KOMPETENZZENTRUM Wasser Berlin

Cylindrospermopsis raciborskii und Cylindrospermopsin in Gewässern der Berliner Region Vorkommen, Ursachen, Auswirkungen

Ergebnisbericht 2004



Forschungsverbund



Leibniz Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei Abteilung Limnologie Geschichteter Seen Alte Fischerhütte 2 16775 Stechlin-Neuglobsow



Brandenburgische Technische Universität Cottbus Fakultät Umweltwissenschaften Lehrstuhl für Gewässerschutz Seestraße 45 15526 Bad Saarow



Umweltbundesamt Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene Corrensplatz 1

14195 Berlin

Das Forschungsprojekt

"Cylindrospermopsis raciborskii und Cylindrospermopsin in Gewässern der Berliner Region Vorkommen, Ursachen, Auswirkungen"

wird seit Februar 2004 vom Kompetenzzentrum Wasser Berlin gefördert und in folgendem Forschungsverbund bearbeitet.

Dr. Claudia Wiedner (Projektkoordination)

Anke Stüken

Leibniz Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (IGB)

Abteilung Limnologie von Geschichteten Seen

Alte Fischerhütte 2

D-16775 Stechlin-Neuglobsow

Tel: +49 33082 69963 Fax: +49 33082 69917

E-Mail: c.wiedner@igb-berlin.de

Prof. Dr. Brigitte Nixdorf

Dr. Jacqueline Rücker

Brandenburgische Technische Universität Cottbus Fakultät Umweltwissenschaften, Gewässerschutz

Seestr. 45

D-15526 Bad Saarow Tel.: +49 33631 8943 Fax: +49 33631 5200

E-Mail: b.nixdorf@t-online.de

Dr. Ingrid Chorus,

Dr. Jutta Fastner, Dr. Karina Preußel

Um welt bundes amt

Corrensplatz 1 14195 Berlin

Tel.: +49 30 8903 1346 Fax: +49 30 8903 1830

E-Mail: ingrid.chorus@uba.de

In dem hier vorgelegten Bericht sind der Stand der Arbeiten und die Ergebnisse bis Dezember 2004 dokumentiert.

Neuglobsow, 20.04.05

Claudia Wiedner

Zusammenfassung

Ziel dieses Projektes ist es, zur Klärung der derzeitigen Verbreitung und Variabilität des toxischen Cyanobakteriums *C. raciborskii* und des Toxins Cylindrospermopsin (CYN) in Gewässern der Berliner Region beizutragen und eine Grundlage zu schaffen, auf welcher deren weitere Entwicklung und das damit verbundene Risiko für Mensch und Umwelt abgeschätzt werden kann.

Die Verbreitung von *C. raciborskii* und CYN wurde in einem Pre-Screening Programm im Sommer 2004 untersucht. Für 142 Gewässer, die sich hinsichtlich Morphometrie, Trophie und Mixistypus unterscheiden, wurde die Zusammensetzung der Cyanobakterien einmalig qualitativ und semi-quantitativ analysiert sowie der CYN Gehalt des Sestons ermittelt.

C. raciborskii wurde in 27,5 % der 142 untersuchten Gewässer nachgewiesen. Ihre relative Häufigkeit wurde überwiegend als vereinzelt (21,1 %) oder häufig (6,3 %) eingeschätzt. Massenentwicklungen der Art traten zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht auf. Als typisches Habitat für C. raciborskii wurden flache eutrophe Gewässer mit niedriger Sichttiefe, und geringen Z_{eu}/Z_{mix} Verhältnissen analysiert. Entgegen bisheriger Annahmen ist die Art jedoch nicht auf Flachseen beschränkt, sondern kann auch in tiefen dimiktischen Gewässern Populationen etablieren. Darüber hinaus wurden vier weitere bedeutende Arten ermittelt. Raphidiopsis curvata und R. mediterranea, die in 5 von 142 Gewässern detektiert wurden. Von beiden Arten ist bekannt, dass sie CYN produzieren können. Anabaena bergii wurde vereinzelt bis häufig in 14,1 % der Gewässer nachgewiesen. Für diese Art wurde der gleiche Habitattyp wie für C. raciborskii festgestellt. Aphanizomenon aphanizomenoides wurde vereinzelt bis häufig in 13,4 % der Gewässer nachgewiesen. Bei beiden Arten handelt es sich wie bei C. raciborskii um Neo-Cyanobakterien, die bisher nur aus tropischen bzw. subtropischen Regionen bekannt waren. Beide produzieren toxische Substanzen, die im Fall von A. aphanizomenoides noch nicht näher identifiziert werden konnten. Im Fall von A. bergii handelt es sich bei einem der Toxine um CYN. Zusammenfassend kann für die hier relevanten Arten festgestellt werden, dass sie weiter verbreitet sind als bisher bekannt war. Die Tatsache, dass C. raciborskii bisher in verhältnismäßig wenigen und A. bergii sowie A. aphanizomenoides bisher gar nicht für das Untersuchungsgebiet beschrieben wurden, wird u.a. auf taxonomische Unklarheiten zurückgeführt.

Bislang wurden 96 Sestonproben aus 80 Gewässern auf CYN untersucht. In 63 % der Proben, bzw. 61 % der Seen wurde CYN in Konzentrationen zwischen 0,1 und 100 µg/g TG nachgewiesen und ist somit in Deutschland weiter verbreitet als bisher angenommen. Ein erster Vergleich der Cyanobakterienzusammensetzung mit dem CYN-Vorkommen zeigt, dass CYN in den untersuchten Gewässern nicht nur von *C. raciborskii* produziert wird, da es auch in Proben gemessen wurde, in denen die Art nicht nachgewiesen wurde. Derzeit werden die beiden oben beschriebenen Arten *A. bergi* und *A. aphanizomenoides* als weitere potentielle CYN-Produzenten in Betracht gezogen sowie eine Reihe weiterer Arten der Gattungen *Anabaena* und *Aphanizomenon*. Eine entgültige Klärung wird nach Abschluss der chemischen und molekularbiologischen Analysen der isolierten Stämme erwartet.

Inhalt

Zusammenfassung

1	Einleitung	3
2	Verbreitung von <i>C. raciborskii</i> , anderen potentiellen CYN-Produzenten und CYN	5
2.1	Material und Methoden.	5
2.1.1	Auswahl der Gewässer	5
2.1.2	Beprobung der Gewässer	5
2.1.3	Qualitative und semi-quantitative Analyse der Cyanobakterien	6
2.1.4	Kartendesign	7
2.1.5	Statistische Analysen	7
2.1.6	CYN-Analytik	8
2.2	Ergebnisse und Diskussion	9
2.2.1	Verbreitung und relative Häufigkeit von <i>C. raciborskii</i> und anderen potentiel CYN-Produzenten	
2.2.2	Datenbank	. 12
2.2.3	Verbreitung von CYN	. 25
3	Identifikation von CYN-produzierenden Cyanobakterien	. 26
3.1	Stammisolation	. 26
3.2	Analyse von Einzelfilamenten der Cyanobakterien	. 26
4	Literatur	. 30
5	Danksagung	. 32

1 Einleitung

Das Cyanobakterium *Cylindrospermopsis raciborskii* ist ein Neo-Cyanobakterium tropischen Ursprungs, das zunehmend in gemäßigten Breiten beobachtet wird. Da diese Art potente Toxine wie das Cylindrospermopsin (CYN) und Paralytic Shellfish Poisons (PSP) produzieren kann, muss seinem Vorkommen in Gewässern, die zur Trinkwassergewinnung oder zur Erholung genutzt werden, besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden. Das derzeit nördlichste Vorkommen von *C. raciborskii*-Populationen wurde in Gewässern der Berliner Region registriert. Über die Verbreitung in dieser Region und den Gewässertyp, der in erster Linie ein geeignetes Habitat für diese Art darstellt, sowie ihre Populationsdynamik, ist bisher wenig bekannt. Informationsdefizite bestehen zudem bezüglich der CYN-Produzenten. In Bioassays wurde gezeigt, dass Stämme der nördlichen *C. raciborskii* Populationen toxisch sind, aber kein CYN produzieren, obwohl CYN in den Seen, aus denen sie isoliert wurden, nachgewiesen wurde. Es stellt sich daher die Frage, ob andere Cyanobakterienarten hier CYN produzieren oder ob sich *C. raciborskii*-Populationen aus zwei Gruppen von Stämmen zusammensetzen: Solchen, die das CYN- kodierende Gen enthalten und solchen, denen dieses Gen fehlt.

Derzeit ist es nicht möglich abzuschätzen ob und in welchem Umfang eine Gefahr für den Menschen und die Umwelt durch toxische *C. raciborskii* Populationen sowie das Toxin CYN gegeben ist und in welchen Gewässern besonders damit zu rechnen ist. Mit diesem Projekt soll eine Basis zur Abschätzung des derzeitigen und zukünftigen Gefährdungspotentials geschaffen werden.

Die konkreten Arbeitsziele des Projektes lassen sich in drei Hauptpunkte gliedern:

- Ermittlung der derzeitigen Verbreitung und Häufigkeit von *C. raciborskii* und CYN in Gewässern der Berliner Region sowie Charakterisierung des Seentypus, der für *C. raciborskii* und CYN-Produzenten die geeignetsten Habitatbedingungen bietet.
- Abschätzung der weiteren Entwicklung von *C. raciborskii* Populationen und der CYN-Konzentration in Gewässern der Berliner Region
- Identifizierung von CYN-produzierenden Cyanobakterien

Zur Klärung von Punkt 1. wurden verschiedene methodische Ansätze geplant. Zum einen der Aufbau einer Datenbank, um bislang unveröffentlichte Daten zu *C. raciborskii* zusammenzuführen, zum anderen die Erhebung von Daten zur Verbreitung von *C. raciborskii* und CYN in einem zweistufigen Screeningprogramm. In der ersten Stufe sollte 2004 ein Pre-Screening zum Vorhandensein von *C. raciborskii* in 60 Gewässern durchgeführt werden. Basierend darauf sollten 20 Gewässer für ein Haupt-Screening in den Jahren 2005/06 ausgewählt werden, bei dem dann sowohl die Abundanz von *C. raciborskii* als auch die Konzentration von CYN in Relation zu relevanten biotischen und abiotischen Umweltfaktoren quantifiziert werden sollen. Das Prescreening wurde bis Ende 2004 erfolgreich abgeschlossen. Es wurden weit mehr Gewässer in die Untersuchung einbezogen als ursprünglich geplant und für einen Teil der Gewässer wurde bereits das CYN Vorkommen analysiert. Die Ergebnisse werden in diesem Bericht detailliert dargestellt und diskutiert.

Zur Klärung von Punkt 2. wurde geplant, die saisonale Dynamik von *C. raciborskii* und CYN sowie deren Steuermechanismen in Fallstudien an zwei Gewässern im Verlauf von 2004/05 zu untersuchen. Die Beprobung der Gewässer und Erhebung von Daten wurden wie geplant durchgeführt. Derzeit wird noch ein Teil der Proben analysiert. Die Abschließende Auswertung der Daten ist für Ende 2005 geplant. Auf diesen Punkt wird daher hier nicht weiter eingegangen.

Zur Bearbeitung von Punkt 3., der Identifizierung der CYN-produzierenden Cyanobakterien, waren zwei methodische Ansätze vorgesehen: Zum einen sollten Stämme isoliert und auf ihren CYN-Gehalt analysiert werden. Zum anderen sollten mit Hilfe genetischer Methoden einzelne Filamente auf die Präsenz des CYN-codierenden Gens analysiert werden. Für beide Ansätze ist der Stand der derzeitigen Arbeiten hier kurz dargestellt.

2 Verbreitung von C. raciborskii, anderen potentiellen CYN-Produzenten und CYN

Zur Erfassung der Verbreitung von *C. raciborskii*, anderen potentiellen CYN-Produzenten und CYN, wurde im Sommer 2004 ein Pre-Screening durchgeführt, bei dem deren Vorkommen in einer möglichst großen Anzahl von Gewässern (ursprünglich waren 60 Gewässer geplant) einmalig ermittelt wurde. Ferner wurde analysiert welcher Gewässertyp in erster Linie ein geeignetes Habitat für *C. raciborskii* darstellt. Damit sollte eine erste Basis geschaffen werden, auf der eingeschätzt werden kann ob, in welchem Umfang und in welchen Gewässern eine Gefahr durch CYN gegeben ist.

2.1 Material und Methoden

2.1.1 Auswahl der Gewässer

Eine Reihe unterschiedlicher Kriterien wurde bei der Auswahl der Gewässer berücksichtigt, um sowohl Aussagen über die Verbreitung, das Gefährdungspotential und das Habitat von C. raciborskii treffen zu können. Es sollten möglichst alle Berliner Gewässer einbezogen werden, da diese intensiv zu Erholungszwecken und zum Teil auch zur Trinkwassergewinnung genutzt werden. Dies wurde für die größeren Gewässer im Stadtgebiet von Berlin auch umgesetzt. Für die ca. 3000 bisher erfassten Gewässer (Hemm und Jöhnk, 2004) des Landes Brandenburg war dies natürlich nicht möglich. Um Aussagen zur Verbreitung treffen zu können, wurde hier angestrebt, möglichst flächendeckend Gewässer aus allen Regionen, Einzugsgebieten und Seenketten zu berücksichtigen. Um erste Anhaltspunkte über den Gewässertyp, der das geeignetste Habitat für C. raciborskii darstellt zu bekommen, wurden Gewässer unterschiedlicher Morphometrie (Fläche, Volumen, Tiefe), Trophie und Mixistypus (dimiktisch und polymiktisch) ausgewählt. Insgesamt wurden 142 Gewässer untersucht, die in Tabelle 2 aufgelistet sind. Das sind mehr als doppelt so viele Gewässer als ursprünglich geplant, was zum einen dem großen Enthusiasmus aller Mitwirkenden aus den Instituten der Projektnehmer zu verdanken ist, und zum anderen der Mithilfe externer Kooperationspartner.

2.1.2 Beprobung der Gewässer

Die Gewässer wurden im Zeitraum von Juni-September 2004 einmalig beprobt. Die Proben wurden an der tiefsten Stelle genommen, soweit diese bekannt war, ansonsten in der Mitte der Gewässer. Mit Planktonnetzen wurden mehrere Vertikalzüge aus der gesamten Wassersäule entnommen. In trüben, eutrophierten Gewässern wurden dazu Planktonnetze einer Maschenweite von 25 µm verwendet in wenig trüben oligobis mesotrophen Gewässern wurden Netze mit 10 µm verwendet. Zur groben Abschätzung der Trophie wurde die Secchitiefe (Sichttiefe) gemessen. Die aufkonzentrierten Netzzüge wurden in 4 Aliquots aufgeteilt:

- Lebendprobe (unfixiert), zur sofortigen Analyse der Cyanobakterien
- Rückstellprobe (mit Formol fixiert, Endkonzentration 4%) für spätere Kontrollanalysen

- Probe für den späteren Test auf CYN-kodierende Gene in einzelnen Cyanobakterien Filamenten (mit 50% Glycerin fixiert und tiefgefroren, -20°C)
- Probe zur späteren CYN Analyse (tiefgefroren, -20°C)

2.1.3 Qualitative und semi-quantitative Analyse der Cyanobakterien

Die qualitative und quantitative Analyse von Cyanobakterien ist mit einer Reihe von Problemen verbunden. Das größte Problem besteht darin, dass es bis heute keine allgemein anerkannte Systematik und Taxonomie gibt. Zum einen werden Cyanobakterien nach dem botanischen Code behandelt, wonach Arten größten Teils nach morphologischen Gesichtspunkten unterschieden werden. Dies hat aufgrund der sehr variablen Morphologie von Cyanobakterien in der Vergangenheit zu einer immer weiteren Aufspaltung von Morphotypen bzw. Arten geführt. Es gibt daher keinen allgemein anerkannten Bestimmungsschlüssel. Zum anderen werden Cyanobakterien nach dem bakteriellen Code behandelt, wonach Arten in erster Linie anhand der DNA Polymorphismen in der Sequenz der ribosomalen DNA unterschieden werden. Nach den Kriterien des bakteriellen Codes würde sich die Anzahl der Arten drastisch reduzieren, auf weit weniger als aus ökologischer Sicht für notwendig erachtet wird.

In ökologischen Studien ist man derzeit mit dem Problem konfrontiert, dass man viele nach dem botanischen Code beschriebene Arten nicht zweifelsfrei unterscheiden kann. Beispielsweise besteht ein fließender Übergang in einem Merkmal (z.B. Zelldurchmesser) zwischen zwei Arten oder Bestimmungsmerkmale wie die Form und Lage von Heterozysten und Akineten bei den Nostocales, sind nicht bekannt, da diese nicht immer vorhanden sind. Eine Unterscheidung nach dem bakteriellen Code ist in ökologischen Studien nicht möglich.

Daher wurde hier während einer Reihe von Workshops eine projektinterne Taxaliste erarbeitet (Tabelle 1). Diese Liste sollte die wichtigsten, für Norddeutschland relevanten Taxa beinhalten (mit Ausnahme des autotrophen Piccoplanktons). Des weiteren sollten alle Taxa sowohl bei qualitativen als auch bei quantitativen mikroskopischen Analysen unterscheidbar sein. Die erarbeitete Liste umfasst insgesamt 48 Cyanobakterien Taxa aus den drei Ordnungen Nostocales, Oscillatoriales und Chroococales. Da CYN-produzierende Cyanobakterien bisher ausschließlich aus der Ordnung Nostocales bekannt sind, wurden alle Nostocales, soweit möglich, bis auf Artniveau berücksichtigt. Bei den Oscillatoriales wurde mit Ausnahme der beiden *Planktothrix* Arten (*P. agardhii* und *P. rubescens*) auf Gattungsniveau bestimmt. Bei den Chroococales wurden aus der Gattung *Microcystis* die vier häufigsten und gut unterscheidbaren Arten bzw. Morphotypen (*M. aeruginosa, M. flos-aquae, M. wesenbergii* und *M. viridis*) getrennt erfasst und alle weiteren Morphotypen unter *Microcystis* spp. zusammengefasst. Alle anderen Chroococales wurden auf Gattungsniveau bestimmt.

Für alle Netzproben aus den Untersuchungsgewässern wurde eine Taxaliste erstellt. Dabei wurde die relative Häufigkeit für alle Taxa unterteilt in vier Kategorien erfasst: nicht vorhanden (0), vereinzelt (1), häufig (2), massenhaft (3).

Tabelle 1. Liste der Cyanobakterien Taxa, die in dieser Studie unterschieden und berücksichtigt wurden.

N	A ST	toc	ala	20
11	USI	ιυυ	an	-5

Anabaena affinis
Anabaena circinales
Anabaena compacta
Anabaena crassa
Anabaena flos-aque
Anabaena lemmermannii
Anabaena macrospora
Anabaena mendotae
Anabaena planctonica
Anabaena sigmoidea
Anabaena solitaria
Anabaena spiroides
Anabaena viguieri
Anabaena bergii

Anabaenopsis arnoldii Anabaenopsis circularis Anabaenopsis cunningtonii Anabaenopsis elenkinii

Anabaena spp.

Aphanizomenon aphanizomenoides

Aphanizomenon flos-aque Aphanizomenon gracile Aphanizomenon issatschenkoi Cylindrospermopsis raciborskii

Raphidiopsis curvata Raphidiopsis mediterranea

Oscillatoriales

Limnothtirx redekei Limnothrix spp. Planktolyngbya spp. Oscillatoria spp. Phormidium spp. Planktothrix agardhii Planktothrix rubescens Pseudanabaena spp.

Chroococales

Aphanocapsa spp.
Aphanothece spp.
Chroocoocus spp.
Coelosphaerium spp.
Gomphosphaeria spp.
Merismopedia spp.
Microcystis aeruginosa
Microcystis flos-aquae
Microcystis viridis
Microcystis wesenbergii
Microcystis spp.
Rhabdoderma spp.
Snowella spp.

Woronichinia spp.

2.1.4 Kartendesign

Die Verbreitungskarten wurden mit ArcView GIS 3.2 (ESRI Inc.) erstellt unter Verwendung von geographischen Koordinaten in Grad, Word Geodetic System 84 (WGS 84). Hintergrunddaten stammen aus einem vom Umweltbundesamt geförderten Projekt der BTU Cottbus (Nixdorf et al. 2004). Alle im Rahmen dieses Projektes erhobenen Daten wurden in eine Microsoft® Access 2002 Datenbank aufgenommen, die mit dem geographischen Informationssystem verbunden wurde.

2.1.5 Statistische Analysen

Zusammenhänge zwischen dem Auftreten von *C. raciborskii*, *Anabaena bergii* bzw. *Aphanizomenon aphanizomenoides* und den folgenden Gewässermerkmalen wurden analysiert: Gewässeroberfläche, -volumen, maximale Tiefe (Z_{max}), Secchitiefe (Z_s) und das Verhältnis von euphotischer zu durchmischter Tiefe (Z_{eu}/Z_{mix}). Z_{eu} wurde geschätzt als 2.5 x Z_s . Die durchmischte Tiefe wurde auf Grundlage der morphometrischen Daten geschätzt. Für Gewässer tiefer als 6 m wurde die theoretische Epilimniontiefe (Z_{epi}) in

Anlehnung an Ventz (1974) für Z_{mix} eingesetzt. Für flachere Gewässer wurde die mittlere Tiefe (Z_{mean}) für Z_{mix} eingesetzt. Z_{mean} wurde aus dem Verhältnis von Seevolumen zu Seeoberfläche kalkuliert. Wenn diese Daten nicht bekannt waren, dann wurde die maximale Tiefe für (Z_{max}) anstelle der mittleren Tiefe verwendet. Jedes Gewässer wurde nur einmal in den Analysen berücksichtigt. Von Gewässern die häufiger beprobt wurden, wurden Daten der Beprobung mit der höchsten relativen Häufigkeit von *C. raciborskii* verwendet. Die Daten waren nicht normalverteilt. Mann Whitney U-Tests wurden zum Vergleich von Gewässern, in denen eine bestimmte Art vorkam, mit solchen, in denen diese Art nicht vorkam, durchgeführt. Mit Spearman's rank-order Korrelationen wurde die Unabhängigkeit der Variablen geprüft. Alle statistischen Analysen wurden mit der Software SPSS 9.0 für Windows durchgeführt. Boxplots wurden mit Microcal Origin 6.1 erstellt.

2.1.6 CYN-Analytik

Für die CYN-Analytik wurde das Seston wie oben beschrieben mit einem Planktonnetz angereichert, gefriergetrocknet und anschließend homogenisiert. Je ca. 5 mg Seston wurde in Eppendorfgefäße eingewogen und mit reinem Wasser nach Welker *et al.* (2002) extrahiert. CYN wurde direkt in den Rohextrakten mit LC-MS/MS in Anlehnung an Eaglesham *et al.* (1999) analysiert. Der massenspektrometrische Nachweis von CYN erfolgte im MRM (Multiple Reaction Monitoring)-Modus mit den Übergängen *m/z* 416/194 und *m/z* 416/176. Die Quantifizierung erfolgte mit dem Übergang *m/z* 416/194 mit einer Nachweisgrenze von 0,1 μg/g TG.

2.2 Ergebnisse und Diskussion

2.2.1 Verbreitung und relative Häufigkeit von *C. raciborskii* und anderen potentiellen CYN-Produzenten

Die qualitative Auswertung der Gewässerproben ergab, dass alle in Tabelle 1 aufgelisteten Taxa in mindestens einem Gewässer gefunden wurden. An dieser Stelle können nicht alle Taxa besprochen werden. Sie sind jedoch für eventuelle spätere Analysen in der Datenbank gespeichert. Auf die für diese Studie relevanten Arten wie *C. raciborskii* und weitere potentielle CYN-Produzenten und Neo-Cyanobakterien wird im Folgenden jedoch detailliert eingegangen.

C. raciborskii wurde in 27,5 % (39) der 142 untersuchten Gewässern nachgewiesen (Tab. 2; Abb.1, 2 u.7). Dort wo sie auftrat, wurde ihre Häufigkeit auf der semi-quantitativen Skala überwiegend als vereinzelt (21,1 %) oder häufig (6,3 %) eingeschätzt, nie als massenhaft (Abb. 8a). Populärwissenschaftlich gerne als "blooms" bezeichnete Massenentwicklungen der Art traten demnach zum Zeitpunkt der Untersuchung in keinem der Gewässer auf. Zu den hier erhobenen Daten wurden unpublizierte Befunde zum Vorkommen der Art in 39 Gewässern zwischen 1995-2004 recherchiert (Tab. 3), wovon 21 Seen im Rahmen des Pre-Screenings noch einmal untersucht wurden. Allerdings wurde in 6 von ihnen C. raciborskii am Untersuchungstermin 2004 nicht gefunden. Damit ist insgesamt das Vorkommen von C. raciborskii in 62 Gewässern des Untersuchungsgebietes belegt. Hinzu kommt noch ein bayerischer See (Klostersee bei Ebersberg). Das bedeutet, dass die Art deutlich weiter verbreitet ist, als bisher bekannt war. Wie aus den Abbildungen 2 und 7 deutlich wird, ist C. raciborskii gleichmäßig im Untersuchungsgebiet verteilt. Es wurden keine Anhäufungen in bestimmten Regionen oder Seenketten beobachtet.

Sie kann in einem großen Bereich unterschiedlicher Habitate vorkommen: in sehr flachen und tiefen Gewässern (Abb. 9), in solchen mit einer sehr hoher bis zu einer sehr niedrigen Sichttiefe (Fig. 10), über einen großen Bereich des Z_{eu}/Z_{mix} Verhältnisses (Fig. 11), der Gewässeroberfläche (0.06 - 12.07 km²) und des Gewässervolumens (0.20 - 108.23 Mio. m³). Dennoch unterschieden sich jene Habitate, in denen sie vorkam, signifikant von solchen, in denen sie nicht vorkam: sie sind flacher (Z_{max} : n=131, $Z_{-2.871}$, p=0.004, Fig. 5), haben eine geringere Secchitiefe (Z_{S} : n=136, $Z_{-3.861}$, p<0.001, Fig. 6) und eine geringeres Verhältnis von Z_{eu}/Z_{mix} (Z_{eu}/Z_{mix} : n=129, $Z_{-4.133}$, p<0.001, Fig. 7). Keine signifikanten Zusammenhänge konnten zwischen dem Auftreten von C. raciborskii und dem Gewässervolumen sowie der Gewässeroberfläche hergestellt werden.

 $C.\ raciborskii$ bevorzugt demnach als Habitat flache eutrophe Gewässer mit niedriger Sichttiefe, in denen die euphotische Tiefe stets kleiner als die Durchmischungstiefe ist. (geringe Z_{eu}/Z_{mix} Verhältnisse).

Welcher der bisher untersuchten Faktoren in erster Line das Auftreten der Art bestimmt, kann hier noch nicht gesagt werden. Da die Secchitiefe sowohl zur Abschätzung der Lichtbedingungen als auch des Trophiestatus der Gewässer dient, bleibt offen ob Licht oder Nährstoffe oder beides von Bedeutung sind. Die Tatsache, dass *C. raciborskii* Habitate mit geringem Z_{eu}/Z_{mix} Verhältnis bevorzugt spricht dafür,

dass sie eine schwachlichttolerante Art ist. Dieser Befund deckt sich mit Freilandbeobachtungen aus anderen Studien (z.B. Fabbro und Duivenvoorden). Für die hier erhobenen Daten muss jedoch einschränkend daraufhingewiesen werden, dass die Variablen Z_{eu}/Z_{mix} und Secchitiefe signifikant miteinander korreliert sind (Z_S and Z_{eu}/Z_{mix}: n=128, r_S=0.755, p<0.001), d. h. alle Gewässer mit geringem Z_{eu}/Z_{mix} haben auch eine geringe Sichttiefe. Die Korrelation zwischen dem Auftreten von C. raciborskii und Zeu/Zmix könnte daher rein zufällig sein. Ein ähnliches Problem ergibt sich bei der Frage nach dem unterschiedlichen Einfluss von Secchitiefe und Gewässertiefe (Z_{max}). Beide sind signifikant mit dem Auftreten von C. raciborskii korreliert, jedoch auch signifikant miteinander korreliert (Z_S and Z_{max}: n=127, r_S =0.727, p<0.001). Das bedeutet, dass flache Seen, die in der Regel polymiktisch sind, durch den intensiven Sedimentkontakt natürlicherweise einen höheren trophischen Zustand haben. Dieser spiegelt sich in den untersuchten Gewässern in einer hohen Biomasse planktischer Algen wider, der zu den geringen Sichttiefen führt. Makrophyten dominierte Flachseen mit relativ klarem Wasser kommen im Untersuchungsgebiet kaum noch vor. Dieser Seentyp verschwand im Zuge der Eutrophierung im vergangenen Jahrhundert. Schließlich wird die weitere Aufklärung der Faktoren, die das Auftreten und letztlich auch die Dynamik der Art steuern, erst mit den Daten der Untersuchungen, die für 2005/06 geplant sind, möglich sein.

Ein bedeutender Aspekt, der aus den bisherigen Ergebnissen hervorgeht, ist die Tatsache, dass *C. raciborskii* zwar häufiger in Flachseen auftritt, allerdings nicht auf diese beschränkt ist. Sie wurde auch in tiefen dimiktischen Seen beobachtet. Daten zum Vorkommen der Art über die letzten 10 Jahre im Scharmützelsee (hier nicht dargestellt) verdeutlichen darüber hinaus, dass es sich hierbei nicht um kurze temporäre Auftritte handelt, sondern, dass sich Populationen der Art durchaus in tiefen Gewässern etablieren können. Bisher war man davon ausgegangen, dass die Art aufgrund ihrer hohen Temperaturansprüche auf Flachsseen beschränkt ist, die eine vergleichsweise höhere mittlere Wassertemperatur aufweisen als tiefe Seen Padisak (1997).

Bei der qualitativen Analyse der Cyanobakterienzusammensetzung wurden 4 weitere bedeutende Arten ermittelt:

Raphidiopsis curvata und **R. mediterranea** (Abb. 1), die in 5 von 142 Gewässern detektiert wurden. Von beiden Arten ist bekannt, dass sie CYN produzieren können. Die Arten wurden zuvor in Gewässern Nordeuropas beschrieben allerdings in sehr geringen Abundanzen, weshalb sie wahrscheinlich bisher nicht als CYN Produzent berücksichtigt wurden.

Anabaena bergii Ostenfeld 1908 (Tab. 2; Abb. 3, 4 u.7) wurde in 14,1 % aller Gewässer nachgewiesen, wobei ihre relative Häufigkeit überwiegend als vereinzelt (11,3 %) oder häufig (2,8 %) eingeschätzt wurde, nie als massenhaft (Abb. 8b). Wie für C. raciborskii wurde auch für A. bergii festgestellt, dass Gewässer, in denen die Art vorkommt signifikant flacher sind als Gewässer, in denen die Art nicht vorkommt (Z_{max} : n=131, Z=-2.590, p=0.010) und sie haben eine signifikant geringere Sichttiefe (Z_S : n=136, Z=-2.281, p=0.023). Weder das Verhältnis von Z_{eu}/Z_{mix} noch Gewässervolumen oder –oberfläche haben einen signifikanten Effekt auf das Vorkommen der Art.

Aphanizomenon aphanizomenoides (Forti) (Tab. 2; Abb. 5, 6 u. 7) wurde in 13,4 % aller Gewässer nachgewiesen, wobei ihre relative Häufigkeit überwiegend als vereinzelt (12,0 %) oder häufig (1,4 %) eingeschätzt wurde, nie als massenhaft (Abb. 8c). Keiner der hier analysierten Gewässerparameter hatte einen signifikanten Effekt auf das Vorkommen von A. aphanizomenoides.

Bei beiden, *A. bergii* und *A. aphanizomenoides*, handelt es sich wie bei *C. raciborskii* um Neo-Cyanobakterien, die bisher nur aus tropischen, subtropischen oder südosteuropäischen Regionen bekannt waren (Horécka und Komárek, 1979; Cirkaltindag, 1992; Komárek und Ettl, 1985).

Für beide Arten ist die taxonomische Einordnung bis heute strittig. A. aphanizomenoides wurde ursprünglich von Forti (1912) der Gattung Anabaena zugeordnet, weshalb sie auch heute noch häufig als Anabaena aphanizomenoides in der Literatur auftaucht. In diesem Projekt wurde sie in Anlehnung an Horécka und Komárek (1979) aufgrund der Form ihrer Endzellen der Gattung Aphanizomenon zugeordnet. A. bergii, die hier nach Hindak (2000) bestimmt wurde, ist nicht oder nur sehr schwierig von Anabaena minderi Huber-Pestalozzi und Aphanizomenon ovalisporum Forti zu unterscheiden. A. minderii und A. bergii unterscheiden sich nur anhand der Form und Größe ihrer Akineten (Hindak 2000). Für A. bergii und A. ovalisporum mehren sich Hinweise, nach denen es sich hierbei um Morphotypen einer Art handelt (Komárek und Ettl, 1958; Shaw et al 1999; Ferguesson & Saint, 2000). Es ist daher bedeutend zu vermerken, dass von A. ovalisporum, zunehmend Massenentwicklungen in Israel (Banker et al. 1997) und Australien (Shaw et al. 1999) beobachtet werden und, dass sie CYN (Banker et al. 1997) produziert. Bezüglich A. aphanizomenoides und A. bergii ist wenig über deren Verbreitung und Ökologie bekannt. Beide produzieren toxische Substanzen, die im Fall von A. aphanizomenoides noch nicht näher identifiziert werden konnten (Hiripi et al 1998). Im Fall von A. bergii handelt es sich bei einem der Toxine um CYN (Schembri et al. 2001). Sowohl A. bergii als auch A. aphanizomenoides werden hier als potentielle CYN-Produzenten in Betracht gezogen.

Zusammenfassen kann für die hier relevanten Arten *C. raciborskii, Anabaena bergii* und *Aphanizomenon aphanizomenoides* festgestellt werden, dass sie alle weiter verbreitet sind als bisher bekannt war. Zudem ist davon auszugehen, dass ihr Vorkommen hier sogar noch unterschätzt wurde, weil sie aufgrund des verspäteten Sommers, in einigen Gewässern wahrscheinlich erst nach der Probenahme auftraten.

Die Tatsache, dass *C. raciborskii* bisher in verhältnismäßig wenigen und *A. bergii* sowie *A. aphanizomenoides* bisher gar nicht für das Untersuchungsgebiet beschrieben wurden, ist mit Sicherheit auch ein Resultat der ungeklärten Taxonomie sowie unzureichenden taxonomischen Kenntnissen. Dies verdeutlicht wie wichtig eine baldige Klärung der Cyanobakterien Taxonomie ist sowie der Erhalt und Ausbau taxonomischer Kenntnisse in der Lehre und Ausbildung. Ökologie ist ohne Taxonomie nicht möglich und auch in der Praxis ist Taxonomie von großer Bedeutung, wie diese Studie belegt. Mit fundierten taxonomischen Kenntnissen lässt sich schließlich in einem ersten Schritt wesentlich schneller und kostengünstiger mikroskopisch klären, ob eine Gefahr durch toxische Cyanobakterien gegeben ist als mit teuren chemisch-analytischen Verfahren.

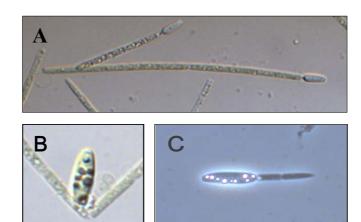
2.2.2 Datenbank

Die Sammlung und Verwaltung der durch die einzelnen Verbundpartner erhobenen Daten erfolgt in einer Microsoft® Access 2002 Datenbank. Ebenso wurden die für Deutschland recherchierten Funde von *C. raciborskii* aufgenommen (Tab. 3). Dabei ermöglichte die Übernahme bereits bestehender Seenummern die Verknüpfung zu der "Datenbank stehender Gewässer in Deutschland", die im Rahmen eines vom UBA geförderten Projektes am Lehrstuhl Gewässerschutz der BTU Cottbus aufgebaut wurde (Hemm & Jöhnk 2004, Nixdorf et al. 2004). Nur so war es möglich, in relativ kurzer Zeit morphometrische und topographische Daten einer so großen Anzahl von Seen zusammenzutragen.

Cylindrospermopsis raciborskii

Abb. 1. Mikroskopische Aufnahmen eines *C. raciborskii* Kulturstammes, der aus dem Melangsee isolierten wurde.

- A: Filamente mit endständigen Heterozysten,
- B: Akinete (Dauerzelle)
- C: keimende Akinete (Phasen-kontrastaufnahme).



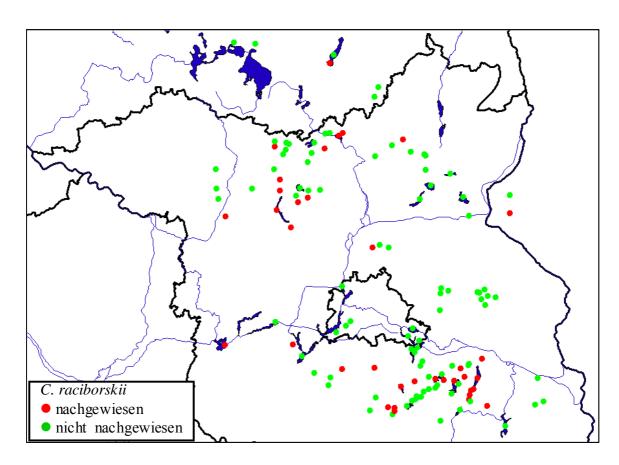


Abb. 2. Verbreitung von *C. raciborskii* im Sommer 2004 in Gewässern von Berlin, Brandenburg und Teilen Mecklenburg Vorpommerns.

Aphanizomenon aphanizomenoides

Abb. 3. A. aphanizomenoides;
A: mikroskopische Aufnahmen eines nach der
Heterozyste abgebrochenen
Filamentes aus dem Langen
See im Sommer 2004,
B: Zeichnung nach

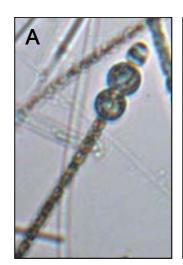




Abb. 4. Verbreitung von *Aphanizomenon aphanizomenoides* im Sommer 2004 in Gewässern von Berlin, Brandenburg und Teilen Mecklenburg Vorpommerns.

Anabaena bergii

Abb. 5. A. bergii;

A: mikroskopische Aufnahmen eines Filaments Filamentes aus dem Langen See im Sommer 2004,

B: Zeichnung





Abb. 6. Verbreitung von *Anabaena bergii* im Sommer 2004 in Gewässern von Berlin, Brandenburg und Teilen Mecklenburg Vorpommerns.

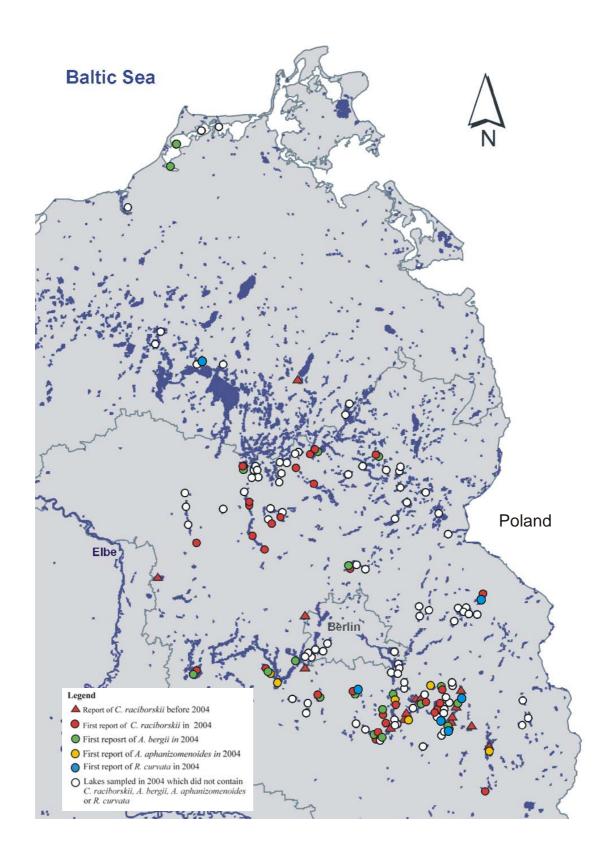


Abb. 7. Zusammenfassende Darstellung der Vorkommen von *C. raciborskii*, *Raphidiopsis* spp., *Anabaena bergii* und *Aphanizomenon aphanizomenoides* in Berlin, Brandenburg und Teilen Mecklenburg Vorpommerns.

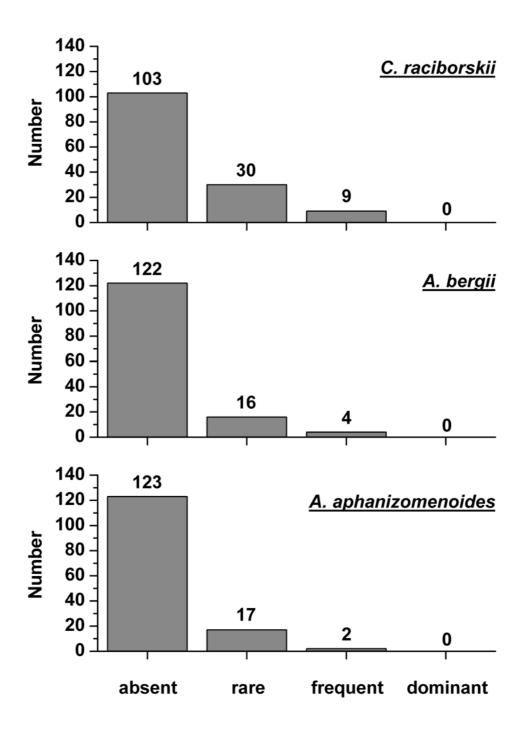


Abb. 8. Relative Häufigkeit von *C. raciborskii*, *Anabaena bergii* und *Aphanizomenon aphanizomenoides*.

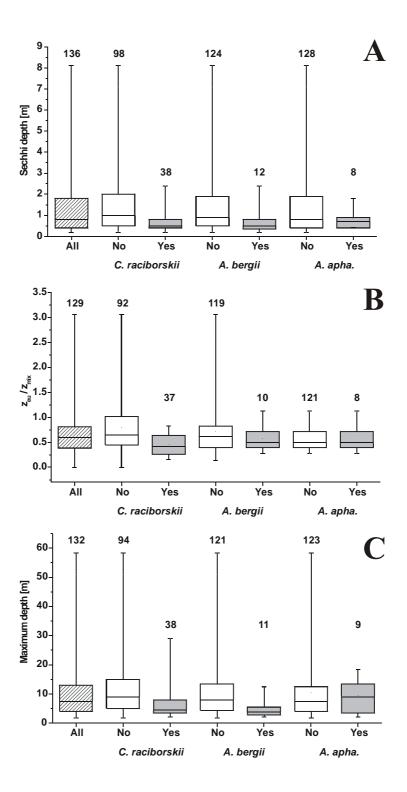


Abb. 9. Box-Whisker-Plots zum Vorkommen von *C. raciborskii*, *A. bergii*, und *A. aphanizomenoides* (A. apha.) in Abhängigkeit von der Secchitiefe (A), dem Verhältnis von Z_{eu}/Z_{mix} und der maximalen Gewässertiefe (C). Alle untersuchten Gewässer sind durch den schraffierten Plot dargestellt. Für jede Art sind Gewässer, in denen sie vorkommt durch den grau ausgefüllten Plot dargestellt und solche, in denen sie nicht vorkommen durch den leeren Plot. Jeder Plot gibt den Median wieder, 25 % Perzentile durch den dicken Balken und 75 % Perzentile durch den Fehlerbalken, dessen äußere Begrenzungen gleichzeitig den minimalen und maximalen Wert dargestellen. Die Zahlen über den Plots stehen für die Stichprobengröße N.

Tabelle 2: Liste aller Gewässer, die in dem Screening in 2004 untersucht wurden. Die relative Häufigkeit von *C. raciborski* (C.r.), *Anabaena bergii* (A.b.) und *Aphanizomenon aphanizomenoides* (A.a.) ist angegeben mit: leeres Feld = nicht gefunden, * = vereinzelt, ** häufig. Cylindrospermopsin (CYN) Konzentrationen: n.n.= nicht nachgewiesen, leere Felder = nicht gemessen. Gewässerparameter: Sichttiefe (Secchi), Fläche (A) und maximale Tiefe (Z_{max}). Geographische Koordinaten als Hoch- und Rechts-Werte (H/R). Beprobung durch externe Partner: UNI R: Prof. Dr. U. Karsten, Institut für Biowissenschaften, Angewandte Ökologie, Universität Rostock. ILAT: Dr. Antje Köhler, Institut für Lebensmittel, Arzneimittel und Tiersuchen, Berlin.

Gewässer	ässer Cyanobakterien		erien	CYN	Secchi	Α	Z_{max}	Geographische	Probenahme	
	C.r.	A.b.	A.a.	(µg/g)	(m)	(km²)	(m)	Koordinaten	Datum	Inst.
Alter Wochowsee					0,2	0,32	2,5	R:4631907 H:5789254	06.09.04	BTU
Bikowsee				0,53	0,6	0,31	11,0	R:4559710 H:5890953	22.07.04	IGB
Blankensee				n.d.	0,4	2,90	3,9	R:4576527 H:5788696	11.08.04	BTU
Bodtstedter Bodden					0,4			R:4540507 H:6029471	06.09.04	UNI R
Bötzsee					1,6	0,86	12,0	R:4624122 H:5827583	25.08.04	BTU
Braminsee	*	*		5,77	0,3	0,69	2,2	R: 553816 H:5889876	24.08.04	IGB
Breiter Luzin				n.d.	3,4	3,45	58,3	R:4597825 H:5914917	20.07.04	IGB
Breitlingsee	*	*			0,6	5,13	4,5	R:4532741 H:5805783	07.09.04	BTU
Bruchsee				0,44	0,7	0,20	2,2	R:4603548 H:5890366	29.07.04	IGB
Buckowsee				n.d.	2,4	0,13	11,0	R:4640483 H:5827999	13.07.04	BTU
Bückwitzer See	*				0,4	0,49	8,0	R:4532988 H:5860053	18.08.04	IGB
Bützsee	*			4,93	0,7	2,23	4,0	R:4560604 H:5855710	18.08.04	IGB
Dagowsee					0,9	0,22	9,5	R:4570550 H:5891508	02.08.04	IGB
Dämeritzsee					0,9	1,03	5,7	R:4618076 H:5811378	14.09.04	ILAT
Die Lieps	**				0,3	4,31	3,8	R:4577069 H:5925122	27.09.04	IGB
Dobrasee					4,2	0,24	10,0	R:4628768 H:5785147	03.08.04	BTU
Dolgensee		*		1,99	0,4	1,52	2,5	R:4619161 H:5792126	15.07.04	BTU
Dollgower See				0,58	0,4	0,18	1,7	R:4567831 H:5883080	23.07.04	IGB
Düstersee				2,00	2,6	0,43	9,0	R:4617874 H:5885916	29.07.04	IGB
Fängersee					1,5	0,46	5,0	R:4624402 H:5829797	25.08.04	BTU
Globsowsee				0,25	1,2	0,14	4,0	R:4574992 H:5889026	02.08.04	IGB
Gr. Däbersee				3,22	1,9	0,19	16,0	R:4641264 H:5825279	13.07.04	BTU
Gr. Glubigsee	*		*	5,48	0,6	0,58	13,0	R:4636908 H:5786369	10.08.04	BTU
Gr. Klobichsee				0,36	1,4	0,47	9,5	R:4644120 H:5826665	13.07.04	BTU
Gr. Kolpiner See				n.d.	0,6	0,22	4,6	R:4636267 H:5797642	16.06.04	BTU
Gr. Kossenblatter See	**				0,2	1,68	3,2	R:4643938 H:5779948	20.09.04	BTU
Gr. Linowsee				0,13	3,9	0,34	18,0	R:4557350 H:5886407	22.07.04	IGB
Gr. Moddersee			*		0,4	0,29	2,0	R:4613858 H:5783016	14.07.04	BTU
Gr. Möggelinsee	*			8,72	0,3	0,37	2,6	R:4604511 H:5778988	12.08.04	BTU
Gr. Müggelsee					4,1	7,67	8,9	R:4612224 H:5812892	11.08.04	IGB
Gr. Müllroser See					1,5	1,27	7,0	R:4665331 H:5791556	08.09.04	BTU
Gr. Plessower See	*		*		1,8	3,22	13,4	R:4561402 H:5805989	07.09.04	BTU

Gewässer	wässer Cyanobakterien		CYN Secchi A			Z_{max}	Geographische	Probenahme		
	C.r.	A.b.	A.a.	(µg/g)	(m)	(km²)	(m)	Koordinaten	Datum	Inst.
Gr. Präßnicksee					1,6	1,14	12,0	R:4617659 H:5879749	29.07.04	IGB
Gr. Schauener See	*				0,3	1,46	4,5	R:4629796 H:5790609	20.09.04	BTU
Gr. Schlagenthinsee					1,9	0,16	7,0	R:4643025 H:5822810	13.07.04	BTU
Gr. Seddiner See				39,56	0,6	2,18	7,2	R:4570431 H:5793837	11.08.04	BTU
Gr. Storkower See (N)					2,0	1,39	11,4	R:4633458 H:5793068	28.06.04	BTU
Gr. Storkower See (S)	*				1,3	2,33	8,0	R:4635364 H:5790768	30.08.04	BTU
Gr. Tornowsee					2,3	0,09	9,6	R:4642699 H:5829229	13.07.04	BTU
Gr. Treppelsee			*		0,4	0,71	5,6	R:4667906 H:5781740	08.09.04	BTU
Gr. Wannsee					1,1	2,82	9,8	R:4579887 H:5811262	20.07.04	UBA
Gr. Wünsdorfer See				1,63	0,5			R:4600400 H:5780687	09.08.04	BTU
Gr. Zechliner See					3,7	1,84	36,8	R:4553741 H:5891993	22.07.04	IGB
Gr. Zeschsee				13,56	4,6	0,38	15,0	R: 4603861 H:5776321	12.08.04	BTU
Grimnitzsee				n.n.	2,0	7,77	9,0	R:4619867 H:5873359	29.07.04	IGB
Grössinsee				n.n.	0,4	0,93	2,6	R:4577302 H:5791883	11.08.04	BTU
Gr. Zug				0,73	0,4	0,88	2,5	R: 4613000 H:5802632	28.07.04	BTU
Grunewaldsee				0,31	0,7	0,17	6,5	R:4585938 H:5815944	22.07.04	UBA
Gudelacksee				2,26	2,5	4,25	25,5	R:4564317 H:5872095	23.07.04	IGB
Heiligensee				28,31	1,6	0,32	9,5	R:4582326 H:5830643	24.08.04	ILAT
Heiliger See		*				0,35	13,0	R:4573036 H:5809323	22.08.04	IGB
Hölzerner See		*	*	0,21	1,0	1,15	12,5	R:4616990 H:5785853	15.07.04	BTU
Huwenowsee					1,6	0,39	6,0	R:4573096 H:5871356	23.07.04	IGB
Jabeler See					1,1	2,44	22,6	R:4536709 H:5933976	29.07.04	BTU
Kalksee				9,84	1,2	0,54	21,0	R:4553440 H:5880116	18.08.04	IGB
Katerbower See				n.n.	2,0	0,54	2,0	R:4544280 H:5871949	18.08.04	IGB
KI. Glubigsee	*	*	*		0,8	0,06	4,5	R:4638044 H:5787063	13.09.04	BTU
Kl. Kolpiner See				n.n.	0,3	0,09	2,0	R:4635962 H:5797107	16.06.04	BTU
KI. Moddersee			*		0,4	0,20	4,0	R:4613979 H:5783831	14.07.04	BTU
KI. Müggelsee					1,2	0,16	7,5	R:4614160 H:5812043	14.09.04	ILAT
KI. Zeschsee	*			2,18	0,8	0,23	5,6	R:4604486 H:5777530	12.08.04	BTU
Klarer See				0,60	1,5	0,45	8,5	R:4617154 H:5886365	29.07.04	IGB
Klein Köriser See			*		0,6	1,57	10,0	R:4615894 H:5783758	14.07.04	BTU
Kölpinsee					2,0	1,65	9,5	R:4611534 H:5887621	29.07.04	IGB
Königsberger See					0,4	0,46	9,0	R:4529099 H:5880034	18.08.04	IGB
Köthener See					0,5	1,48	2,0	R:4624194 H:5773437	06.09.04	BTU
Krossinsee	*			1,35	0,4	1,61	5,5	R: 4614160 H:5804664	28.07.04	BTU
Krumme Lanke					2,1	0,14	6,8	R:4583933 H:5813954	12.08.04	UBA
Krüpelsee				3,52	0,4	1,69	4,5	R:4615455 H:5796813	15.07.04	BTU
Kutzingsee	**				0,3	0,32	6,0	R:4625338 H:5790909	06.09.04	BTU
Langer See (Dahme)	*			2,93	0,4	2,51	8,5	R:4610219 H:5809648	28.07.04	BTU
Langer See	*	*	*		0,4	1,38	3,5	R:4621986 H:5791359	18.08.04	BTU
Lebbiner See	*				0,5	0,28	4,0	R:4632548 H:5795758	02.09.04	BTU

Gewässer	isser Cyanobakterien		CYN	Secchi A Z			Geographische	Probenahme		
	C.r.	A.b.	A.a.	(µg/g)	(m)	(km²)	(m)	Koordinaten	Datum	Inst.
Liepnitzsee			*			1,15	16,5	R:4602026 H:5847269	18.08.04	IGB
Melangsee	**	**	**	8,01	0,5	0,12	2,8	R:4636173 H:5782709	03.08.04	BTU
Mellensee				n.n.	0,6	2,15	10,0	R:4596485 H:5783292	09.08.04	BTU
Moderfitzsee	*	**		2,51		0.59	5,5	R:4582703 H:5895577	24.08.04	IGB
Molchowsee	*			2,39	0.9	0,47	Í	R:4555899 H:5870971	18.08.04	IGB
Motzener See	*	*		,	2,4	2,06	13,5	R:4607312 H:5788003	26.08.04	BTU
Nehmitzsee				n.n.	0,6	1,61	18,6	R:4566151 H:5889051	28.07.04	IGB
Neuendorfer See				n.n.	1,0	0,62	7,5	R:4594239 H:5778031	12.08.04	BTU
Obersee				n.n.	0,4	1,63	, -	R:4529260 H:5871988	18.08.04	IGB
Oderberger See					0,5	1,03	2,5	R:4636133 H:5860407	29.07.04	IGB
Oelsener See					0,6	1,07	2,9	R:4664315 H:5780395	08.09.04	BTU
Parsteiner See				n.n.	4,30	10,0	31	R:4633591 H:5868208	29.07.04	IGB
Pätzer Vordersee	*		*		1,8	1,65	18,5	R:4613069 H:5790222	26.08.04	BTU
Petersdorfer See	**	**			0,4	0,24	3,8	R:4641549 H:5799944	02.09.04	BTU
Petznicksee	**	**			0,4	0,72	2,0	R:4608149 H:5892737	29.07.04	IGB
Plötzensee	*				1,0	0.08	6.21	R: 4590354 H:5824277	07.09.04	ILAT
Rahmer See	**	*		19.98	1.1	0.8	4	R: 4595330 H:5847099	18.08.04	IGB
Rangsdorfer See	**			n.n.	0,2	2,45	2,0	R:4595915 H:5795966	09.08.04	BTU
Rheinsberger See					1,0	2,62	30,0	R:4558405 H:5888341	22.07.04	IGB
Ribnitzer See		*		n.n.	0,2			R:4526608 H:6014334	06.09.04	UNI R
Röblinsee				2,23	1,9	0,90	6,0	R:4575027 H:5895367	02.08.04	IGB
Röddelinsee				n.n.	1,4	1,83	38,5	R:4596413 H:5885701	29.07.04	IGB
Roofensee				n.n.	2,5	0,57	19,1	R:4569416 H:5887106	18.08.04	IGB
Ruppiner See	*				0,7	8,08	23,0	R:4554524 H:5862908	18.08.04	IGB
Saaler Bodden		*		n.n.	0,3			R:4529020 H:6022221	06.09.04	UNI R
Scharmützelsee	*	*			2,3	12,07	29,0	R:4638031 H:5788489	18.08.04	BTU
Schermützelsee				n.n.	1,9	1,35	38,0	R:4639693 H:5828254	13.07.04	BTU
Schlabornsee				6,63	0,7	0,69	8,0	R:4558675 H:5891323	22.07.04	IGB
Schmaler Luzin				n.d.	3,0	1,45	33,5	R:4595940 H:5910917	20.07.04	IGB
Schmöldesee					1,0	1,05	5,5	R:4619080 H:5787047	15.07.04	BTU
Schulzensee			*		0,3	0,12	2,5	R:4613318 H:5782531	14.07.04	BTU
Schwedtsee				52,53	1,0	0,55	4,0	R:4577221 H:5895627	02.08.04	IGB
Schweriner See				n.n.	0,5			R:4611208 H:5781287	14.07.04	BTU
Schwielowsee			*		0,7	7,86	9,1	R:4565380 H:5801112	07.09.04	BTU
Seddinsee					0,6	2,81	7,5	R:4614935 H:5807499	17.08.04	ILAT
Siethener See	*			n.n.	0,4	0,71	4,3	R:4582268 H:5795387	11.08.04	BTU
Spree bei Alt Schadow								R:4633653 H:5777832	17.08.04	IGB
Spree bei Beskow			**					R:4654343 H:5784099	17.08.04	IGB
Springsee	**				1,0	0,59	18,0	R:4636568 H:5784494	13.09.04	BTU
Stahnsdorfer See		*	*		0,4	0,50	2,0	R:4629067 H:5796838	02.09.04	BTU
Stienitzsee					2,3	2,12	14,5	R:4623867 H:5820419	25.08.04	BTU

Gewässer	Cva	nobakte	erien	CYN	l Secchi	Α	Z _{max}	Geographische	Probenahme	
	C.r.	A.b.	A.a.	(µg/g)	(m)	(km²)	(m)	Koordinaten	Datum	Inst.
Stolpsee	*			42,40	0,7	3,81	12,0	R:4580876 H:5894392	02.08.04	IGB
Straussee					5,5	1,36	20,0	R:4627298 H:5828798	25.08.04	BTU
Streganzer See					0,8	0,34	2,6	R:4621921 H:5787542	26.08.04	BTU
Teufelssee				0,29	0,6	0,02	5,9	R:4583898 H:5818283	08.09.04	ILAT
Teupitzer See				n.n.	0,6	4,76	7,5	R:4609772 H:5779882	14.07.04	BTU
Tholmannsee				24,69	1,6	0,36	7,5	R:4562674 H:5868924	23.07.04	IGB
Tiefer See, Prieros		*			2,4	0,29	11,5	R:4622606 H:5788627	26.08.04	BTU
Tiefer See, Limsdorf					7,1	0,61	23,4	R:4636598 H:5781809	31.08.04	BTU
Tiefwarensee					5,5	1,41	23,6	R:4545894 H:5933406	02.09.04	IGB
Tollensesee					8,1	17,90	31,3	R:4578629 H:5928912	27.09.04	IGB
Trebelsee		*	*		0,8	2,47	2,3	R:4554065 H:5815483	07.09.04	BTU
Unterhavel, Steinlanke					0,4	3,44	9,3	R:4580397 H:5814754	22.07.04	UBA
Unterhavel, Jürgenlanke						2,82	6,8	R:4580882 H:5818453	22.07.04	UBA
Untersee				n.n.	0,6	2,16	8,1	R:4530184 H:5867489	18.08.04	IGB
Vielitzsee	*				0,8	1,11	3,0	R:4567692 H:5868084	23.07.04	IGB
Vordersee				n.n.	1,5	0,60	7,5	R:4647564 H:5825935	13.07.04	BTU
Wandlitzer See				19,07	2,9	2,05	24,5	R:4598345 H:5848289	18.08.04	IGB
Werbellinsee, Altenhof				n.n.	2,7	7,82	51,0	R:4615411 H:5867579	29.07.04	IGB
Werbellinsee, Schönberg	*			0,26	0,5	0,36	3,5	R:4563577 H:5866185	23.07.04	IGB
Wolletzsee					2.5	3.10	16,0	R: 4628231 H:5878330	29.07.04	IGB
Wolziger See, Storkow			*		0,9	5,55	13,2	R: 4624537 H:5793228	30.08.04	BTU
Wolziger See, Wünsdorf	*			2,82	0,4	0,52	2,8	R:4601921 H:5779245	09.08.04	BTU
Wutzsee				n.n.	2,5	1,12	17,0	R:4568127 H:5871191	23.07.04	IGB
Zemminsee	*		*		0,4	0,45	2,3	R:4612088 H:5782056	14.07.04	BTU
Zermützelsee	*			1,02	0,7	1,25	7,0	R:4555805 H:5875855	18.08.04	IGB
Zernsdorfer Lankensee				1,62	0,5	0,41	4,0	R:4616520 H:5798873	15.07.04	BTU
Zeuthener See	*			0,60	0,3	2,33	4,8	R:4611801 H:5804013	17.08.04	ILAT
Zingster Strom				n.n.	0,4			R:4544590 H:6033079	06.09.04	UNI R

Tabelle 3. Funde von *C. raciborskii* in Deutschen Gewässern vor 2004 (publizierte und unpublizierte Daten). Gewässerparameter: Fläche (A) und maximale Tiefe (Z_{max}). Geographische Koordinaten als Hoch- und Rechts-Werte (R/H). Quellen:

- 1: Krienitz und Hegewald (1996)
- 2: BTU Cottbus, Lehrstuhl Gewässerschutz, z.B. Zippel (1996), Wiedner *et al.* (1997), Mischke et al. (2001).
- 3: Weithoff (1998).
- 4: Dr. M. Feibicke, Institut für Ökologie, Technische Universität Berlin
- 5: Birgit Eckert, IGB, Berlin
- 6: H. Täuscher, IGB, Berlin
- 7: Teubner et al. (2004).
- 8: Täuscher 2003a
- 9: Täuscher 2003b
- 10: Täuscher 2004a
- 11: Täuscher 2004b
- 12: Institut für angewandte Gewässerökologie, Seddinsee

Gewässer	Erstfund	A	Z _{max}	Geographische	Quelle
	Liotidiid	(km²)	(m)	Koordinaten	quono
Die Lieps	1990	4,31	3,8	R:4577069 H:5925122	1
Kl. Glubigsee	1994	0,06	4,5	R:4638044 H:5787063	2
Lebbiner See	1994	0,28	4,0	R:4632548 H:5795758	2
Petersdorfer See b. Petersdorf	1994	0,24	3,8	R:4641549 H:5799944	2
Wolziger See b. Storkow	1994	5,55	13,2	R:4624537 H:5793228	2
Flakensee	1995	7,55	8,5	R:4619952 H:5808713	3
Falkenhagener See	1995	0,38	1,3	R:4576269 H:5827283	4
Gr. Glubigsee	1995	0,58	13,0	R:4636908 H:5786369	2
Gr. Storkower See	1995	3,72	11,4	R:4634113 H:5792148	2
Langer See b. Dolgenbrodt	1995	1,38	3,5	R:4621986 H:5791359	2
Melangsee	1995	0,12	2,8	R:4636173 H:5782709	2
Neuer Falkenhagener See	1995	0,11	2,6	R:4576429 H:5826741	4
Scharmützelsee	1995	12,07	29,0	R:4639878 H:5791533	2
Schwielochsee	1995	11,50	4,0	R:4651448 H:5771338	4
Springsee	1995	0,59	18,0	R:4636568 H:5784494	2
Gülper See, Auslauf	1998	4,40	1,6	R:4517430 H:5845433	5
Wirchensee	1998			R:4670269 H:5774239	6
Klostersee bei Ebersberg	2000	0,04	2,5	R:4497765 H:5326780	7
Gr. Kossenblatter See	2001	1,68	3,2	R:4643938 H:5779948	2
Zeuthener See	2001	2,33	4,8	R:4611801 H:5804013	2
Dolgensee bei Dolgenbrodt	2002	1,52	2,5	R:4619161 H:5792126	8
Galenbecker See	2002	5,90	1,9	R:4614279 H:5944742	12
Gr.Müggelsee	2002	7,30	7,5	R:4612224 H:5812892	6
Güterfelder Haussee	2002	0,13	3,3	R:4581013 H:5804087	9
Hölzener See	2002	1,15	12,5	R:4616990 H:5785853	8
Klein Köriser See	2002	1,57	10,0	R:4615894 H:5783758	8
Rangsdorfer See	2002	2,45	2,0	R:4595915 H:5795966	8
Spree (Gr. Tränke)	2002		T	R:4635852 H:5805653	6

Gewässer	Erstfund	А	Z _{max}	Geographische	Quelle
		(km²)	(m)	Koordinaten	
Spree (Neu Zittau)	2002			R:4618851 H:5807973	6
Byhleguhrer See	2003	0,89	1,8	R:4649190 H:5753624	10
Gr. Krampe	2003			R:4612975 H:5808713	6
Gr. Selchowsee	2003	2,74	0,0	R:4629951 H:5788404	10
Großer Wentowsee	2003	2,72	3,0	R:4581762 H:5881721	11
Großer Wochowsee	2003	0,81		R:4629451 H:5789724	10
Großschauener See	2003	1,46	4,5	R:4629796 H:5790609	10
Kietzer See (Fischteich)	2003	1,86		R:4650404 H:5834985	10
Ruppiner See, oberer und unterer	2003	8,08	23,0	R:4554524 H:5862908	10
Schaplowsee	2003	0,76	3,0	R:4631677 H:5791053	10
Teupitzer See	2003	4,76	7,5	R:4609772 H:5779882	8

2.2.3 Verbreitung von CYN

Insgesamt wurden bislang 96 Sestonproben aus 80 Gewässern auf das Vorkommen von CYN analysiert. In 60 Proben (63 %) und 49 Seen (61 %) konnte CYN nachgewiesen werden (Abb 10). CYN ist somit in Deutschland sehr viel weiter verbreitet als bislang angenommen, und ähnlich häufig wie das bekannte Cyanobakterientoxin Microcystin.

Die Konzentrationen der CYNpositiven Proben lagen bei 19 Proben zwischen 0,1 und 1 bei 31 μg/TG, Proben zwischen 1 und 10 µg/g TG und bei 10 Proben zwischen 10 und $100 \mu g/g TG$ (Abb. 10, Tab. 2). Im Mittel liegen diese Konzentrationen deutlich unter denen der Microcystine, was jedoch sicher durch die eher niedrigen Biomassen der potentiellen CYN-Produzenten bedingt ist. Höhere CYN-Konzentrationen sind bei Massenentwicklungen von

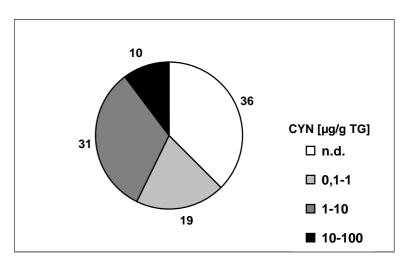


Abb. 10: Ergebnisse des CYN-Screenings 2004: Anzahl der Proben ohne CYN (n.d.) sowie in verschiedenen Konzentrationsbereichen.

CYN-produzierenden Arten daher wahrscheinlich.

Ein erster Vergleich der Phytoplanktonzusammensetzung mit dem CYN-Vorkommen zeigt eindeutig, dass mehrere Gattungen der Nostocalen als CYN-Produzenten in Frage kommen. In vielen Gewässern mit CYN kam *C. raciborskii* nicht vor, wie beispielsweise im Schwedtsee und Großen Seddiner See mit den höchsten gemessenen CYN-Konzentrationen. Hier stellten verschiedene *Anabaena* und *Aphanizomenon*-Arten die vorherrschenden Nostocalen dar. Im Rangsdorfer See konnte trotz höherer Biomassen von *C. raciborskii* dagegen kein CYN nachgewiesen werden.

Auch wenn die Analysen der Proben von 2004 noch nicht abgeschlossen sind, zeigen die Ergebnisse, dass sich das Vorkommen von CYN gleichmäßig über den gesamten Berliner und Brandenburger Raum erstreckt. Höchste Konzentrationen von über 10 μg/g TG wurden nicht nur im nord-östlichen Brandenburg (z.B. Schwedt See, Stolpsee), sondern auch nahe Berlin (z.B. Heiligersee in Potsdam, Großer Seddiner See) gefunden. Auch Berliner Gewässer wie der Grunewaldsee zeigten geringe Konzentrationen von CYN.

3 Identifikation von CYN-produzierenden Cyanobakterien

3.1 Stammisolation

Die Netzzugproben wurden in sterilem stickstofffreiem Medium vorinkubiert. Dazu wurde je 1 ml Netzzugmaterial in 50 ml-Falcon-Röhrchen mit 25 ml Medium versetzt und 2-3 Wochen bei 20°C bzw. 25°C vorinkubiert. Anfänglich wurden jeweils Parallelproben mit N-freiem HUB- und ASM-Medium angesetzt. Um möglichst viele verschiedene Seen mit ihren unterschiedlichen Genotypen bearbeiten zu können, sind im weiteren Verlauf nur Vorkulturen mit HUB-Vollmedium angesetzt worden. Aus Netzzugproben mit dominanten Nostocales wurde ab August 2004 außerdem direkt aus den Frischproben isoliert. Für die Stammisolation wurden ausschließlich sterile Labormaterialien verwendet. Zuerst erfolgte ein 3 bis 4maliges Waschen und Verdünnen von Zellmaterial aus den Anreicherungskulturen bzw. Frischproben in Petrischalen. Unter einem Stereomikroskop wurden anschließend mittels lang ausgezogener Pasteurpipetten einzelne Filamente isoliert und in 300 μl N-haltiges HUB-Vollmedium in 96-well-Mikrotiterplatten überführt. Nach Anwachsen der Stämme wurden diese in 5 ml PP-Röhrchen, später in 50 ml Erlenmeyerkolben überführt.

Von den 1600 isolierten Einzelfilamenten sind in den Mikrotiterplatten ca. 500 Stämme ohne sichtbare Verunreinigungen (Picoplankton) angewachsen. Davon wachsen momentan 207 Stämme in Erlenmeyerkolben, in Röhrchen ca. 240. Von den Erlenmeyer-Kulturen konnten bereits 80 CYN-Analysen vorbereitet werden.

Bei der Isolation der Stämme konnten die Isolate einzelnen Gattungen zugeordnet werden. Danach wurden 44 *Cylindrospermopsis (raciborskii)*, 67 *Anabaena*-Stämme und ca. 300 *Aphanizomenon*-Stämme isoliert. Die genaue taxonomische Zuordnung der Arten ist im Gange. Zusätzlich werden von jeder Kultur digitalisierte Fotos zur Dokumentation aufgenommen, anhand derer sich auch eventuelle morphologische Veränderungen der Filamente in bestimmten Kultivierungsphasen verfolgen lassen.

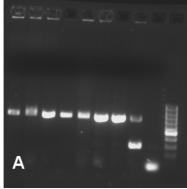
Bisher konnten mit dieser Methode 15 Aphanizomenon flos-aque, 10 Aphanizomenon gracile, 2 Aphanizomenon aphanizomenoides, 3 Anabaena crassa, 2 Anabaena affinis, 1 Anabaena viguieri und 1 Anabaena planktonica identifiziert werden.

3.2 Analyse von Einzelfilamenten der Cyanobakterien

CYN-Produzenten sollen hier über den Nachweis des CYN kodierenden Gens identifiziert werden. Das Vorhandensein des Gens soll für einzelne Filamente von potenziellen CYN-produzierenden Cyanobakterien, die aus Gewässerproben isoliert werden, analysiert werden. Der Nachweis soll über PCR Amplifikation eines Fragmentes aus dem CYN kodierenden Gencluster erfolgen. Dies wird jeweils begleitet durch eine PCR-Kontrollreaktion, bei der ein Fragment des Phycocyaninoperons (PC-IGS) amplifiziert wird, das bei allen Cyanobakterien vorhanden ist. Nur Analysen, bei denen ein PC-IGS Produkt erhalten wird, werden ausgewertet; solche mit PC-IGS- und CYN-Produkten werden als Produzenten gewertet und solche nur mit PC-IGS als Nicht-Produzenten.

Die Methode wurde mit Kulturen von CYN-produzierenden und nicht-produzierenden Stämmen verschiedener Arten (Tab. 4) etabliert. Leider waren bisher keine Stämme von CYN-Produzenten aus Deutschen Gewässern verfügbar. Für die Amplifikation der PC-IGS wurden die von Neilan (1995) entwickelten Primer hier erfolgreich getestet. Für die Amplifikation von Fragmenten des CYN kodierenden Genclusters wurden die von Fergusson und Saint (2003) und Schembri et al. (2001) entwickelten spezifische Primer getestet. Leider erwiesen sich diese Primer nicht als robust. Bei einigen Stämmen wurden keine Amplifikationsprodukte erhalten, bei anderen Stämmen banden die Primer so unspezifisch, dass mehrere Amplifikationsprodukte erhalten wurden. Hierfür war ein schlechtes Alignment mit den veröffentlichten Sequenzen des CYN-Genclusters verantwortlich. Es musste eine Möglichkeit gefunden werden, die Umweltproben zu fixieren ohne die Filamente zu zerstören und ohne PCR-Inhibitoren zu verwenden, da, anders als geplant, die Entwicklung neuer Primer nötig wurde. Eine Fixierung der Umweltprobe mit Glycerin (Verhältnis 1:1) stellte sich als beste Methode heraus. Die Primer wurden basierend auf veröffentlichten Sequenzen von Aphanizomenon ovalisporum, Anabaena bergii und C. raciborskii zur Amplifikation des polyketide synthase gene im CYN-Gencluster entwickelt. Die Primer wurden so entwickelt, dass beide PCR-Reaktionen (CYN- und PC-IGS-PCR) in einem sogenannten Multiplexverfahren gleichzeitig in einem Reaktionsgefäß ablaufen können. Die Filamente müssen abweichend von der ursprünglichen Planung nicht mehr in zwei Aliquotes aufgeteilt werden, was besonders bei sehr kleinen Filamenten, wie denen von C. raciborskii, sehr vorteilhaft ist.

Für eine Vielzahl unterschiedlicher Primerpaare wurde diese Multiplex PCR in einem ersten Schritt an Kulturmaterial der in Tabelle 4 aufgelisteten Kulturstämme getestet. Ein Primerpaar erwies sich dabei als sehr robust. Mit ihm wurden von allen Produzenten wurden dabei zwei deutliche PCR-Produkte, des PC-IGS und des CYN, gefunden (Abb. 11B) während von allen Nicht-Produzenten nur das PC-IGS-Produkt erhalten wurde (Abb. 11A).



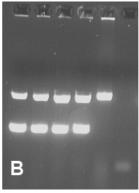


Abb. 11. Ergebnisse der Multiplex PCR mit Kulturmaterial. (A). Nicht-produzenten: Lane 1-7: Cyli 19, Cyli 29, Cyli 31, Cyli 94, Cyli 75, Cyli 53, LJ. Lane 8: Positiv-Kontrolle (AQS), Lane 9: Negativ-Kontrolle (Bi-dest). Lane 10: Marker. (B) Produzenten: Lanes 1-4: ACA, AQS, KA 1.2, KA 2.1. Lane 5: Cyli 19 (Nicht-Prod.). Lane 6: Negativ-Kontrolle (Bi-dest).

Nachdem die Multiplex mit größeren DNA-Mengen aus Kulturmaterial etabliert war, wurde das PCR-Protokoll für die single-filament-PCR angepasst. Wie Abbildung 12 verdeutlicht war dies für Filamenten des Kulturstammes *A. avolisporum* (KA 1.2) bereits erfolgreich.

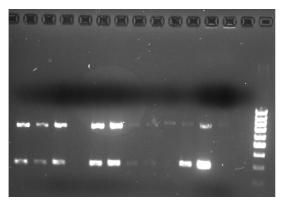


Abb. 12. Ergebnisse der single-filament-PCR mit KA 1.2 (*A. ovalisporum*). Lanes 1-12: Einzelne Filamente (Lane 4- DNA-Nachweis negativ; Lanes 9 & 12: CYN-Nachweis negativ). Lane 13: Negativ-Kontrolle (Bi-dest). Lane 14: Marker.

Bei der single-filament-PCR von *C. raciborskii* ist es derzeit möglich, entweder das PC-IGS oder das CYN Fragment zu amplifiziern, jedoch nicht beide Fragmente gleichzeitig. Dies liegt möglicherweise an der sehr geringen Menge DNA, da *C. raciborskii* Filamente im Vergleich zu anderen CYN-Produzenten sehr klein sind. An diesem Problem wird zur Zeit gearbeitet.

Schließlich wurde die single-filament-PCR für *Anabaena bergii* –Filamente aus Umweltproben erfolgreich etabliert (Abb. 13). Bei den wenigen bisher analysierten Proben konnte jedoch noch kein CYN-Produzent mit dieser Methode identifiziert werden.

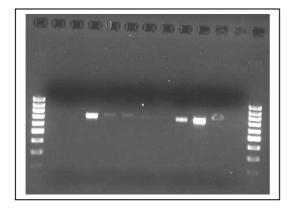


Abb. 13: Ergebnisse der single-filament-PCR für *A. bergii* Filamenten aus einer Glycerin-fixierten Umweltprobe (Petznicksee). Lanes 1 & 13: Marker. Lanes 2-11: *A. bergii*- Filamente. Lane 12: Negativ-Kontrolle.

Table 4. Stämme der Cyanobakterien, mit denen hier die molekularbiologischen Methoden etabliert werden.

NAME	SPECIES	CYN-PROD.	VON WEM	WOHER	ZUSÄTZL. INFOS
AQS	C. raciborskii	ja	Martin Saker	Australien	Aquaculture pond
LJ	C. raciborskii	nein	Martin Saker	Australien	non-toxic in mouse bioassay
Cyli 19	C. raciborskii	nein	Jutta Fastner	Deutschland	Toxic in mouse-bioassay
Cyli 29	C. raciborskii	nein	Jutta Fastner	Deutschland	Toxic in mouse-bioassay
Cyli 31	C. raciborskii	nein	Jutta Fastner	Deutschland	Toxic in mouse-bioassay
Cyli 42	C. raciborskii	nein	Jutta Fastner	Deutschland	Toxic in mouse-bioassay
Cyli 53	C. raciborskii	nein	Jutta Fastner	Deutschland	Toxic in mouse-bioassay
Cyli 75	C. raciborskii	nein	Jutta Fastner	Deutschland	Toxic in mouse-bioassay
Cyli 94	C. raciborskii	nein	Jutta Fastner	Deutschland	Toxic in mouse-bioassay
KA 1.1	A. ovalisporum	ja	Kaplan, Shalev-Alon	Israel	Lake Kineret
KA 1.2	A. ovalisporum	ja	Kaplan, Shalev-Alon	Israel	Lake Kineret
KA 2.1	A. ovalisporum	ja	Kaplan, Shalev-Alon	Israel	Lake Kineret
KA 2.2	A. ovalisporum	ja	Kaplan, Shalev-Alon	Israel	Lake Kineret
34	C. raciborskii (laut AWQC)	ja	Paul Rasmussen, AWQC	unknown	NurDNA, 400microlitres
14A	C. raciborskii (laut AWQC)	nein	Paul Rasmussen, AWQC	unknown	NurDNA, 400microlitres
20A	C. raciborskii (laut AWQC)	ja	Paul Rasmussen, AWQC	unknown	NurDNA, 400microlitres
29C	C. raciborskii (laut AWQC)	ja	Paul Rasmussen, AWQC	unknown	NurDNA, 400microlitres
36	Chroccocus (laut AWQC)	nein	Paul Rasmussen, AWQC	unknown	NurDNA, 400microlitres
AWT205	C. raciborskii (laut AWQC)	ja	Paul Rasmussen, AWQC	unknown	NurDNA, 400microlitres
ACA1	C. raciborskii	ja	Andrew Chapman, GreenWater lab., Florida	Australien	not to be used for commercial standards
ACF1	C. raciborskii	ja	Andrew Chapman, GreenWater lab., Florida	Florida	

4 Literatur

- Banker, R., Carmeli, S., Hadas, O., Teltsch, B., Porat, R., und Sukenik, A., 1997. Identification of cylindrospermopsin in *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanophyceae) isolated from Lake Kinneret, Israel. *Journal of Phycology* 33, 613-616.
- Cirikaltindag, S., Coute, A., und Cirik, S., 1992. Some Uncommon Cyanophyceae from the Bafa Lake (Turkey). *Cryptogamie Algologie* 13, 235-246.
- Eaglesham, G.K., Norris, R.L., Shaw, G.R., Smith, M.J., Chiswell, R.K., Davis, B.C., Neville, G.R., Seawright, A.A. and Moore, M.R., 1999. Use of HPLC-MS/MS to monitor cylindrospermopsin, a blue-green algal toxin, for public health purposes. Environ. Toxicol. 14, 151-154.
- Fabbro, L.D. und Duivenvoorden, L.J., 2000. A two-part model linking multidimensional environmental gradients and seasonal succession of phytoplankton assemblages. Hydrobiologia 438: 13-24.
- Fergusson, K.M. und Saint, C.P., 2000. Molecular phylogeny of *Anabaena circinalis* and its identification in environmental samples by PCR. *Applied Environmental Microbiology* 66, 4145-4148.
- Fergusson, K.M. und Saint, C.P., 2003. Multiplex PCR assay for *Cylindrospermopsis raciborskii* and cylindrospermopsin-producing cyanobacteria. Environ. Toxicol. 18, 120-125.
- Hemm, M. und Jöhnk, K.D., 2004. Datenbank stehender Gewässer in Deutschland Beschreibung und deren Anwendungen. In: Rücker, J. und Nixdorf, B. (Hrsg.) Gewässerreport Nr. 8. BTU-Cottbus, Aktuelle Reihe 3/2004: 145-159.
- Hindak, F., 2000. Morphological variation of four planktic nostocalean cyanophytes members of the genus *Aphanizomenon* or *Anabaena? Hydrobiologia* 438, 107-116.
- Hiripi, L., Nagy, L., Kalmar, T., Kovacs, A., und Voros, L., 1998. Insect (*Locusta migratoria migratorioides*) test monitoring the toxicity of cyanobacteria. Neurotoxicology 19, 605-608.
- Horecká, M. und Komárek, J., 1979. Taxonomic position of three planctonic blue-green algae from the genera *Aphanizomenon* and *Cylindrospermopsis*. *Presilia* 51, 289-312.
- Mischke, U., Wiedner, C. und Nixdorf B., 2001. Verbreitung des Neophyten *Cylindrospermopsis raciborskii* (WOLSZ.) SEENAYYA & SUBBA RAJU (Cyanobakterium) in Brandenburg. Deutsche Gesellschaft für Limnologie, Tagungsbericht 2000: 715-719.
- Neilan, B.A., Jacobs, D., und Goodman, A.E., 1995. Genetic diversity and phylogeny of toxic cyanobacteria determined by DNA polymorphisms within the phycocyanin locus. Appl. Environ. Microbiol. 61, 3875-3883.
- Nixdorf, B., Hemm, M., Hoffmann, A. & Richter, P., 2004: Dokumentation von Zustand und Entwicklung der wichtigsten Seen Deutschlands. Umweltbundesamt. UBA-Bericht Forschungsbericht 299 24 274, UBA-FB 000511, 05/04: 1-1001.
- Padisak, J., 1997. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya et Subba Raju, an expanding, highly adaptive cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. *Archiv für Hydrobiologie Supplement* 107, 563-593.
- Schembri, M.A., Neilan, B.A., und Saint, C.P., 2001. Identification of genes implicated in toxin production in the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology* 16, 413-421.
- Shaw, G.R., Sukenik, A., Livne, A., Chiswell, R.K., Smith, M.J., Seawright, A.A., Norris, R.L., Eaglesham, G.K., und Moore, M.R., 1999. Blooms of the cylindrospermopsin containing cyanobacterium, *Aphanizomenon ovalisporum*

- (Forti), in newly constructed lakes, Queensland, Australia. *Environmental Toxicology* 14, 167-177.
- Täuscher, L., 2003a. Qualitative und quantitative Untersuchungen des Phytoplanktons in Seen des Dahmegebietes im Land Brandenburg als Beitrag zu Grundlagen der Umsetzung der Wasserrahmenrichtlinie der Europäischen Union. Projektbericht des Seenprojektes Brandenburg e.V., Seddin: 61 S. + Anhang.
- Täuscher, L., 2003b. Phytoplankton. In: Möller, D., O. Mietz, L. Täuscher & H. Henker: Güterfelder Haussee. Limnologischer Abschlussbericht für das Jahr 2002. Institut für angewandte Gewässerökologie, Seddin: 9-12.
- Täuscher, L., 2004. Gutachten für das Gesundheitsamt Oberhavel, Oranienburg.
- Täuscher, L., 2004. Phytoplankton. In: Meisel, J., L. Täuscher, T. Kabus, H. Henker & F. Vedder (2004): Ökologische und limnologische Untersuchungen zur wissenschaftlichen Vorbereitung der Umsetzung der EU-WRRL an Seen des Landes Brandenburg im Jahr 2003. Projektbericht des Seenprojektes Brandenburg e.V., Seddin: 10-15; 26-29; 327-334; 338-344; Anhang: 376-379.
- Teubner, K., Morscheid, Ha., Tolotti, M., Greisberger, S., Morscheid, He. und Kucklentz, V., 2004. Bedingungen für das Auftreten toxinbildender Blaualgen (Cyanobakterien) in bayrischen Seen und anderen stehenden Gewässern. Bayrisches Landesamt für Wasserwirtschaft (Hrsg.) Materialien Nr. 113. 105 S.
- Vent, D., 1974. Die Einflussnahme von Umgebungsfaktoren und morphometrischen Faktoren auf den Stoffhaushalt von Seen PhD-Thesis, Dresden, pp.1-111.
- Weithoff, G., 1998. Steuermechanismen der Phytoplanktondynamik im flachen eutrophen Flakensee. Dissertation, Humbold-Universität, Berlin, 51 S.
- Welker, M., Bickel, H. und Fastner, J., 2002. HPLC-PDA detection of cylindrospermopsin opportunities and limits. Wat. Res. 36, 4659-4663.
- Wiedner, C. und Nixdorf, B., 1997. Verbreitung und Steuerung der Entwicklung von toxischen und nicht-toxischen Cyanobakterien in ostbrandenburgischen Gewässern unterschiedlicher Trophie und Hydrographie im Zuge der reduzierten Belastung. In: Toxische Cyanobakterien in deutschen Gewässern: Verbreitung, Kontrollfaktoren und ökologische Bedeutung. WaBoLu Hefte 4/97: 17-26.
- Wiedner, C., Nixdorf, B., Heinze, R., Wirsing, B., Neumann, U. und Weckesser, J., 2002. Regulation of cyanobacteria and microcystin dynamics in polymictic shallow lakes. Arch. Hydrobiol. 155:383-400.

5 Danksagung

Im ersten Jahr des Projektes wurden bereits große Fortschritte erzielt. Dazu haben zahlreiche nationale wie internationale externe Kooperationspartner beigetragen, bei denen wir uns an dieser Stelle ganz herzlich bedanken möchten:

Für hilfreiche Anmerkungen bezüglich der taxonomischen Zuordnung von *Anabaena bergii* danken wir **Prof. Dr. Jiří Komárek** (Institut of Botany, Czech Academy of Sciences, Třeboň, Czech Republic) und **Dr. Larelle Fabbro** (Centre for Environmental Management, Central Queensland University, Rockhampton, Australien).

Kulturstämme von verschiedenen CYN-produzierenden und nicht-produzierenden Cyanobakterien zur Etablierung der molekularbiologischen Methode wurden zur Verfügung gestellt von **Prof. Dr. Aaron Kaplan** und **Gali Shalev-Alon** (Dept. Plant and Environmental Sciences, The Hebrew University of Jerusalem, Israel) und **Dr. Martin Saker** (Ecotoxicology Laboratory, Faculty of Sciences, University of Porto, Portugal). **Dr. Julianne Dyble** (Institute of Marine Sciences, University of North Carolina, USA) und **Dr. Andrew Chapman** (GreenWater Laboratories, Palatka, Florida, USA).

Des weiteren waren DNA-Extrakte diverser CYN-Produzenten und Nicht-Produzenten bei der Etablierung der Methode hilfreich, die zur Verfügung gestellt wurden von **Dr. Chris Saints** und **Dr. Paul Rasmussen** (CRC for Water Quality and Treatment, Australian Water Quality Centre, Bolivar, Australien).

Die Beprobung der Boddengewässer wurde eigens für dieses Projekt durch **Prof. Dr. Ulf Karsten**, **Dr. Rhena Schumann**, **Dr. Henning Baudler** und **Jana Woelfel** ermöglicht und durchgeführt (Institut für Biowissenschaften, Angewandte Ökologie, Universität Rostock). Proben aus sieben Berliner Gewässern wurden von **Dr. Antje Köhler** (Institut für Lebensmittel, Arzneimittel und Tierseuchen (ILAT), Berlin) zur Verfügung gestellt.

Bisher unveröffentlichte Daten zur Verbreitung von *C. raciborskii* in 16 Gewässern aus den Jahren 2002-2004 wurden freundlicherweise von **Dr. Lothar Täuscher** (Institut für angewandte Gewässerökologie GmbH, Seddiner See) zur Verfügung gestellt.

Darüber hinaus möchten wir uns bei einer Vielzahl von Kollegen und Kolleginnen aus den eigenen Instituten (IGB, BTU, UBA) für ihre Mithilfe bedanken:

Für Unterstützung bei der Organisation der Beprobung einiger Berliner Gewässer möchten wir uns bei **Dr. Jan Köhler** bedanken.

Die Beprobung einer derart großen Anzahl von Gewässern war nur möglich durch die tatkräftige Unterstützung von Ingo Henschke, Wolfgang Terlinden, Michael Sachtleben, Roman Degebrodt, und Katja Schöne.

Die qualitative Analyse der Cyanobakterien wurde im Rahmen einer Diplomarbeit ? unterstützt von **Tina Endrulat**.

Unveröffentlichte Daten zum Vorkommen von C. raciborskii im Müggelsee und der Spree wurden von **Helgard Täuscher** beigesteuert.

Dr. Ute Mischke danken wir ihre Unterstützung bei der Erstellung einer für Brandenburger Gewässer relevanten Artenliste und die Bereitstellung von Daten aus der Phytoplankondatenbank.

Bei der Bearbeitung von Karten zur graphischen Darstellung der Verbreitung der Cyanobakterien sowie bei der Verknüpfung von Daten aus verschiedenen Datenbanken war **Mike Hemm** eine große Hilfe.

Cyanobakterienstämme zur Etablierung der molekularbiologischen Arbeiten wurden von **Monika Degebrodt** kultiviert.

WaBoLu: