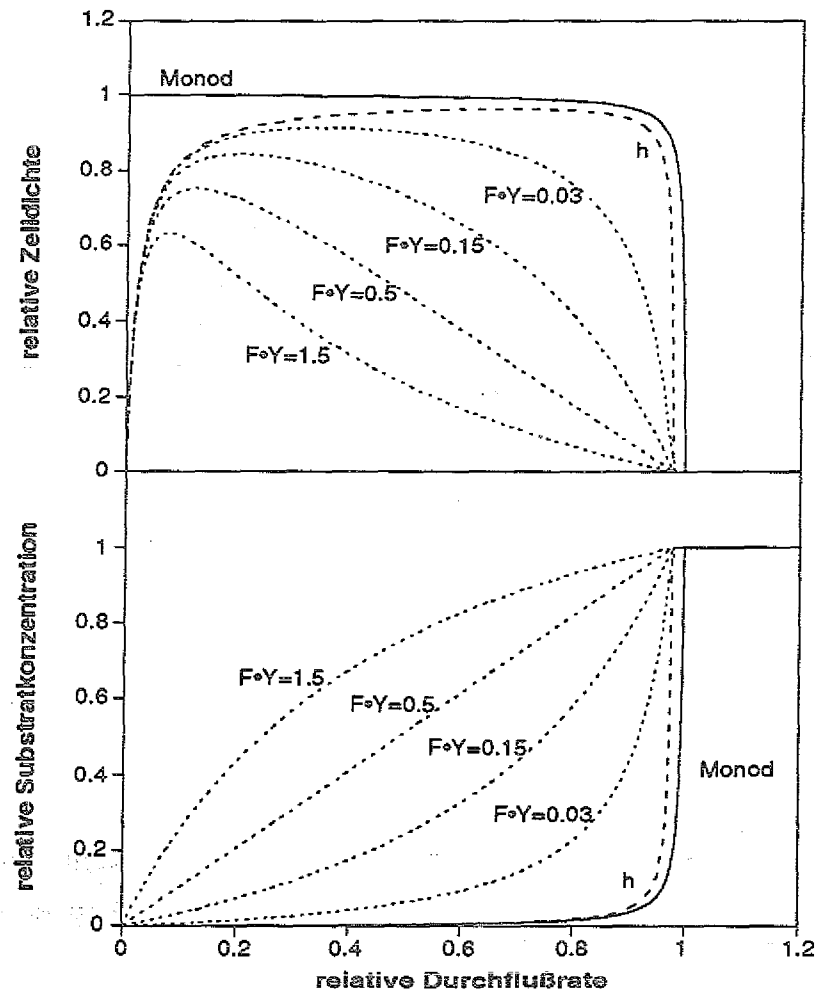


Abb. C.2: Auswirkung von Heterogenität auf die Gleichgewichtskonzentrationen an Biomasse und Substrat im heterogen durchmischten Chemostaten. *h* kennzeichnet die Kurven für den homogenen Chemostaten mit Monod-Kinetik und endogenen Verlusten. Die Maßangaben sind für die Zelldichte und Substratkonzentration relativ zur maximalen Dichte bzw. Konzentration und für die Durchflußrate relativ zur maximalen spezifischen Wachstumsrate der Zellen (Bakterien) angegeben. *F* ist in Relation zu Y (dem Ausbeutekoeffizienten) gesetzt. (Symbole s. Text)

Abbildung C.2 zeigt das Verhalten von $\bar{s}$ und $\bar{b}$ in Abhängigkeit von D und F. Abbildung C.3 verdeutlicht die Abhängigkeit der mittleren spezifischen Wachstumsrate von der Populationsdichte. Die individuellen spezifischen Wachstumsraten können davon extrem abweichen, da die Kurve nur eine Mittelung über alle Individuen (B) im Reaktor darstellt:

$$\bar{\mu} = \frac{\sum_{i=1}^{b} \mu_i}{B} \qquad \text{(C.5).}$$

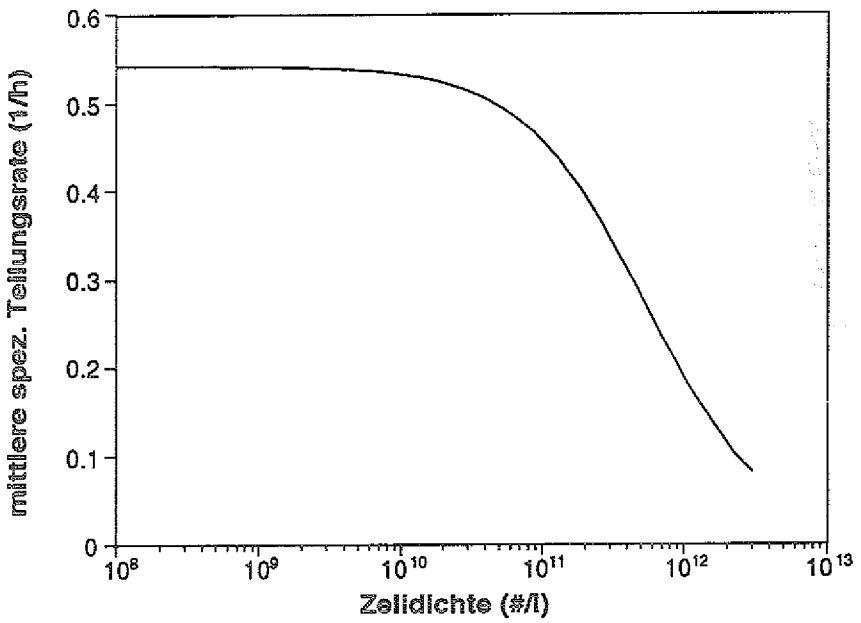


Abb.C.3: Abhängigkeit der mittleren spezifischen Wachstumsrate von der Populationsdichte bei konstanter Substratkonzentration und Durchmischung.

Die Gleichgewichtsregime für die Auswaschung und Anwesenheit von Biomasse im Reaktor ändern sich im Vergleich eines homogen mit einem heterogen durchmischten Chemostaten nicht. Für die Grenze zwischen beiden Gleichgewichtsregimen gilt im homogenen Chemostaten

$$s_D = \frac{(D+\gamma)\ K}{\mu_{max} - (D+\gamma)} \qquad \text{(C.6.1)}$$

und für den heterogenen Chemostaten

$$s_D = \frac{D\ Y\ F\ s_D + (D+\gamma)\ K}{\mu_{max} - (D+\gamma) + D\ Y\ F} \qquad \text{(C.6.2).}$$

Durch Äquivalenzumformung läßt sich die Gleichung C.6.2 zur Identität mit Gleichung C.6.1 führen.

(Extreme) Unterschiede offenbaren sich jedoch in den Gleichgewichtskonzentrationen (Abb. C.2) . Wie aus den Termen der spezifischen Wachstumsrate in den Gleichungen C.3.4 und C.3.6 ersichtlich wird, wirkt die mangelnde Durchmischung sich im wesentlichen als zelldichteabhängige Verfälschung der Halbsättigungskonstanten (K) der Monod-Kinetik aus.

Der Fehler läßt sich direkt aus der Gleichung für die Gleichgewichtskonzentration des Substrates berechnen, da $s_{(\mu_{max}/2)}$ den apparenten K-Wert (K_{app}) angibt. Es ist

$$K_{app} = \frac{\left(\frac{\mu_{max}}{2} + \gamma\right) K + Y F \frac{\mu_{max}}{2} s_D}{\frac{\mu_{max}}{2} (1 + Y F) + \gamma} \qquad (C.7).$$

Für die Bedingungen in Abbildung C.2 ($F \cdot Y = 0.03$) ergäbe sich ein Fehler um den Faktor 10.

Völlig unbeeinflußt ist dagegen der Auswaschpunkt (D_{krit}) und damit die mit dem Chemostaten bestimmbare spezifische Wachstumsrate der Organismen (μ_{max}). Ebenfalls läßt sich nach wie vor mit der von PIRT (1975) vorgeschlagenen Methode aus der Gleichung C.4.2 der "tatsächliche Yield" (Y) ermitteln:

$$\frac{1}{Y_g} = \frac{(s_D - \bar{s})}{\bar{b}} = \frac{1}{Y} + \frac{\gamma}{Y} \frac{1}{D} \qquad (C.8).$$

In der Praxis ist jedoch kaum zu erwarten (vgl. 3.2), daß alle notwendigen Parameter ohne größeren Aufwand hinreichend exakt bestimmt werden können. Ferner sind diese Ausführungen eine theoretische Abschätzung der Heterogenitätseffekte. Praktische Verfahren schlagen beispielsweise BAILEY & OLLIS (1986) vor. Eine Korrelation zu biologischen Prozessen wurde aber nicht beschrieben.

C.2 Heterogenität in stationären Kulturen

Welche Auswirkungen ergeben sich für stationäre Kulturen ?

Deutliche Effekte zeigen sich im Abknickverhalten der Wachstumskurven beim Übergang in die stationäre Phase (Abb. C.4) und in der maximalen Zelldichte. Dieser Effekt prägt sich in Abhängigkeit von den spezifischen Verlusten mehr oder weniger deutlich aus.

Zöge man zur Bestimmung der kinetischen Daten eines Bakterienstammes eine Serie von stationären Kulturen heran, die mit unterschiedlichen Substratkonzentrationen gestartet wurden, so kann die Heterogenität dann vernachlässigt werden, wenn die Startzelldichten hinreichend gering waren (s. Abb. C.3 & C.4). Im Vergleich zur idealen Durchmischung liegt der Fehler bei der Bestimmung von K und μ_{max} unter 5% (geschätzt nach Simulation, Ermittlung von μ durch log-lineare Regression an exponentielle Wachstumsphase, Anpassung der Monod-Kinetik mit Lineweaver-Burk-Plot). Der methodische Fehler bei der Datenaufbereitung liegt oft darüber, hinzu kommt der methodische Fehler der Probennahme.

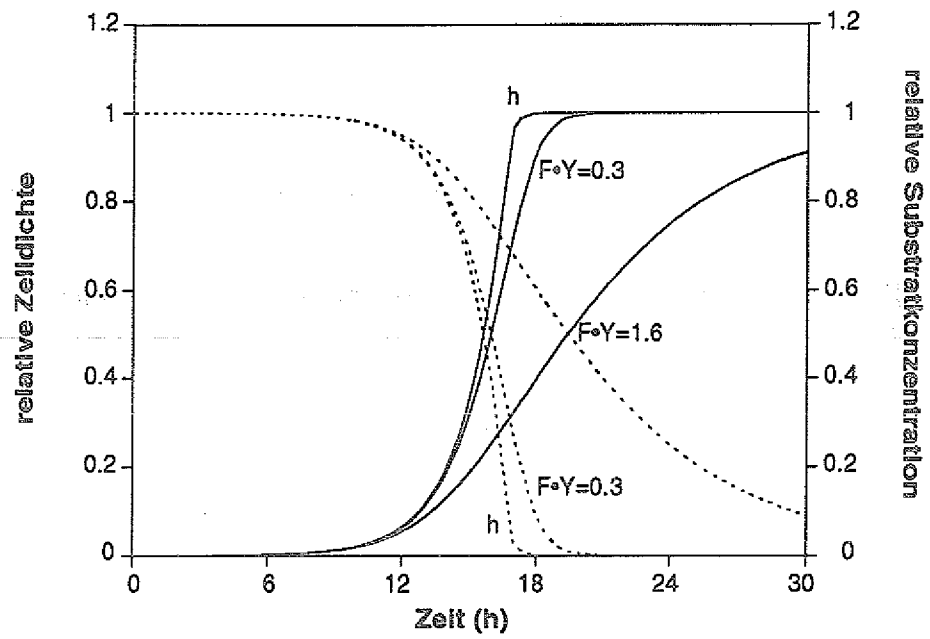


Abb. C.4: Simulation der Auswirkung von mangelnder Durchmischung auf eine stationäre Laborkultur. *h* kennzeichnet den Fall der homogenen Durchmischung, *F •Y* Fälle der Inhomogenität (vgl. Abb. C.2).

Zumindest für kontinuierliche Kulturen und je nach Fragestellung auch für stationäre kann es wichtig sein, die Größe *F* abzuschätzen.

Eine Möglichkeit besteht darin, stationäre Laborkulturen gleicher Substratkonzentration bei unterschiedlichen Zelldichten zu starten. Es sollte eine hohe Substratkonzentration im Vergleich zum Substratbedarf über den Meßzeitraum eingesetzt werden, da somit die Änderung der Substratkonzentration relativ gering ist und die Substratkonzentration als annähernd konstant angesehen werden kann.

F kann dann z.B. folgendermaßen ermittelt werden:

Es ist

$$\mu = \frac{\mu_{max}\ s}{K + s + F\ b} \qquad \text{(C.9.1)}$$

durch Umformung erhält man

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K+s}{\mu_{max}\ s} + \frac{1}{\mu_{max}} + F\ \frac{b}{s} \qquad \text{(C.9.2).}$$

Dies ist für ein annähernd konstantes *s* eine Geradengleichung der Form z= m y + n, wobei y = b/s und m = F ist, so daß *F* aus der Steigung der Geradengleichung bestimmt werden kann. Für *E.coli* wurde ein solcher Versuch (s. 3.2) unternommen, der allerdings ein unerwartetes Ergebnis erbrachte.

C.3 Interner Substrateintrag

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten stationären Laborkulturen spielt der externe Substrateintrag nur bei der Anzucht der Organismen eine Rolle. In den Hauptversuchen (s. 4) treten nur intern freigesetzte (autochthone) Substrate auf, die von den Organismen durch Exkretion und Lysis in das Medium gelangen. Da ein Räuber-Beute-System untersucht wurde, können die autochthonen Substrate von beiden Populationen gebildet werden. Obwohl wahrscheinlich eine Vielzahl unterschiedlicher Substrate freigesetzt wird, sollen diese im Modell jedoch als ein (Modell-)Substrat behandelt werden (s. 3.6.1). Folglich kann Gleichung C.9.1 auch auf autochthone Substrate übertragen werden.

C.4 Auswirkung von Heterogenität auf sigmoide Wachstumskinetiken

In verschiedenen Arbeiten (JOST *et al.*, 1973 a/b; DRAKE & TSUCHIYA, 1977; CUNNINGHAM & NISBET, 1983) werden statt Wachstumskinetiken nach Monod sigmoide Wachstumskinetiken beschrieben. Die Modifikation einer derartigen Kinetik durch Inhomogenität der Kultur wird in diesem Abschnitt beschrieben.

Die Formel

$$\mu = \frac{\mu_{max}\ s^2}{K^2 + s^2} \qquad \text{(C.10)}$$

stellt eine sigmoide Wachstumskinetik für homogene Kulturen dar. Analog den Formulierungen in den Gleichungen C.2, C.3.3-4 ergibt sich für eine heterogene Kultur folgender Ansatz:

$$\mu = \frac{\mu_{max}\ s_1^2}{K^2 + s_1^2}\ \frac{s}{s + F\ b} \qquad \text{(C.11.1)}$$

mit $s_1 = s\ \frac{V}{V_1}$ ergibt sich dann

$$\mu = \frac{\mu_{max}\ s^2\ V^2}{K^2\ V_1^2 + s^2\ V^2}\ \frac{s}{s + F\ b} \qquad \text{(C.11.2)}$$

und aus Gleichung C.2 und nach Kürzen folgt

$$\mu = \frac{\mu_{max}}{K^2\ \frac{1}{(s + F\ b)^2} + 1} \cdot \frac{s}{s + F\ b} \qquad \text{(C.11.3)}$$

Nach Erweitern mit (s+F b) ergibt sich

$$\mu = \frac{\mu_{max}\ s\ (s + F\ b)}{K^2 + (s + F\ b)^2} \qquad \text{(C.11.4)}$$

Für viele Fälle hinreichend genau dürfte auch folgende Vereinfachung sein:

$$\mu = \frac{\mu_{max}\ s^2}{K^2 + s^2 + F^2\ b^2} \qquad \text{(C.11.5)}$$

C.5 Freßkinetiken unter Berücksichtigung von Inhomogenitäten der Beuteverteilung in den Kulturen

Entsprechend den Wachstumskinetiken für Bakterien lassen sich mathematische Formulierungen für die Freßkinetik von Protozoen herleiten:

$$u = \frac{u_{max}\ b}{L + b + F\ c} \qquad \text{(C.12.1)}$$

$$u = \frac{u_{max}\ b\ (b + F\ c)}{L^2 + (b + F\ c)^2} \qquad \text{(C.12.2)}$$

$$u = \frac{u_{max}\ b^2}{L^2 + b^2 + F^2\ c^2} \qquad \text{(C.12.3)}$$

wobei u die spezifische Freßrate, u_{max} die maximale spezifische Freßrate, L die "Halbsättigungskonstante", b die Beutedichte, c die Räuberdichte und F den Einfluß der Inhomogenität definiert.

Anhang D: Modelle zum Populationswachstum von Bakterien auf verschiedenen Substraten

In Kapitel 3.6 werden verschiedene Möglichkeiten der Herkunft bakterienbürtiger autochthoner Substrate und das Wachstum der Bakterien auf allochthonen und autochthonen Substraten diskutiert. In diesem Kapitel werden die Differentialgleichungsmodelle vorgestellt, mit denen die Simulationen zum Vergleich der verschiedenen Modellvorstellungen durchgeführt wurden.

Einerseits beziehen sich die Modelle also auf die Koordination der Aufnahme autochthoner und allochthoner Substrate. Mögliche Aufnahmekinetiken wurden in Kapitel 3.6.1, Tabelle 3.9 vorgestellt. Von diesen Kinetiken wurde die "Antagonistische Kinetik" ausgewählt, da sie wahrscheinlich die Wechselwirkung verschiedener Substrate mit der in den Versuchen verwendeten Glucose am besten beschreibt.

Andererseits dienen die Modelle der Erörterung der Herkunft autochthoner Substrate. Hier können deskriptiv zwei Prozesse unterschieden werden:

1. Freisetzung in Ankoppelung an Lysis und Grundstoffwechsel,
2. Freisetzung in Ankoppelung an den direkten Umsatz des allochthonen Substrates.

In den Simulationen wurden die gleichen Parameter für die Wachstumskinetiken mit autochthonen und allochthonen Substraten gewählt. Ausgehend davon wurden die Halbsättigungskonstanten (K_1, K_2) gegeneinander variiert ($0.1\ K_2 < K_1 < 10\ K_2$), so daß sich die Gewichtung der Kinetiken im nicht gesättigten Bereich verschiebt. Neben hyperbolischen Kinetiken wurden Modelle mit sigmoiden Wachstumskinetiken untersucht, die aber keine qualitativ neuen Aspekte offenbarten. Sie sind daher nicht ausführlich dargestellt. (In den folgenden Modellen wären die Terme der hyperbolischen Kinetiken entsprechend durch $\frac{\mu_{max_x}\ s_x^2}{K_x^2 + s_x^2 + s_y\ K_{i_y}}$ zu ersetzen.) Die Simulationen wurden mit skalierten Gleichungssystemen durchgeführt.

D.1 Modelle der bakteriellen Substratverwertung und Substratfreisetzung durch Lysis und Grundstoffwechsel

Die Basisparameter für die Simulation des Wachstums von *E.coli* auf Glucose wurden entsprechend den Ergebnissen in Tabelle D.1 aufgeführt. Abgeleitete Parameter, die nicht direkt aus den Messungen ermittelt werden konnten, sondern auf Schätzungen beruhen oder frei gewählt wurden, sind in Tabelle D.2 dargestellt.

Symbol	Wert	Parameter
b	10^9 µm³/l für t=0h	bakterielles Biovolumen
s_2	0.5 g/l für t=0h	allochthones Substrat = Glucose
s_1	0 g/l für t=0h	autochthones Substrat
s_0	0.5 g/l	maximale Startkonzentration f. allochthones Substrat, Glucose
μ_{max2}	0.424 /h; (0.409/h) *	maximale spezifische Biovolumenwachstumsrate auf Glucose
K_2	0.013 g/l; (0.024 g/l) *	Halbsättigungskonstante der allochthonen Wachstumskinetik
Y_2	$7.92 \cdot 10^{11}$ µm³/g	Biovolumen-Ausbeutekoeffizient (Yield) für Glucose
γ	0.008 /h	spezifische Biovolumenverlustrate

Tab. D.1: Basisparameter der Simulation auf der Grundlage von Meßergebnissen und Auswertung. * Werte für sigmoide Kinetiken.

Symbol	Wert	Parameter
μ_{max1}	0.424 /h; (0.409/h) *	maximale spezifische Biovolumenwachstumsrate auf autochthonem Substrat
K_1	0.013 g/l; (0.024 g/l) *	Halbsättigungskonstante der autochthonen Wachstumskinetik
$K_{i1} = K_{i2}$	0.1	Hemmkonstante im antagonistischen Modell
Y_1	$7.92 \cdot 10^{11}$ µm³/g	Biovolumen-Ausbeutekoeffizient (Yield) für autochthones Substrat
Z_b	$1.26 \cdot 10^{-12}$ g/µm³	Ausbeute autochthonen Substrats aus Biovolumenverlusten

Tab. D.2: Abgeleitete Parameter, die nicht direkt gemessen wurden. Als Ausgangswerte der Größen für die Simulation wurden sie den Glucose-bezogenen Werten in Tabelle D.1 gleichgesetzt. * Werte für sigmoide Kinetiken.

Das antagonistische Modell nimmt an, daß die spezifische Wachstumsrate der Bakterienpopulation sich additiv aus den spezifischen Wachstumsraten für die einzelnen Substrate zusammensetzt. Allerdings hemmt das eine Substrat die Umsetzung des anderen! Dies wäre z.B. für Glucose im Rahmen der Katabolit-Repression (SCHLEGEL, 1985) denkbar. Das Gleichungssystem lautet:

$$\frac{db}{dt} = \left(\frac{\mu_{max1}\, s_1}{K_1 + s_1 + s_2\, K_{i2}} + \frac{\mu_{max2}\, s_2}{K_2 + s_2 + s_1\, K_{i1}}\right) b - \gamma\, b$$

$$\frac{ds_1}{dt} = -\frac{1}{Y_1}\, \frac{\mu_{max1}\, s_1}{K_1 + s_1 + s_2\, K_{i2}}\, b + Z_b\, \gamma\, b$$

$$\frac{ds_2}{dt} = -\frac{1}{Y_2}\, \frac{\mu_{max2}\, s_2}{K_2 + s_2 + s_1\, K_{i1}}\, b$$

Skalierung: $\tau = t\, \mu_{max2}$; $y = \frac{b}{Y_2\, s_0}$; $z_1 = \frac{s_1}{s_0}$; $z_2 = \frac{s_2}{s_0}$;

$k_1 = \frac{K_1}{s_0}$; $k_2 = \frac{K_2}{s_0}$; $k_{i1} = K_{i1}$; $k_{i2} = K_{i2}$; $p = \frac{\gamma}{\mu_{max2}}$

$r_{max1y} = \frac{\mu_{max1}}{\mu_{max2}}$; $1 = \frac{Y_1}{Y_2}$; $A_y = Z_b\, Y_2$

Skalierte Gleichungen:

$$\frac{dy}{d\tau} = \left(\frac{r_{max1y}\, z_1}{k_1 + z_1 + z_2\, k_{i2}} + \frac{z_2}{k_2 + z_2 + z_1\, k_{i1}}\right) y - p\, y$$

$$\frac{dz_1}{d\tau} = -b_1 \frac{r_{max1y}\, z_1}{k_1 + z_1 + z_2\, k_{i2}}\, y + A_y\, p\, y$$

$$\frac{dz_2}{d\tau} = -\frac{z_2}{k_2 + z_2 + z_1\, k_{i1}}\, y$$

D.2 Modelle der bakteriellen Substratverwertung und Substratfreisetzung in Kopplung an den Glucoseumsatz

Das folgende Modell setzt die Freisetzung autochthoner Substrate in direkte Beziehung zum Umsatz des allochthonen Substrates (Glucose). Daher mußten die Größen $\alpha = 1.3$ (Umsetzungsfaktor für Glucose) und $\beta = 1$ (Ausbeutekoeffizient für autochthones Substrat) eingeführt werden. Alle übrigen Parameter entsprechen denen der Tabellen D.1 & D.2. Die Simulationen wurden wieder mit skalierten DGL durchgeführt.

Ausgangsgleichungssystem:

$$\frac{db}{dt} = \left(\frac{\mu_{max1}\, s_1}{K_1 + s_1 + s_2\, K_{i2}} + \frac{\mu_{max2}\, s_2}{K_2 + s_2 + s_1\, K_{i1}}\right) b - \gamma\, b$$

$$\frac{ds_1}{dt} = -\frac{1}{Y_1}\, \frac{\mu_{max1}\, s_1}{K_1 + s_1 + s_2\, K_{i2}}\, b + (\alpha - 1)\, \beta \frac{1}{Y_2}\, \frac{\mu_{max2}\, s_2}{K_2 + s_2 + s_1\, K_{i1}}\, b$$

$$\frac{ds_2}{dt} = -\alpha \frac{1}{Y_2}\, \frac{\mu_{max2}\, s_2}{K_2 + s_2 + s_1\, K_{i1}}\, b$$

Skalierung:

$$\tau = t\, \mu_{max2}\ ;\quad z_1 = \frac{s_1}{s_0}\ ;\quad z_2 = \frac{s_2}{s_0}\ ;\quad y = \frac{b}{Y_2\, s_0}\ ;$$

$$k_1 = \frac{K_1}{s_0}\ ;\quad k_2 = \frac{K_2}{s_0}\ ;\quad k_{i1} = K_{i1}\ ;\quad k_{i2} = K_{i2};\quad p = \frac{\gamma}{\mu_{max2}}\ ;$$

$$r_{max1y} = \frac{\mu_{max1}}{\mu_{max2}};\quad \alpha = \frac{\alpha\, \mu_{max2}}{\mu_{max2}}\ ;\quad 1 = \frac{Y_2}{Y_1}\ ;$$

$$A_y = \frac{(\alpha - 1)\, \beta\, \mu_{max2}}{\mu_{max2}}$$

Skalierte Gleichungen:

$$\frac{dy}{d\tau} = \left(\frac{r_{max1y}\, z_1}{k_1 + z_1 + z_2\, k_{i2}} + \frac{z_2}{k_2 + z_2 + z_1\, k_{i1}}\right) y - p\, y$$

$$\frac{dz_1}{d\tau} = -\frac{r_{max1y}\, z_1}{k_1 + z_1 + z_2\, k_{i2}}\, y + A_y\, \frac{z_2}{k_2 + z_2 + z_1\, k_{i1}}\, y$$

$$\frac{dz_2}{d\tau} = -\frac{\alpha\, z_2}{k_2 + z_2 + z_1\, k_{i1}}\, y$$

Anhang E: Betrachtungen zur Abhängigkeit der spezifischen Freßrate von der Räuberpopulation

E.1 Allgemeine Darstellung der spezifischen Freßrate (functional response)

E.1.1 Einfache functional response Holling Typ I

Ein Räuber, der pro Zeiteinheit den Bruchteil α seines Habitats nach Beute (b) absucht oder filtriert, trifft auf $\alpha \cdot b$ Beuteindividuen. Gelingt es ihm, den Anteil β der Beutetreffer zu ingestieren, so hat er in einem Zeitraum (T)

$$U_{(b)}=T\,\alpha\,\beta\,b \qquad \textbf{(E.1)}$$

Beuteindividuen ausfiltriert (functional response Holling Typ I). Aus organischen Gründen wird $U_{(b)}$ im Zeitraum T jedoch keine beliebig großen Werte annehmen, sondern eine obere Grenze U_{max} haben. (Abb. E.1)

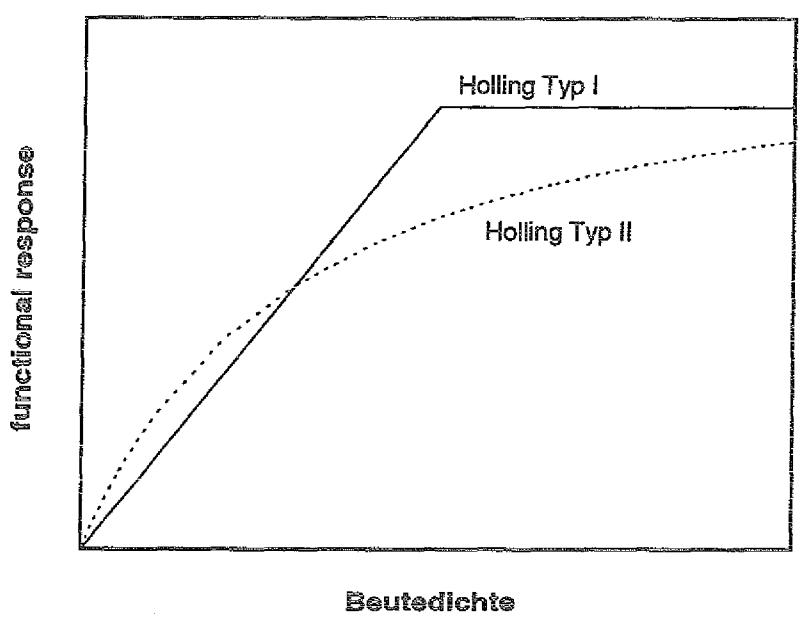


Abb E.1: Graphen der spezifischen Freßrate (functional response) Holling Typ I & II.

E.1.2 Einfache functional response Holling Typ II

Benötigt der Räuber jedoch einen gewissen Zeitraum (*handling time*; T_h) die Beute aus dem Fangorgan/Fangorganell heraus zu ingestieren, und steht ihm dieser Fangapparat erst dann wieder voll funktionsfähig zur Verfügung, wenn er (teilweise) von Beutepartikeln befreit ist, so bleibt ihm von dem Zeitraum T nur die Zeit T_s, um effektiv zu filtrieren:

$$T_s = T - T_h U_{(b)}.$$

Es ist dann: $$U_{(b)} = T_s \alpha \beta b = (T - T_h U_{(b)}) \alpha \beta b \qquad \text{(E.2.1)}$$

und nach Umstellung ergibt sich: $$\frac{U_{(b)}}{T} = \frac{\frac{1}{T_h} b}{\frac{1}{T_h \alpha\beta} + b} \qquad \text{(E.2.2)}$$

bzw. nach Substitution $$u_{(b)} = \frac{u_{max}\, b}{L + b} \qquad \text{(E.2.3)}$$

(s. Abb. E.1)

E.1.3 Einfache functional response Holling Typ III und weitere Ableitungen

Steigert ein Räuber mit zunehmender Beutedichte seine Anstrengung, Beute zu fangen (also z.B. $\alpha = \alpha' b$) so ergibt sich nach Einsetzen in Formel E.2.1

$$U_{(b)} = T_s \alpha' b \beta b = (T - T_h U_{(b)}) \alpha' \beta b^2 \qquad \text{(E.3.1)}$$

und nach Umstellung und Substitution gemäß den Formeln E.2.2 und E.2.3

$$u_{(b)} = \frac{u_{max}\, b^2}{L^2 + b^2} \qquad \text{(E.3.2)}$$

(functional response Holling Typ III; Abb. E.2)

Wählt man $\alpha = \alpha' b^n$ statt des linearer Ansatzes so ergibt sich

$$u_{(b)} = \frac{u_{max}\, b^n}{L^n + b^n} \qquad \text{(E.3.3)}$$

Die Kinetik E.3.3 zeigt entsprechend dem Exponenten *n* einen steileren Anstieg, wenn n>2 ist (functional response Holling Typ III). Ist n<1, dann ergibt sich eine Kinetik, wie sie zum Vergleich in Abbildung E.2 dargestellt wurde.

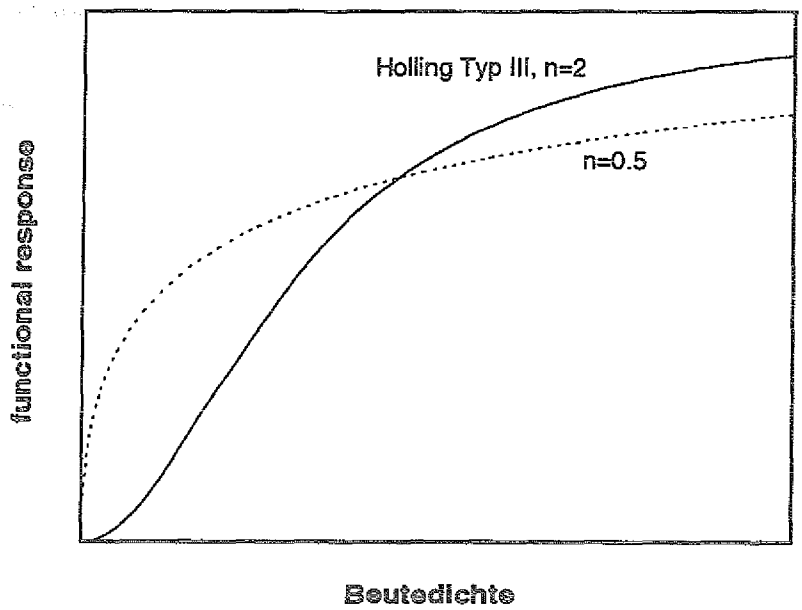


Abb. E.2: Graphen einer spezifischen Freßrate (functional response) Holling Typ III und einer spezifischen Freßrate nach Formel E.3.3 mit n<1.

E.2 Die spezifische Freßrate in Abhängigkeit von der Räuberpopulation

E.2.1 Verminderung des Jagdareals

Bei hohen Räuberdichten (c_N) ist es denkbar, daß sich für die einzelnen Räuber der Anteil des "durchsuchten" Habitats vermindert, da sie sich direkt oder indirekt behindern.

So sei $\alpha = \frac{\alpha'}{c_N{}^m}$

Durch entsprechendes Einsetzen in die Formeln E.1, E.2.2 und E.3.1 ergeben sich schließlich

für die functional response Holling Typ I: $$u(b) = \frac{\alpha'}{c_N{}^m}\beta\, b \qquad \text{(E.4.1)}$$

für die functional response Holling Typ II: $$u(b) = \frac{u_{max}\, b}{L\, c_N{}^m + b} \qquad \text{(E.4.2)}$$

für die functional response Holling Typ III: $$u(b) = \frac{u_{max}\, b^2}{L^2\, c_N{}^m + b^2} \qquad \text{(E.4.3)}$$

Für einen Exponenten m=1 ergibt sich aus Formel E.4.2 der von CURDS & COCKBURN (1968) hergeleitete Typ der functional response, mit dem sie ihre Daten interpretierten.

E.2.2 Einfluß einer räuberdichteabhängigen "handling time"

Bei hohen Räuberdichten ist es wahrscheinlich, daß Räuber einander begegnen. Für Ciliaten wie *Tetrahymena* mag das bedeuten, daß sie Zeit für Ausweichreaktionen, Neuorientierung o.ä. benötigen, bevor sie wieder koordiniert Nahrung fangen bzw. filtrieren können. Ein Räuber trifft also in einer Zeiteinheit nicht nur α b Beuteorganismen sondern auch $\alpha\, c_N$ Räuber. Für eine solche Begegnung verliert er eine zusätzliche Zeitspanne (T_{hc}), die er nicht mit Nahrungssuche verbringen kann. Seine Suchzeit ist also $T_s = T - T_h\, U_{(b,c_N)} - T_{hc}\, \alpha\, c_N$. Ausgehend vom Fall einer functional response Holling Typ II ergibt sich dann

$$U_{(b,c_N)} = T_s\, \alpha\, \beta\, b = (T - T_{hc}\, \alpha\, c_N - T_h\, U_{(b,c_N)})\, \alpha\, \beta\, b \qquad \text{(E.5.1)}$$

und nach Umstellung

$$U_{(b,c_N)} = \frac{\dfrac{T - T_{hc}\, \alpha\, c_N}{T_h}\, b,}{\dfrac{1}{T_h\, \alpha\beta} + b} \qquad \text{(E.5.2)}$$

bzw. nach Substitution

$$u_{(b,c_N)} = \frac{(u_{max} - F'\, c_N)\, b}{L + b} \qquad \text{(E.5.3)}$$

In allgemeinerer Formulierung erhielte man:

$$u_{(b,c_N)} = \frac{(u_{max} - F'\, c_N)\, b^n}{L^n + b^n} \qquad \text{(E.5.4)}$$

E.2.3 Heterogenität in Laborkulturen und gemischte Modifikationen

Entsprechend den Wachstumskinetiken für Bakterien in inhomogenen Laborkulturen lassen sich mathematische Formulierungen für die Freßkinetik von Protozoen unter gleichartigen Bedingungen herleiten (s.a. Anhang C):

$$u_{(b,c_N)} = \frac{u_{max}\, b}{L + b + F\, c_N} \qquad \text{(E.6.1)}$$

$$u_{(b,c_N)} = \frac{u_{max}\, b\, (b + F\, c_N)}{L^2 + (b + F\, c_N)^2} \qquad \text{(E.6.2)}$$

$$u_{(b,c_N)} = \frac{u_{max}\, b^2}{L^2 + b^2 + F^2\, c_N^2} \qquad \text{(E.6.3)}$$

Die in diesem und in den vorherigen Abschnitten vorgestellten Annahmen lassen sich auch kombinieren. Daraus können dann teilweise relativ komplizierte mathematische Formeln entstehen. Es ist natürlich fraglich, ob experimentell eine so hohe Genauigkeit der Messung erreicht werden kann, daß diese Modelle vorteilhaft eingesetzt werden können.

Anhang F: Modell zur Simulation der Dynamik von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli*

F.1 Skalierung des Basismodells

Im Kapitel 5.1 bis 5.2 wurde ein Basismodell für die Simulation der Dynamik stationärer Laborkulturen mit *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* entworfen. Zur Erhöhung der Effizienz der rechnergestützten Simulation wurden die Größen des Modells skaliert, so daß alle Modellgrößen dimensionslos wurden. Damit verbunden konnte die Zahl der Parameter (von 21 auf 19) reduziert werden.

Das Differentialgleichungssystem lautet dann:

Die zeitliche Änderung der skalierten Räuberzelldichte (x_N) ist:

$$\frac{d\,x_N}{d\,\tau} = q_N(x_v)\,x_N - p_N\,x_N \qquad \textbf{(F.1)}$$

Die zeitliche Änderung des skalierten Zellvolumens der Räuber (x_v) ist:

$$\frac{d\,x_v}{d\,\tau} = r(y,x_N) - q_N(x_v)\,x_v - p_v\,x_v \qquad \textbf{(F.2)}$$

Die zeitliche Änderung der skalierten Beutezelldichte (y) ist:

$$\frac{d\,y}{d\,\tau} = \frac{z_l}{k_l + z_l}\,y - r(y,x_N)\,x_N - p_y\,y \qquad \textbf{(F.3)}$$

Die zeitliche Änderung der skalierten Konzentration des autochthonen Substrats (z_l) ist:

$$\frac{d\,z_l}{d\,\tau} = -\frac{z_l}{k_l + z_l}\,y + (A_N\,p_N + A_v\,p_v)\,x_N\,x_v + A_y\,p_y y \qquad \textbf{(F.4)}$$

Ferner gilt für die spezifische Freßrate $r(y,x_N)$, wenn $r_1(y,x_N)>r_2(y,x_N)$ ist

$$r\,(y,x_N)=r_1(y,x_N)=\frac{r_{max1}\,y^2}{l_1^2 + (f_1\,x_N)^2 + y^2} \qquad \textbf{(F.5.1)}$$

bzw.

$$r(y,x_N)=r_2(y,x_N)=\frac{r_{max2}\,y^2}{l_2^2 + (f_2\,x_N)^2 + y^2} \qquad \textbf{(F.5.2)}$$

wenn $r_2(y,x_N)>r_1(y,x_N)$ ist.

Für die spezifische Teilungsrate $q_N(x_v)$ der Räuber gilt im Falle eines "shift up" (s.4.3)

$$q_{1N}(x_v) = q_{11}\,e^{(q_{12}\,x_v)} \qquad \textbf{(F.6.1)}$$

bis zum Erreichen der maximalen Zellgröße, danach und im Normalfall

$$q_{2N}(x_v) = \frac{q_{21}\,(x_v - x_{vo})}{q_{22} + x_v - x_{vo}} \qquad \text{(F.6.2)}$$

Tabelle F.1 stellt die vorgenommene Skalierung dar. Für die Ausgangswerte der Simulation wurden die Zahlenwerte entsprechend Tabelle 5.1 eingesetzt.

Parameter	Skalierung	Bezeichnung
	skalierte Variablen / Populationen	
x_N	$\frac{c_N}{s_o\,Y_{1p}}$	Räuberzelldichte
x_v	$\frac{c_v}{Y_v}$	Räuberzellgröße
y	$\frac{p}{s_o\,Y_{1p}}$	Beutezelldichte
z_1	$\frac{s_1}{s_o}$	Konzentration des autochthonen Substrates
τ	$t\ \mu_{max1p}$	dimensionslose Zeit
	Teilungswachstum der Räuber	
q_{11}	$\frac{a_{11}}{\mu_{max1p}}$	Teilungskoeffizient f. "shift up"
q_{12}	$a_{12}\,Y_v$	Volumenkoeffizient f. "shift up"
q_{21}	$\frac{a_{21}}{\mu_{max1p}}$	max. spez. Teilungsrate
q_{22}	$\frac{a_{22}}{Y_v}$	Halbsättigungskonstante der Teilungskinetik
x_{vo}	$\frac{c_{vo}}{Y_v}$	minimales teilungsfähiges Zellvolumen
	Fraß und Biovolumenwachstum der Räuber	
r_{max1}	$\frac{u_{max1}}{\mu_{max1p}}$	max. spez. Freßrate für niedrige Beutedichten
l_1	$\frac{L_1}{s_o\,Y_{1p}}$	Halbsättigungskonstante der Freßkinetik für niedrige Beutedichten
f_1	F_1	Gewichtungsfaktor des Räubereinflusses auf die Freßkinetik für niedrige Beutedichten
r_{max2}	$\frac{u_{max2}}{\mu_{max1p}}$	max. spez. Freßrate für hohe Beutedichten
l_2	$\frac{L_2}{s_o\,Y_{1p}}$	Halbsättigungskonstante der Freßkinetik für hohe Beutedichten
f_2	F_2	Gewichtungsfaktor des Räubereinflusses auf die Freßkinetik für hohe Beutedichten
1	$\frac{Y_v}{Y_v}$	Biovolumenausbeutekoeffizient
	Verluste der Räuber	
p_N	$\frac{p_N}{\mu_{max1p}}$	spezifische Lysisrate

Fortsetzung der Tabelle S. 215

p_v	$\frac{p_v}{\mu_{max1p}}$	spezifische Zellvolumenvertlustrate
(Teilungs-)Wachstum der Beute auf autochthonem Substraten		
1	$\frac{\mu_{max1p}}{\mu_{max1p}}$	max. spez. Teilungsrate
k_1	$\frac{K_1}{s_0}$	Halbsättigungskonstante der Wachstumskinetik der Beute auf autochthonen Substraten
1	$\frac{Y_{1p}}{Y_{1p}}$	Beutezellzahlausbeutekoeffizient
Verluste der Beute		
p_y	$\frac{\gamma_p}{\mu_{max1p}}$	spezifische Lysisrate der Beute
Input an autochthonem Substraten		
A_N	$Z_N Y_v Y_{1p}$	Ausbeute autochthonen Substrats bei Lysis der Räuber
A_v	$Z_v Y_v Y_{1p}$	Ausbeute autochthonen Substrats bei Exkretion u.ä. durch Räuber
A_y	$Z_p Y_{1p}$	Ausbeute autochthonen Substrats durch Verluste der Beute

Tab. F.1: Skalierte Größen des Differentialgleichungsmodells zur Beschreibung der Populationsdynamik von *Tetrahymena thermophila* und *E.coli* in stationären Laborkulturen (vgl. Tab. 5.1).

F.2 Modifikation der Freßkinetik

In Kapitel 5.3 wurde untersucht welche Auswirkungen die Anwendung von verhaltensphysiologisch begründeten Freßkinetiken (s. 4.4; Tab. 4.3 & 4.4, jeweils Kinetik 7) auf die Vorhersageeigenschaften des Modells haben. Das Modellverhalten wurde ebenfalls mit skalierten DGL untersucht. Die in den Formeln F.5.1-2 und F.6.1-2 skalierten Kinetiken sind dann durch

$$r(y,x_N)=r_1(y,x_N)=\frac{(r_{max1}-f_1\,x_N)\,y^2}{l_1^2+y^2} \qquad \text{(F.7.1)}$$

bzw.

$$r(y,x_N)=r_2(y,x_N)=\frac{(r_{max2}-f_2\,x_N)\,y^2,}{2^2+y^2} \qquad \text{(F.7.2)}$$

charakterisiert,

wenn $r_2(y,x_N)>r_1(y,x_N)$ ist. Für f_1 und f_2 ergibt sich dann abweichend von Tabelle F.1 folgende Skalierung:

$$f_1=\frac{F_1\,s_0\,Y_{1p}}{\mu_{max1p}} \quad \text{und} \quad f_2=\frac{F_2\,s_0\,Y_{1p}}{\mu_{max1p}} \quad .$$

F.3 Modifikation der Substratfreisetzung

In der DGL F.4 ist die Freisetzung autochthoner Substrate durch die Verluste der Organismen mit dem Term $[(A_N\, p_N + A_v\, p_v)\, x_N\, x_v + A_y\, p_y\, y]$ definiert. Für die Betrachtung des Falles, daß die Substrate in direkter Kopplung an die Freßaktivität der Räuber freigesetzt werden, ist dieser Term durch $A_f \circ \alpha \circ r(y,x_N)$ zu ersetzen. Die verwendeten Skalierungen sind $A_f = Z_f \circ Y_{1p}$ und $\alpha = \alpha$. Die Größen Z_f und α werden in Kapitel 5.3.2 eingeführt und besprochen.

F.4 Modifikation des Basismodells zur Beschreibung kontinuierlicher Kulturen

Analog der Darstellung in Kapitel 5.5.1 wurde auch für die skalierten DGL die Grundstruktur des Basismodells erweitert. Die neuen skalierten Gleichungen lauten für die zeitliche Änderung der Räuberdichte (x_N)

$$\frac{d\,x_N}{d\,\tau} = q_N(x_v)\, x_N - (d + p_N)\, x_N \qquad \textbf{(F.8)}$$

Die zeitliche Änderung des skalierten Zellvolumens der Räuber (x_v) ist:

$$\frac{d\,x_v}{d\,\tau} = r(y,x_N) - q_N(x_v)\, x_v - p_v\, x_v \qquad \textbf{(F.9)}$$

Die zeitliche Änderung der skalierten Beutezelldichte (y) ist:

$$\frac{d\,y}{d\,\tau} = \frac{z_1}{k_1 + z_1}\, y - r(y,x_N)\, x_N - (d + p_y)\, y \qquad \textbf{(F.10)}$$

Die zeitliche Änderung der skalierten Konzentration der autochthonen Substrate (z_1) ist:

$$\frac{d\,z_1}{d\,\tau} = -\frac{z_1}{k_1+z_1+k_{i2}\,z_2}\, y + A_z\,(\alpha-1)\,\frac{r_{max2y}\,z_2}{k_2+z_2+k_{i1}\,z_1}\, y + (A_N\, p_N + A_v\, p_v)\, x_N\, x_v + A_y\, p_y\, y - d\, z_1 \qquad \textbf{(F.11)}$$

Die zeitliche Änderung der skalierten Konzentration des allochthonen Substrats (z_2) ist:

$$\frac{d\,z_2}{d\,\tau} = -\,\alpha\,\frac{r_{max2y}\,z_2}{k_2 + z_2 + k_{i1}\,z_1}\, y + d\,(z_d - z_2) \qquad \textbf{(F.12)}$$

Die Gleichungen F.5.1-F.6.2 bleiben gültig.

Zusätzlich zu den in Tabelle F1 angegebenen wurden neue Skalierungen eingeführt (s. Tab. F.2). Die Ausgangsparameter werden in Kapitel 5.5.1 vorgestellt.

Parameter	Skalierung	Bezeichnung
	skalierte Variablen und Betriebsparameter	
d	$\frac{D}{\mu_{max1p}}$	Durchflußrate
z_d	$\frac{s_D}{s_0}$	Zulaufkonzentration des allochthonen Substrates
z_2	$\frac{s_2}{s_0}$	Konzentration des allochthonen Substrates
	Teilungswachstum der Beute	
l	$\frac{Y_{1p}}{Y_{2p}}$	Zellzahlausbeutekoeffizient für das Wachstum der Beute auf allochthonem Substrat
r_{max2y}	$\frac{\mu_{max2p}}{\mu_{max1p}}$	maximale spezifische Teilungsrate beim Wachstum auf allochthonem Substrat
k_2	$\frac{K_2}{s_0}$	Halbsättigungskonstante der Teilungskinetik für das Teilungswachstum auf allochthonem Substrat
k_{i1}	K_{i1}	Hemmfaktor für den Einfluß des autochthonen auf die Umsetzung des allochthonen Substrates
k_{i2}	K_{i2}	Hemmfaktor für den Einfluß des allochthonen auf die Umsetzung des autochthonen Substrates
	Input autochthonener Substrate	
α	α	Faktor der den tatsächlichen Verbrauch an allochthonem Substrat in Relation zum direkten Wachstum der Beute setzt
A_z	β	Anteil des allochthonen Substrates, der durch Einwirkung der Beute direkt in den autochthonen Substratpool fließt

Tab. F.2: Skalierte Größen des Differentialgleichungsmodells zur Beschreibung der Populationsdynamik von *Tetrahymena thermophila*, *E.coli* und Glucose in einstufiger Chemostatenkultur.

Bibliographie

ACEA, M. J. und M. ALEXANDER (1988): Growth and Survival of Bacteria Introduced into Carbon-Amended Soil. Soil Biol. Biochem., **20**: 703-709.

ACEA, M. J., C. R. MOORE und M. ALEXANDER (1988): Survival and Growth of Bacteria Introduced into Soil. Soil Biol.Biochem., **20**: 509-515.

ADAMS, R. B. und E. C. GREGG (1972): Pulse Shapes from Particles Traversing Coulter Orifice Fields. Phys.Med.Biol., **17**: 830-842.

AL-SHAHWANI, S. M. und N. J. HORAN (1991): The Use of Protozoa to Indicate Changes in the Performance of Activated Sludge Plants. Wat.Res., **25**: 633-638.

ANAGNOSTOPOULOS, G. D. und G. DHAVISES (1982): Chemostat Adaption of *Escherichia coli* B/r/1 to Low Water Activity. J.Appl.Bacteriol., **53**: 173-177.

ANDERSON, J. M., M. A. LEONARD, P. INESON und S. HUISH (1985): Faunal Biomass: A Key Component of a General Model of Nitrogen Mineralization. Soil Biol.Biochem., **17**: 735-737.

ASHBY, R. E. (1976): Long Term Variations in a Protozoan Chemostat Culture. J.Exp.Mar.Biol.Ecol., **24**: 227-235.

AZAM, F., T. FENCHEL, J. G. FIELD, J. S. GRAY, L. A. MEYER-REIL und F. THINGSTAD (1983): The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. Mar.Ecol.Prog.Ser., **10**: 257-263.

BAILEY, J. E. und OLLIS, D. F. (1986):Biochemical Engineering Fundamentals. McGraw-Hill Publishing Company, New York.

BALTZIS, B. C. und A. G. FREDRICKSON (1988): Limitation of Growth Rate by Two Complementary Nutrients: Some Elementary but Neglected Considerations. Biotechnol.Bioeng., **31**: 75-86.

BANKS, H. K. und J. D. BRYERS (1990): Cryptic Growth within a Binary Microbial Culture. Appl.Microbiol.Biotechnol., **33**: 596-601.

BANNO, Y., K. YANO und Y. NOZAWA (1982): Biochemical Characterization of Secreted Protease During Growth in *Tetrahymena pyriformis* WH-14: Comparision of Extracellular with Intracellular Protease. J.Protozool., **29**: 91-98.

BARSDATE, R. J., R. T. PRENTKI und T. FENCHEL (1974): Phosphorus Cycle of Model Ecosystems: Significance for Decomposer Food Chains and Effect of Bacterial Grazers. OIKOS, **25**: 239-251.

BAZIN, M. J., C. CURDS, A. DAUPPE, B. A. SAUNDERS und P. T. OWEN (1983): Microbial Predation Dynamics. ACS Symp.Ser., **207**: 253-264.

BEAVER, J. R. und T. L. CRISMAN (1989): The Role of Ciliated Protozoa in Pelagic Freshwater Ecosystems. Microb.Ecol., **17**: 111-136.

BERGER, J. (1980): Feeding Behaviour of *Didinium nasutrum* on *Paramecium bursaria* with Normal or Apochlorotic Zoochlorellae. J.Gen.Microbiol., **118**: 397-404.

BERGTER, F. (1983): Wachstum von Mikroorganismen. 2. Auflage. Verlag Chemie. Weinheim, Deerfield Beach, Basel.

BLOEM, J., F. M. ELLENBROOEK, M.-J. B. BÄR-GILISSEN und T. E. CAPPENBERG (1989): Protozoan Grazing and Bacterial Production in Stratified Lake Vechten Estimated with Fluorescently Labeled Bacteria and by Thymidine Incorporation. Appl.Environ.Microbiol., **55**: 1787-1795.

BÖHNKE, B. (1989): Bemessung der Stickstoffelimination in der Abwasserreinigung. Korrespondenz Abwasser, **36**: 1046-1061.

BONOMI, A. und A. G. FREDRICKSON (1976): Protozoan Feeding and Bacterial Wall Growth. Biotechnol.Bioeng., **18**: 239-252.

BORNEFF, J. (1982): Hygiene. 4. Auflage. Gustav Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

BRADBURY, P.C. (1987): Protozoan Adaptions to Survival. In: Henis, Y. (Hrsg.), *Survival and Dormancy of Microorganisms* . John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.

BRATBAK, G. und I. DUNDAS (1984): Bacterial Dry Matter Content and Biomass Estimations. Appl.Environ.Microbiol., **48**: 755-757.

BROWN, C. M. und S. O. STANLEY (1972): Environment-mediated Changes in the Cellular Content of the "Pool" Constituents and Their Associated Changes in Cell Physiology. J.Appl.Chem. Biotechnol., **22**: 363-389.

BULTHUIS, B. A., G. L. KONIGSTEIN, A. STOUTHAMMER und H. W. VAN VERSEFELD (1989): A Comparison between Aerobic Growth of *Bacillus licheniformis* in Continuous Culture and Partial-recycling Fermentor, with Contributions to the Discussion on Maintenance Energy Demand. Arch.Microbiol., **152**: 499-507.

BURBANCK, W. D. (1942): Physiology of the Ciliate *Colpidium colpoda*: I The Effect of Various Bacteria as Food on the Division Rate of *Colpidium colpoda*. Phys.Zool. **15**: 342-362.

BUTTON, D. K. (1985): Kinetics of Nutrient-Limited Transport and Microbial Growth. Microbiol.Rev., **49**: 270-297.

CALDWELL, D. E. (1987): Microbial Colonization of Solid-Liquid Interfaces. Annals of the NY Academy of Science, **506**:274-280.

CAMPBELL, R. (1980): Mikrobielle Ökologie. Verlag Chemie, Verlag Physik, Weinheim.

CANALE, R. P. (1970): An Analysis of Models Describing Predator-Prey Interactions. Biotechnol. Bioeng., **12**: 353-378.

CANALE, R. P., T. D. LUSTIG, P. M. KEHRBERGER und J. E. SALO (1973): Experimental and Mathematical Modeling Studies of Protozoan Predation on Bacteria. Biotechnol.Bioeng., **15**: 707-728.

CARRICK, H. J., G. J. FAHNENSTIEL und W. D. TAYLOR (1992): Growth and Production of Planktonic Protozoa in Lake Michigan: in situ versus in vitro Comparisons and Importance to Food Web Dynamics. Limnol.Oceanogr., **37**: 1221-1235.

CHAO, W. L. und M. ALEXANDER (1982): Influence of Soil Characteristics on the Survival of *Rhizobium* in Soils Undergoing Drying. J. Soil Sci., **46**: 949-952.

CHARACKLIS, W. G. und WILDERER, P. A. (1989): Structure and Function of Biofilms. Dahlem Workshop Reports. Life Science Research Report 46. John Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.

CHESBRO, W. (1988): The Domains of Bacterial Growth. Can.J.Microbiol., **34**: 427-435.

CHESBRO, W., T. EVANS und R. EIFERT (1979): Very Slow Growth of *Escherichia coli*. J.Bacteriol., **139**: 625-638.

CHRISTOFFERSEN, K., B. RIEMANN, L. R. HANSEN, A. KLYSNER und H. B. SØRENSEN (1990): Qualitative Importance of the Microbial Loop and Plankton Community Structure in a Eutrophic Lake during a Bloom of Cyanobacteria. Microb.Ecol., **20**: 253-272.

CHRóST, R. J. (Hrsg.) (1991): Microbial Enzymes in Aquatic Environments. Springer-Verlag, New York.

CLARHOLM, M. (1985): Interactions of Bacteria, Protozoa and Plants Leading to Mineralization of Soil Nitrogen. Soil Bio.Biochem., **17**: 181-187.

COLE, C. V., E. T. ELLIOTT, H. W. HUNT und D. C. COLEMAN (1978): Trophic Interactions in Soils as They Affect Energy and Nutrient Population Dynamics. V. Phosphorus Transformation. Microb. Ecol., **4**: 381-387.

CORLISS, J. O. (1953): Comparative Studies on Holotrichous Ciliates in the *Colpidium* - *Glaucoma* - *Leucophrys* - *Tetrahymena* Group: 2. Morphology, Life Cycles and Systematic Status of Strains in Pure Culture. Parasitology, **43**: 49-87.

COUGHLAN, J. (1969): The Estimation of Filtering Rate from the Clearance of Suspension. Marine Biol., **2**: 356-358.

CUNNINGHAM, A.und R.M. NISBET (1983): Transients and Oscillations in Continous Cultures. In: Bazin, M. (Hrsg.), *Mathematics in Microbiology*. Academic Press, London, New York.

CURDS, C. R. (1971): Computer Simulations of Microbial Population Dynamics in the Activated Sludge Process. Wat.Res., **5**: 1049-1066.

CURDS, C. R. (1973 a): A Theoretical Study of Factors Influencing the Microbial Population Dynamics of the Activatd-Sludge Process - I. The Effects of Diurnal Variations of Sewage and Carnivorous Ciliated Protozoa. Wat.Res., **7**: 1269-1284.

CURDS, C. R. (1973 b): A Theoretical Study of Factors Influencing the Microbial Population Dynamics of the Activated-Sludge Process - II. A Computer-Simulation Study to Compare Two Methods of Plant Operation. Wat.Res., **7**: 1439-1452.

CURDS, C. R. (1982): The Ecology and Role of Protozoa in Aerobic Sewage Treatment Processes. Ann.Rev.Microbiol., 36: 27-46.

CURDS, C. R. und M. J. BAZIN (1977): Protozoan Predation in Batch and Continuous Culture. Adv. Aquatic Microbiol., 1: 115-176.

CURDS, C. R. und A. COCKBURN (1968): Studies an the Growth and Feeding of *Tetrahymena pyriformis* in Axenic and Monoxenic Culture. J.Gen.Microbiol., 54: 343-358.

CURDS, C. R. und A. COCKBURN (1971): Continous Monoxenic Culture of Tetrahymena pyriformis. J.Gen.Microbiol., 66: 95-108.

CURDS, C. R. und J. M. VANDYKE (1966): The Feeding Habits and Growth Rates of Some Fresh-water Ciliates Found in Activated Sludge Plants. J.Appl.Ecol., 3: 127-138.

DAIGGER, G. T. und C. P. L., JR. GRADY (1977): A Model for the Bio-Oxidation Process Based on Product Formation Concepts. Wat.Res., 11: 1049-1057.

DELAQUIS, P. J., D. E. CALDWELL, J. R. LAWRENCE und A. R. MCCURDY (1989): Detachment of *Pseudomonas fluorescens* from Biofilms on Glass Surfaces in Response to Nutrient Stress. Microb.Ecol., 18: 199-210.

DOMACH, M.M. (1983): Refinement and Use of a Structured Model of a Single Cell of *Escherichia coli* for the Discription of Ammonia-Limited Growth and Asynchronous Population Dynamics. Ph. D. Thesis. Cornell University.

DRAKE, J. F. und H. M. TSUCHIYA (1973): Differential Counting in Mixed Cultures with Coulter Counters. Appl.Microbiol., 3: 9-13.

DRAKE, J. F. und H. M. TSUCHIYA (1976): Predation on *Escherichia coli* by *Colpoda steinii*. Appl.Environ.Microbiol., 31: 870-874.

DRAKE, J. F. und H. M. TSUCHIYA (1977): Growth Kinetics of *Colpoda steinii* on *Escherichia coli*. Appl.Environ.Microbiol., 34: 18-22.

DROOP, M. R. (1973): Nutrient Limitaion in Osmotrophic Protista. Amer.Zool., 13: 209-214.

DUNHAM, P.B. und D. L. KROPP (1973): Regulation of Solutes and Water in *Tetrahymena*. In: Elliott, A. M. (Hrsg.), *Biology of Tetrahymena*. Dowden, Hutchinson & Ross, Stroudsburg, Pennsylvania.

EDELSTEIN-KESHET, L. (1988):Mathematical Models in Biology. Random House, New York.

EICHLER, W. (1990): Regulation of Ornithine Decarboxylase Activity in the Growth Cycle of *Tetrahymena thermophila*. J.Protozool., 37: 273-277.

ELLIOTT, A. M. (Hrsg.) (1973): Biology of *Tetrahymena*. Dowden, Hutchinson & Ross, Stroudsburg, Pennsylvania.

ESTEBAN, G., C. TELLEZ und L. M. BAUTISTA (1991): Dynamics of Ciliated Protozoa Communities in Activated-Sludge Process. Wat.Res., 25: 967-972.

FENCHEL, T. (1980 a): Suspension feeding in Ciliated Protozoa: Functional Response and Particle Size Selection. Microb.Ecol., 6: 1-11.

FENCHEL, T. (1980 b): Suspension Feeding of Ciliated Protozoa: Feeding Rates and Their Ecological Significance. Microb.Ecol., **6**: 13-25.

FENCHEL, T. (1986): Protozoan Filter Feeding. Prog.Protistology, **1**: 65-113.

FENCHEL, T. (1987):Ecology - Potentials and Limitations. Ecology Institute, Oldendorf/ Luhe.

FENCHEL, T. M. und B. B. JORGENSEN (1977): Detritus Food Chains of Aquatic Ecosystems: The Role of Bacteria. Adv.Microb.Ecol., **1**:1-57.

FISHER, S. H. und A. L. SONENSHEIN (1991): Control of Carbon and Nitrogen Metabolism in *Bacillus subtilus*. Ann.Rev.Microbiol., **45**: 107-135.

FREDRICKSON, A. G. (1991): Segregated, Structured, Distributed Models and Their Role in Microbial Ecology: A Case Study Based on Work Done on the Filter-Feeding Ciliate *Tetrahymena pyriformis*. Microb.Ecol., **22**: 139-159.

FREDRICKSON, A. G., R. D., III MEGEE und H. M. TSUCHIYA (1970): Mathematical Models for Fermentation Process. Adv.Appl.Microbiol., **13**: 419-465.

FUKAMI, K., B. MEIER und J. OVERBECK (1991): Vertikal and Temporal Changes in Bacterial Production and Its Consumption by Heterotrophic Nanoflagellates in a North German Eutrophic Lake. Arch.Hydrobiol., **122**: 129-145.

GAEDKE, U. (1992): The Size Distribution of Plankton Biomass in a Large Lake and Its Seasonal Variability. Limnol.Oceanogr., **37**: 1202-1220.

GEIDER, R. J. (1989): Use of Radiolabeled Tracers in Dilution Grazing Experiments to Estimate Bacterial Growth and Loss Rates. Microb.Ecol., **17**: 77-87.

GISI, U., R. SCHENKER, R. SCHULIN, F. X. STADELMANN und H. STICHER (1990):Bodenökologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

GLASER, D. (1984): Continous Culture Experiments with *Tetrahymena pyriformis* (Ciliata) and *Escherichia coli*. Ph. D. Thesis. Harvard University, Cambridge, Massachsetts.

GLASER, D. (1988): Simultaneus Consumption of Bacteria and Dissolved Organic Matter by *Tetrahymena pyriformis*. Microb.Ecol., **15**: 189-202.

GONZALEZ, J. M., J. IRIBERRI, L. EGEA und I. BARCINA (1990): Differential Rates of Digestion of Bacteria by Freshwater and Marine Phagotrophic Protozoa. Appl.Environ.Microbiol., **56**: 1851-1857.

GRELL, K. G. (1968): Protozoologie. 2. Auflage. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

GRIFFITHS, B. S. (1989): Enhanced Nitrification in the Presence of Bacteriophorus Protozoa. Soil Biol.Biochem., **21**:1045-1051.

GROENEWEG, J. und C. sJ. SOEDER (1978): An Improved Culture Tube for Axenic Cultures of Microalgae. Br.Phycol.J., **13**: 337-340.

GROVER, J. P. (1990): Grazing by a Heterotrophic Microflagellate on Two Diatoms: Functional and Numerical Responses in Laboratory Cultures. Arch.Hydrobiol., **119**: 197-214.

GROVER, N. B., J. NAAMAN, S. BEN-SASSON und F. DOLJANSKI (1969): Electrical Sizing of Particles in Suspension. I. Theory. Biophys.J., 9: 1398-1414.

GROVER, N. B., J. NAAMAN, S. BEN-SASSON, F. DOLJANSKI und E. NADAV (1969): Electrical Sizing of Particles in Suspensions. II. Experimets with Rigid Speres. Biophys.J., 9: 1415-1425.

GROVER, N. B., J. NAAMAN, S. BEN-SASSON und F. DOLJANSKI (1972): Electrical Sizing of Particles in Suspensions. III. Rigid Spheroids and Red Blood Cells. Biophys.J., 12: 1099-1117.

GUPTA, V.V.S.R. und J. J. GERMIDA (1989): Influence of Bacterial-Amoebal Interactions on Sulfur Transformations in Soil. Soil Biol.Biochem., 21: 921-930.

GURIJALA, K. R. und M. ALEXANDER (1990 a): Effect of Growth Rate and Hydrophobicity on Bacteria Surviving Protozoan Grazing. Appl.Environ.Microbiol., 56: 1631-1635.

GURIJALA, K. R. und M. ALEXANDER (1990 b): Explanation for the Decline of Bacteria Introduced into Lake Water. Microb.Ecol., 20: 231-244.

HABTE, M. und M. ALEXANDER (1978 a): Mechanisms of Persistence of Low Numbers of Bacteria Preyd Upon by Protozoa. Soil Biol.Biochem., 10: 1-6.

HABTE, M. und M. ALEXANDER (1978 b): Protozoan Density and the Coexistence of Protozoan Predators and Bacterial Prey. Ecology, 59: 140-146.

HAMILTON, R. D. und J. E. PRESLAN (1970): Observations on the Continuous Culture of a Planktonic Phagotrophic Protozoan. J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 5: 94-104.

HARDER, W. und L. DIJKHUIZEN (1983): Physiological Responses to Nutrient Limitation. Ann.Rev.Microbiol., 37: 1-23.

HARRISON, A. F., P. INESON und O. W. HEAL (Hrsg.) (1989): Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems. Elsevier Applied Science, London, New York.

HARRISON, F.W. und J. O. CORLISS (Hrsg.) (1991): Microscopic Anatomy of Invertebrates - Volume 1, Protozoa. Wiley-Liss, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.

HARVEY, R. J. (1970): Metabolic Regulation in Glucose-Limited Chemostat Cultures of *Escherichia coli*. J.Bacteriol., 104: 698-706.

HELLER, O. (1992): Untersuchungen zur Eignung von *Escherichia coli* als Modellorganismus in einer Räuber-Beute-Population. Diplomarbeit. Ruhr-Universität, Bochum.

HELLUNG-LARSEN, P. und A. P. ANDERSEN (1989): Cell Volume and Dry Weight of Cultured *Tetrahymena*. J.Cell Sci., 92: 319-324.

HERBERT, D. (1961): The Chemical Composition of Micro-Organisms as a Function of Their Environment. Microbial Reaction to Environment. 11. Symposium of the Society for General Microbiology, London., 391-416.

HEYNEN, C. E., J. D. VAN ELSAS, P. J. KUIKMAN und J. A. VAN VEEN (1988): Dynamics of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* Introduced into Soil; the Effect of Bentonite Clay on Predation by Protozoa. Soil Biol.Biochem., 20: 483-488.

HILL, D. L. (1972): The Biochemistry and Physiology of *Tetrahymena*. Academic Press, New York, London.

HILL, R. J. und M. HILL (1985): Variation in the Swimming Velocity of *Tetrahymena thermophila* through the Cell Cycle. Naturwissenschaften, 72: 381-382.

HOFFMANN, E. und L. RASMUSSEN (1969): Studies on Amino Acid Transport in *Tetrahymena pyriformis*. J.Protozool. (suppl.), 16: 33.

HÖFLE, M. (1981): Ökophysiologische Modelluntersuchungen zum Einfluß von Temperatur und Nährstoffbedingungen auf den Stoffumsatz von Reinkulturen heterotropher Gewässerbakterien. Dissertation. Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg im Breisgau.

HOLZ Jr., G.G. (1973): The Nutrition of *Tetrahymena*: Essential Nutrients, Feeding and Digestion. In: Elliott, A. M. (Hrsg.), *Biology of Tetrahymena*. A. M. Dowden, Hutchinson & Ross, Stroudsburg, Pennsylvania.

HOWELL, J. A. (1983): Mathematical Models in Microbiology: Mathematical Tool-Kit. In: Bazin, M. (Hrsg.), *Mathematics in Microbiology*. Academic Press, London, New York.

HUANG, T.-C., M.-C. CHANG und M. ALEXANDER (1981): Effect of Protozoa on Bacterial Degradation of an Aromatic Compound. Appl.Environ.Microbiol., 41: 229-232.

HUNT, H. W., C. V. COLE, D. A. KLEIN und D. C. COLEMAN (1977): A Simulation Model for the Effect of predation On Bacteria in Continuous Culture. Microb.Ecol., 3: 259-278.

HUTCHINSON, G. E. (1967): A Treatise on Limnology I & II. Wiley & Sons, New York, London, Sydney.

INGHAM, E. R., J. A. TROFYMOW, R. N. AMES, H. W. HUNT, C. R. MORLEY, J. C. MOORE und D. C. COLEMAN (1986 a): Trophic Interactions and Nitrogen Cycling in a Semi-Arid Grassland Soil - I. Seasonal Dynamics of the Natural Populations, Their Interactions and Effects on Nitrogen Cycling. J.Appl.Ecol., 23: 597-614.

INGHAM, E. R., J. A. TROFYMOW, R. N. AMES, H. W. HUNT, C. R. MORLEY, J. C. MOORE und D. C. COLEMAN (1986 b): Trophic Interactions and Nitrogen Cycling in a Semi-Arid Grassland Soil - II. System Responses to Removal of Different Groups of Soil Microbes or Fauna. J.Appl.Ecol., 23: 615-630.

JASCHIK, J. und K. SCHULZE (1990 a): Korrektion koinzidenzbedingter Zählverluste bei Partikelzählgeräten. Teil 1 GIT Labor-Medizin, 1-2: 3-6.

JAKSCHIK, J. und K. SCHULZE (1990 b): Korrektion koinzidenzbedingter Zählverluste bei Partikelzählgeräten. Teil 2. GIT Labor-Medizin, 3: 89-96.

JAKSCHIK, J. und K. SCHULZE (1990 c): Korrektion koinzidenzbedingter Zählverluste bei Partikelzählgeräten. Teil 3. GIT Labor-Medizin, 4: 175-181.

JAUKER, F., S. LADES und T. NOWACK (1986): The Energy Budget of *Tetrahymena* and the Material Fluxes into and out of the Adenylate Pool. Exp. Cell Res., 166: 161-170.

JOHANNES, R. E. (1965): Influence of Marine Protozoa on Nutrient Regeneration. Limnol. Oceanogr., **10**: 434-442.

JONAS, R. B., J. H. TUTTLE, D. L. STONER und H. W. DUCKLOW (1988): Dual-Label Radioisotope Method for Simultaneously Measuring Bacterial Production and Metabolism in Natural Waters. Appl.Environ.Microbiol., **54**: 791-798.

JONES, G. L. (1973): Role of Protozoa in Waste Purification Systems. Nature, **243**: 546-547.

JOST, J. L., J. F. DRAKE, A. G. FREDRICKSON und H. M. TSUCHIYA (1973 a): Interaction of *Tetrahymena pyriformis, Escherichia coli, Azotobacter vinelandii* and Glucose in a Minimal Medium. J.Bacteriol., **13**: 834-840.

JOST, J. L., J. F. DRAKE, H. M. TSUCHIYA und A. G. FREDRICKSON (1973 b): Microbial Food Chains and Food Webs. J.Theor.Biol., **41**: 461-484.

KERFOOT, W. C. (Hrsg.) (1980): Evolution and Ecology of Zooplankton Communities. University Press of New England, Hanover (GB), London.

KIDDER, G. W. (1941): Growth Studies on Ciliates. V. The Accelaration and Inhibition of Ciliate Growth in Biologically Conditioned Medium. Phys.Zool., **14**: 209-226.

KOCH, A. L. und M. SCHAECHTER (1962): A Model for Statistics of the Cell Division Process. J.Gen.Microbiol., **29**: 435-454.

KOMPALA, D. S., D. RAMKRISHNA und G. T. TSAO (1984): Cybernetic Modeling of Microbial Growth on Multiple Substrates. Biotechnol.Bioeng., **26**:1272-1281.

KOMPALA, D. S., D. RAMKRISHNA, N. B. JANSEN und G. T. TSAO (1986): Investigation of Bacterial Growth on Mixed Substrates: Experimental Evaluation of Cybernetic Models. Biotechnol.Bioeng., **28**:1044-1055.

KONINGS, W. N., B. POOLMAN und A. J. M. DRIESSEN (1989): Bioenergetics and Solute Transport in Lactococci. CRC Critical Reviews on Microbiology, **16**:419-476.

KRIEG, N. R. und J. G. HOLT (Hrsg.) (1984): Bergey´s Manual of Systematic Bacteriology Williams and Wilkins, Baltimore, London.

KUBITSCHEK, H.E. (1969): Counting and Sizing Micro-organisms with the Coulter Counter. In: Norris, J.R. und D.W. Ribbons (Hrsg.), *Methods in Microbiology*. Academic Press, London, New York.

KUIKMAN, P. J., J. D. VAN ELSAS, A. G. JANSEN, S. L. G. E.BURGERS und J. A. VAN VEEN (1990): Population Dynamics and Activity of Bacteria and Protozoa in Relation to Their Spatial Distribution in Soil. Soil Biol.Biochem., **22**: 1063-1073.

LARSEN, J. und J. R. NILSSON (1985): A New Principle of Cell Cultivation: No Air Liquid Interface but Gas Exchange Across a Synthetic Membrane. Protoplasma, **125**: 214-218.

LARSEN, J. und J. R. NILSSON (1986): A New Principle of Continous Flow Cell Cultivation. Protoplasma, **132**: 99-106.

LAUFFENBURGER, D. A. (1991): Quantitative Studies of Bacterial Chemotaxis and Microbial Population Dynamics. Microb.Ecol., **22**: 175-185.

LAVIN, D. P., A. G. FREDRICKSON und F. SRIENC (1990): Flow Cytometric Measurement of Rates of Particle Uptake from Dilute Suspensions by a Ciliated Protozoan. Cytometry, **11**: 875-882.

LAVIN, D. P., C. HATZIS, F. SRIENC und A. G. FREDRICKSON (1990): Size Effects on the Uptake of Particles by Populations of *Tetrahymena pyriformis* Cells. J.Protozool., **37**: 157-163.

LEGNER, M. (1973): Experimental Approach to the Role of Protozoa in Aquatic Ecosystems. Amer.Zool., **13**: 177-192.

LEVANDOWSKY, M., S. H. HUTNER und L. PROVASOLI (Hrsg.) (1979 a): Biochemistry and Physiology of Protozoa. Volume 1. 2nd edition. Academic Press, New York, London, Toronto, Sidney, San Francisco.

LEVANDOWSKY, M., S. H. HUTNER und L. PROVASOLI (Hrsg.) (1979 b): Biochemistry and Physiology of Protozoa. Volume 2. 2nd edition. Academic Press, New York, London, Toronto, Sidney, San Francisco.

LEVANDOWSKY, M., S. H. HUTNER und L. PROVASOLI (Hrsg.) (1980): Biochemistry and Physiology of Protozoa. Volume 3. 2nd edition. Academic Press, New York, London, Toronto, Sidney, San Francisco.

LOGAN, B. E. und J. R. HUNT (1988): Bioflocculation as a Microbial Response to Substrate Limitations. Biotechnol.Bioeng., **31**: 91-101.

LOUTIT, M. W. und J. A. R. MILES (Hrsg.) (1978): Microbial Ecology. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

LUCK, J. M., G. SHEETS und J. O. THOMAS (1931): The Role of Bacteria in the Nutrition of Protozoa. Quart.Rev.Biol., **6**: 46-58.

LYNCH, J. M. (Hrsg.) (1990): The Rhizosphere. Wiley & Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto, Singapore.

MAJEWSKI, R. A. und M. M. DOMACH (1990): Chemostat-Cultivated Escherichia coli at High Dilution Rate: Multiple Steady States and Drift. Biotechnol.Bioeng., **36**: 179-190.

MALLORY, L. M., C.-S. YUK, L.-N. LIANG und M. ALEXANDER (1983): Alternative Prey: A Mechanism for Elimination of Bacterial Species by Protozoa. Appl.Environ.Microbiol., **46**: 1073-1079.

MANDELSTAM, J. und MCQUILLEN, K. (1968): Biochemistry of Bacterial Growth Blackwell Scientific Publications, Oxford, Edinburgh.

MARSHALL, K. C., R. STOUT und R. MITCHELL (1971): Mechanism of the Initial Events in the Sorption of Marine Bacteria to Surfaces. J.Gen.Microb., **68**: 337-348.

MARVALIN, O. und S. LAZAREK (1988): Improved Method for Determing Bacterial Filtration Rates in Zooplankton. Appl.Environ.Microbiol., **54**: 2149-2151.

MAY, R. M. (1973): Stability and Complexity in Model Ecosystems. Princeton University Press, Princeton.

MAYR, B., P. HORVAT und A. MOSER (1992): Engineering Approach to Mixing Quantification in Bioreactors. Bioprocess Engineering, **8**: 137-143.

MAZUMDER, A., D. J. MCQUEEN, W. D. TAYLOR, D. R. S. LEAN und M. D. DICKMANN (1990): Micro- and Mesozooplankton Grazing on Natural Pico- and Nanoplankton in Contrasting Plankton Communities Produced by Planktivore Manipulatioon and Fertilization. Arch.Hydrobiol., **118**: 257-282.

MELAMED, M. R., T. LINDMO und M.L. MENDELSON (Hrsg.) (1990): Flow Cytometry and Sorting. 2nd edition. Wiley-Liss, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.

METZ, J. A. J. und O. DIEKMANN (Hrsg.) (1986): The Dynamics of Physiologically Structured Populations. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo.

MONGER, B. C. und M. R. LANDRY (1993): Flow Cytometric Analysis of Marine Bacteria with Hoechst 3334. Appl.Environ.Microbiol., **59**: 905-911.

MONREAL, C. M. und W. B. MCGILL (1989 a): The Dynamics of Free Cystine Cycling at Steady-State through the Solutions of Selected Cultivated and Uncultivated Chernozemic and Luvisolic Soil. Soil Biol.Biochem., **21**: 689-694.

MONREAL, C. M. und W. B. MCGILL (1989 b): The Effects of Soil Amendments on the Dynamics of free Cystine Cycling at Steady-State through the Solutions of a Black Chermozemic and an Andept Soil. Soil Biol.Biochem., **21**: 695-701.

MORRISON, G. A. und A. L. TOMKINS (1973): Determination of Mean Cell Size of *Tetrahymena* in Growing Cultures. J.Gen.Microbiol., **77**: 383-392.

MÜLLER, H., A. SCHÖNE, R. M. PINTO-COELHO, A. SCHWEIZER und T. WEISSE (1991): Seasonal Succession of Ciliates in Lake Constance. Microb.Ecol., **21**: 119-138.

MURRAY, A. W. und M. W. KIRSCHNER (1990): What Controls the Cell Cycle. Scientific American, **3**: 34-41.

NAGATA, T. und D. L. KIRCHMAN (1991): Release of Dissolved Free and Combined Amino Acids by Bacterivorous Marine Flagellates. Limnol.Oceanogr., **36**: 433-443.

NAUWERCK, A. (1963): Die Beziehungen zwischen Zooplankton und Phytoplankton im See Erken. Symbolae Botanicae Upsalienses, XVII: 5.

NEIDHARDT, F. C. (Hrsg.) (1987): *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: Cellular and Molecular Biology (Volume I & II). American Society of Microbiology, Washington DC.

NEIJSSEL, O. M. und D. W. TEMPEST (1976): Bioenergetic Aspects of Aerobic Growth of Klebsiella aerogenes NCTC 418 in Carbon-Limited and Carbon-Sufficient Chemostat Culture. Arch.Microbiol., **107**: 215-221.

NIELSEN, J., K. NIKOLAJSEN und J. VILLADSEN (1991 a): Structured Modeling of a Microbial System: I. A Theoretical Study of Lactic Acid Fermentation. Biotechnol. Bioeng., **38**: 1-10.

NIELSEN, J., K. NIKOLAJSEN und J. VILLADSEN (1991 b): Structured Modeling of a Microbial System: II. Experimental Verification of a Structured Lactic Acid Fermentation Model. Biotechnol. Bioeng., **38**: 11-23.

NIKOLAJSEN, K., J. NIELSEN und J. VILLADSEN (1991): Structured Modeling of a Microbial System. III. Growth on Mixed Substrates. Biotechnol. Bioeng., **38**: 24-29.

NILSSON, J. R. (1972): Further Sudies in Vacuole Formation in *Terahymena pyriformis* GL. Compt.Rend.Trav.Lab. Carlsberg., **39**: 83-110.

NILSSON, J. R. (1976): Physiological and Structural Studies on *Tetrahymena pyriformis* GL. Compt. Rend.Trav.Lab. Carlsberg., **40**: 215-355.

NILSSON, J. R. (1979): Phagotrophy in *Tetrahymena*. In: Levandowsky, M.; Hutner, S. H.; Provasoli, L. (Hrsg.), *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Volume 2. 2nd edition. Academic Press, New York, London, Toronto, Sidney, San Francisco.

NISBET, B. (1986): Nutrition and Feeding Strategies in Protozoa. Croom Helm, London, Canberra.

NOVICK, A. und L. SZILARD (1950): Description of the Chemostat. Science, **112**: 715-716.

ODUM, E. P. (1991): Prinzipien der Ökologie. Spectrum der Wissenschaft, Heidelberg.

ONUMA, M., T. OMURA, T. UMITA und J. AIZAWA (1985): Diffusion Coefficient and Its Dependency on Some Biochemical Factors. Biotechnol.Bioeng., **27**: 1533-1539.

PAVLOU, S. (1983): Mathematical Modeling of the Dynamics of Protozoan Suspension Feeding. Ph. D. Thesis. University of Minnesota, Minneapolis.

PAVLOU, S. (1985): Dynamics of a Chemostat Culture in Which One Microbial Population Feeds on Another. Biotechnol.Bioeng., **27**: 1525-1532.

PAVLOU, S. und A. G. FREDRICKSON (1983): Effects of the Inability of Suspension-Feeding Protozoa to Collect all Cell Sizes of a Bacterial Population. Biotechnol.Bioeng., **25**: 1747-1772.

PAVLOU, S. und A. G. FREDRICKSON (1989): Growth of Microbial Populations in Nonminimal Media: Some Consideration for Modeling. Biotechnol.Bioeng., **34**: 971-989.

PETERS, R.H. (?): Methods for the Study of Feeding, Filtering and Assimilation by Zooplankton. In: Downing, J. A.; Rigler, F. H. (Hrsg.), *A Manual on Methods for the Assessment of Secondary Productivity in Fresh Waters*. Blackwell Scientific Publications.

PIRT, S. J. (1975): Principles of Microbs and Cell Cultivation. John Wiley & Sons, New York.

PIRT, S. J. und M. J. BAZIN (1972): Possible Adverse Effect of Protozoa on Effluent Purification Systems. Nature, **239**: 290.

RAMKRISHNA, D., A. G. FREDRICKSON und H. M. TSUCHIYA (1967): Dynamics of Microbial Propagation: Models Considering Inhibitors and Variable Cell Composition. Biotechnol.Bioeng., **9**: 129-170.

RASMUSSEN, L. und T. A. KLUDT (1970): Particulate Material as a Prerequisite for Rapid Cell Multiplication in *Tetrahymena* Cultures. Exptl. Cell Res., **59**: 457-463.

RASMUSSEN, L. und E. ORIAS (1975): *Tetrahymena*: Growth without Phagocytosis. Science, **190**: 464-465.

RATNAM, D. A., S. PAVLOU und A. G. FREDRICKSON (1982): Effects of Attachment of Bacteria to the Chemostat Walls in a Microbial Predator-Prey System. Biotechnol. Bioeng., **24**: 2675-2694.

RICCI, N. (1990): The Behavior of Ciliates. Anim.Behav., **40**: 1048-1069.

RICKETTS, T. R. (1972): The Interaction of Particulate Material and Dissolved Foodstuff in Food Uptake by *Tetrahymena pyriformis*. Arch.Microbiol., **81**: 344-349.

RIEMANN, B. und R. T. BELL (1990): Advances in Estimating Bacterial Biomass and Growth in Aquatic Systems. Arch.Hydrobiol., **118**: 385-402.

ROELS, J. A., und N.W.F. KOSSEN. 1978. On the Modelling of Microbial Metabolism. In: Bull, M. J. (Hrsg.), *Progress in Industrial Microbiology*. Elsvier Scientific, Amsterdam, Oxford, New York.

ROHNS, H. P. (1991): Comparative studies of the production of oil-degrading bacteria and their use in remediation of contaminated soils. Manuskript.

SAIDEL, G. M. (1968): Bacterial Cell Populations in a Continously Changing Environment. J.Theoret. Biol., **19**: 287-296.

SAITOH, T. und H. ASAI (1982): On a Collision Frequency Restricting the Growth and Population Density of *Tetrahymena pyriformis*. Experientia, **38**: 248-249.

SAMBANIS, A. (1985): Experimental and Modeling Studies on the Dynamics of Cultures of the Ciliate *Tetrahymena pyriformis* Grown on Several Bacterial Species. Ph. D. Thesis. University of Minnesota, Minneapolis.

SAMBANIS, A. und FREDRICKSON A. G. (1987): Long-term Studies of Ciliate-Bacterial Interactions: Use of a Chemostat fed with Bacteria Grown in a Seperate Chemostat. J.Gen. Microbiol., **133**: 1619-1630.

SAMBANIS, A. und A. G. FREDRICKSON (1988): Persistence of Bacteria in the Presence of Viable, Nonencysting, Bacterivorous Ciliates. Microb.Ecol., **16**: 197-211.

SAMBANIS, A. und A. G. FREDRICKSON (1989): Effect of Addition of Wall Growth to a Model of Ciliate-Bacterial Interactions. Biotechnol.Bioeng., **34**: 875-881.

SAMBANIS, A., S. PAVLOU und A. G. FREDRICKSON (1987): Coexistence of Bacteria and Feeding Ciliates: Growth of on Autochtonous Substrates as a Stabilizing Factor for Coexistence. Biotechnol.Bioeng., **29**: 714-728.

SANDERS, R. W., K. G. PORTER, S. J. BENNETT und A. E. DEBIASE (1989): Seasonal Patterns of Bacterivory by Flagellates, Ciliates, Rotifers, and Cladocerans in a Freshwater Planktonic Community. Limnol.Oceanogr., **34**: 673-687.

SCHLEGEL, H. G. (1985): Allgemeine Mikrobiologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.

SCHLÜTER, M. (1984): Kontinuierliche Massenkultur des planktischen Rotators *Brachionus rubens*; (JÜL-1959). Dissertation. Universität Essen/ Forschungszentrum Jülich.

SCHWOERBEL, J. (1987): Einführung in die Limnologie. 6. Auflage. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

SERNETZ, M. und M. MÜLLER (1993): Persönliche Mitteilung. Institut für Biochemie und Endokrinologie, Justus-Liebig Universität, Gießen.

SHANK, B. B., R. B. ADAMS, K. D. STEIDLEY und J. R. MURPHY (1969): A Physical Explanation of the Bimodal Distribution Obtained by Electronic Sizing of Erythrocytes. J.Lab.Clin.Med., **74**: 630-641.

SHERR, B. F., E. B. SHERR und R. D. FALLON (1987): Use of Monodispersed, Fluorescently Labeled Bacteria to Estimate In Situ Protozoan Bacterivory. Appl.Environ. Microbiol., **53**: 958-965.

SHERR, B. F., E. B. SHERR und J. MCDANIEL (1992): Effect of Protistan Grazing on the Frequency of Dividing Cells in Bacterioplankton Assemblages. Appl.Environ.Microbiol., **58**: 2381-2385.

SHERR, E. B. und B. F. SHERR (1991): Planktonic Microbes: Tiny Cells at the Base of the Ocean´s Food Webs. TREE, **6**: 50-54.

SIMEK, K. und T. H. CHRZANOWSKI (1992): Direct and Indirect Evidence of Size-Selective Grazing on Pelagic Bacteria by Freshwater Nanoflagellates. Appl.Environ. Microbiol., **58**: 3715-3720.

SLEIGH, M. A. (1975): The Biology of Protozoa. Edward Arnold, London.

SPRENT, J. (1987): The Ecology of the Nitrogen Cycle. Cambridge University Press, Cambridge, New York, Melbourne.

STERNER, R. W. (1986): Herbivores´ Direct and Indirect Effects on Algal Populations. Science, **231**: 605-607.

STEPHENS, G. C. und N. S. KERR (1962): Uptake of Phenylalanine by *Tetrahymena pyriformis*. Nature, **194**: 4833.

STOUT, J. D. (1980): The Role of Protozoa in Nutrient Cycling and Energy Flow. Adv. Microb.Ecol., **4**: 1-50.

SUDO, R., K. KOBAYASHI und S. AIBA (1975): Some Experiments and Analysis of a Predator-Prey Model: Interaction between *Colpidium campylum* and *Alcaligenes faecalis* in Continous Culture. Biotech.Bioeng., **17**: 167-184.

SWIFT, S. T. (1981): Some Aspects of the Autecology of the Ciliated Protozoan, *Tetrahymena pyriformis*. Ph. D. Thesis. University of Minnesota, Minneapolis.

SWIFT, S. T., I. Y. NAJITA, K. OHTAGUCHI und A. G. FREDRICKSON (1982): Some Physiological Aspects of The Autecology of the Suspension-Feeding Protozoan *Tetrahymena pyriformis*. Microb.Ecol., **8**: 201-215.

TAPPE, W., J. GROENEWEG und C. J. SOEDER (1993): Continuous Axenic Cultivation of Bacteria at Low F/M Ratios: A Link between Laboratory and Nature. *Submitted to Microbial Ecology*.

TAYLOR, J. R. (1984):Predation. Chapman and Hall, New York, London.

TAYLOR, W. D. (1986): The Effect of Grazing by a Ciliated Protozoan on Phosphorus Limitation of Heterotrophic Bacteria in Batch Culture. J.Protozool., **33**: 47-52.

TEMPEST, D.W. und O.M. NEIJSSEL (1978): Eco-Physiological Aspects of Microbial Growth in Aerobic Nutrient-Limited Environments. Adv.MicrobEcol., **2**: 105-153.

TIEDTKE, A. und L. RASMUSSEN (1988): Lysosomal Enzymes in Extracellular Digestion in the Unicellular Eukaryote *Tetrahymena*. J.Cell.Phys., **136**: 554-556.

TOPIWALA, H. H. und G. HAMER (1971): Effect of Wall Growth in Steady-State Continuous Cultures. Biotechnol.Bioeng., **13**: 919-922.

UHLMANN, D. (1988): Hydrobiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena.

VAN DEN ENDE, P. (1973): Predator-Prey Interactions in Continuous Culture. Science, **181**: 562-564.

VAN HOUTEN, J., D. C. R. HAUSER und M. LEVADOWSKY (1981): Chemosensory Behaviour in Protozoa. In: Levandowsky, M., S. H. Hutner und L. Provasoli (Hrsg.), *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Volume 4. 2nd edition. Academic Press, New York, London, Toronto, Sidney, San Francisco.

VARGAS, R. und T. HATTORI (1990): The Distribution of Protozoa Among Soil Aggregates. FEMS Microb.Ecol., **74**: 73-78.

VELDKAMP, H. (1977): Ecological Studies with the Chemostat. Adv.Microb.Ecol., **1**: 59-94

VILLARREAL, E., R. P. CANALE und Z. AKCASU (1975): A Multigroup Model for Predator-Prey Interactions. Biotechnol.Bioeng., **17**: 1269-1290.

VILLARREAL, E., Z. AKCASU und R. P. CANALE (1976): A Theory of Interacting Microbial Populations: Multigroup Approach. J.Theor.Biol., **58**: 285-317.

WATSON, J. M. (1945): Mechanism of Bacterial Flocculation Caused by Protozoa. Nature, **155**: 271-272.

WATSON, P. J., K. OHTAGUCHI und A. G. FREDRICKSON (1981): Kinetics of Growth of the Ciliate *Tetrahymena pyriformis* on *Escherichia coli*. J.Gen.Microbiol., **122**: 323-333.

WEEKERS, P. H. H., BODELIER, P. L. E., WIJEN, J. P. H. und G.D. VOGELS (1991): Differences in Growth Rates and Ammonia Excretion of Soil Amoebae Feeding on Various Food Bacteria. (Vorabdruck, Vortrag bei DGP-Tagung, Gießen)

WENZEL, F. und A. WINKLER (1984): Quantitative Untersuchungen über Nahrungsaufnahme von *Colpoda cucullus* O. F. Müller (Holotricha, Ciliata). Zool.Anz. Jena, **212**: 1-16.

WETZEL, R. G. (1975): Limnology. W.B. Saunders, Philapelphia, London, Toronto.

WILHELM, R. (1989): Experimentelle Simulation subakuter Hemmwirkungen auf Belebtschlamm mit 3,5-Dichlorphenol an Modellkläranlagen: Möglichkeiten der Früherkennung im Rahmen der Abwasserüberwachung. Diplomarbeit. Ruhr-Universität, Bochum.

WILLE Jr., J.J. (1979):Biological Rhythms in Protozoa. In: Levandowsky, M., S. H. Hutner und L. Provasoli (Hrsg.), *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Volume 2. 2nd edition. Academic Press, New York, London, Toronto, Sidney, San Francisco.

WILLIAMS, F. M. (1967): A Model of Cell Growth Dynamics. J.Teor.Biol., **15**: 190.

WISSEL, C. (1989): Theoretische Ökologie - Eine Einführung. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong.

WOLFF, W.F. (1988): Microinteractive Predator-Prey Simulations. In: Wolff, W., Soeder, C.-J. und Drepper, F.R. (Hrsg.), *Ecodynamics*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo.

ZALKINDER, V. (1979 a): Correlation Between Cell Nutrition, Cell Size, and Division Control. Part I. BioSystems, 11: 295-307.

ZALKINDER, V. (1979 b): Correlation Between Cell Nutrition, Cell Size, and Division Control. Part II. BioSystems, 11: 309-322.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. C.J. Soeder und Frau Prof. J. McGlade danke ich für die Bereitstellung von Thema, Arbeitsplätzen und Sachmitteln und die wissenschaftliche Unterstützung am Institut für Biotechnologie 3 und in der Arbeitsgruppe Theoretische Ökologie des Forschungszentrums Jülich.

Herrn Prof. Dr. F. Jauker vom Institut für Tierphysiologie der Universität Gießen danke ich für die Betreuung der Arbeit, für die Arbeitsmöglichkeiten in Gießen und seine fachlichen und menschlichen Gespräche.

Herrn Dr. W. Wolff gilt mein besonderer Dank für die von ihm geleistete "mathematische" Betreuung, Anregungen und Diskussionen.

Herrn Prof. Dr. M.Sernetz danke ich für die interessierte Durchsicht der Arbeit und die daraus erwachsenen Anregungen.

Mein Dank gilt auch Dipl.-Biol. Olaf Heller, der mit seiner Diplomarbeit die Bewertung einiger meiner Versuche erst ermöglichte, und den Praktikanten und Lehrlingen, die durch ihren Einsatz und Interesse zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben: Lothar Poschen, Achim Marx, Sabine Braukmüller, Axel Mahnke, Andrea Flaßkamp.

Zu danken ist auch den Mitarbeitern der verschiedenen Werkstätten im Forschungszentrum Jülich für ihre Unterstützung.

Den Mitarbeitern des IBT 3, insbesondere der "Abwassergruppe", der ATÖ und den Mitarbeitern am Institut für Tierphysiologie in Gießen sei für ihre Unterstützung, Diskussionsfreudigkeit und auch für die freundschaftliche Aufnahme gedankt.

Petra und allen meinen Freunden danke ich für die schöne Zeit.

Meinen Eltern, die mir diesen Lebensweg ermöglicht haben, gilt mein größter Dank.

FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GmbH

KFA

Jül-2835
November 1993
ISSN 0944-2952