

## 6 EUTROPHIERUNG, TOXISCHE CYANOBAKTERIEN AM BEISPIEL DES URBANEN DONAU-ALTARMGEWÄSSERS ALTE DONAU UND DES ALPINEN MONDSEES

Katrin Teubner<sup>1</sup>, Martin T. Dokulil<sup>2</sup>, Rainer Kurmayer<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universität Wien, Department für Funktionelle und Evolutionäre Ökologie,

<sup>2</sup> Universität Innsbruck, Wassermikrobiologie, Forschungsinstitut für Limnologie, Mondsee

Die durch den Menschen bedingte Einbringung von Nährstoffen in die Gewässer (Eutrophierung) ist oft an eine Massenentwicklung des Phytoplanktons gekoppelt. Es zeigt sich darüber hinaus die Tendenz, dass bei zunehmender Eutrophierung der Anteil der Cyanobakterien am Phytoplankton zunimmt. Detaillierte Untersuchungen haben ergeben, dass für viele Cyanobakterien, wie bspw. *Planktothrix rubescens* (Burgunderblutalge), die Cyanotoxinkonzentration und die Biomasse des jeweiligen cyanotoxinbildenden Cyanobakteriums miteinander statistisch signifikant korrelieren. Damit kann man davon ausgehen, dass bei einer erheblichen Eutrophierung und nachfolgend massenhafter Bildung von Cyanobakterien, das Gewässer zugleich mit Cyanotoxinen belastet ist. Dies bewirkt Änderungen im Nahrungsnetz im Seen-Ökosystem und vermindert zugleich die Nutzung eines solchen Gewässers als Trinkwasser-Ressource sowie Erholungsgewässer. Die beiden hier besprochenen Fallbeispiele, d. h. die Alte Donau in Wien und der Mondsee im Salzkammergut, haben eine prägnante Eutrophierungsperiode durchlaufen, welche mit Massenentwicklungen von Cyanobakterien verbunden waren. Die Maßnahmen um der Eutrophierung entgegen zu wirken, waren jedoch in diesen beiden Fallbeispielen verschieden. Während man in der Alten Donau über ein künstliches Ausfällen des kritischen Nährelementes Phosphor die Phytoplanktonbiomasse abrupt reduzierte und mit nachfolgenden Maßnahmen (Ansiedlung von Unterwasserpflanzen und Röhrichtpflanzen) einen langfristig-nachhaltigen Sanierungserfolg garantierte, setzte man im Mondsee auf ein striktes Unterbinden des unkontrollierten Nährstoffeintrags (Ringkanalisation) und überließ den See nachfolgend seinen Selbstreinigungsprozessen.

### 6.1 Einleitung

Die Eutrophierung, d. h. die durch den Menschen bedingte Einleitung von Nährstoffen, und das Wachstum von Phytoplankton in Gewässern hängen ursächlich miteinander zusammen, da die Nährstoffe die Basis für das Wachstum jener Primärproduzenten darstellen. Der Nährstoffeintrag durch den Menschen, der über eine natürliche Eutrophierung wie z. B. bei der Verlandung eines Sees hinausgeht, verändert das natürliche Gefüge in einem stehenden aquatischen Ökosystem. So sind allgemein natürlich-nährstoffarme Gewässer von einer guten Transparenz des Wassers aufgrund geringer Mengen an Schwebstoffen, wie z. B. den Algen, charakterisiert. Im Gegensatz dazu wird ein übermäßiger Nährstoffeintrag von Phytoplankton-Massenentwicklungen begleitet, wobei sich hier insbesondere problematische Cyanobakterien entwickeln können.

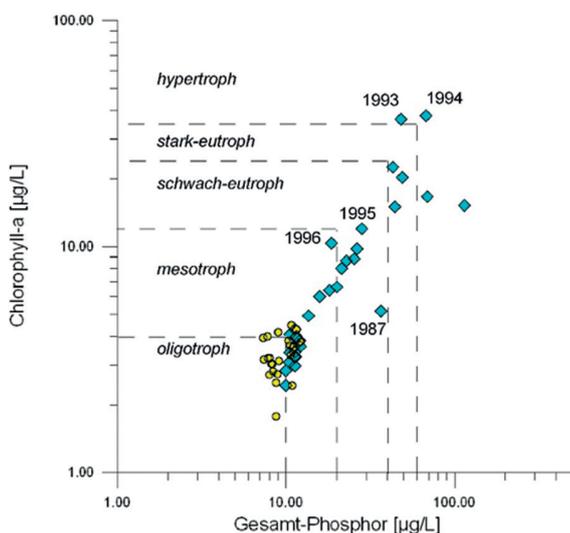
### 6.2 Fragestellung

- Welche Nährstoffe bedingen ein übermäßiges Phytoplanktonwachstum?
- Wie setzte sich das Phytoplankton in dem flachen Altarm Alte Donau und dem Mondsee während der Eutrophierung zusammen?
- Wie hoch ist der Anteil der Cyanobakterien am Gesamtbiovolumen des Phytoplanktons in dem jeweiligen Gewässer und welche potenziellen Gefahren gehen insbesondere von ihnen aus?

## 6.3 Darstellung

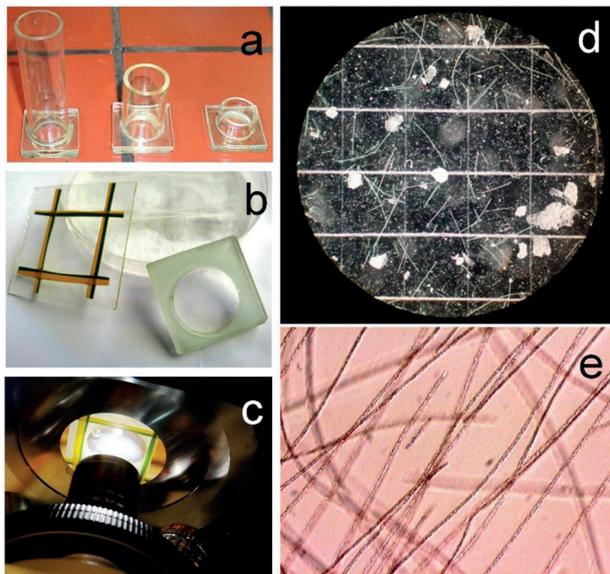
### 6.3.1 Rolle der kritischen Nährstoffe im Gewässer

Das kritische Nährelement im Süßwasser ist meist der Phosphor (P), und weniger der Stickstoff (N) oder das Silizium (Si) (ein optimales Wachstum des Phytoplanktons ist bei Vorliegen der molaren Nährstoffrelation von  $N:P:Si = 16:1:17$  gegeben) (Teubner et al. 1999, 2003; Teubner und Dokulil 2002). Daher ergibt sich eine Zunahme der Phytoplanktonbiomasse insbesondere dann im Süßwasser, wenn die wachstumsbegrenzenden Konzentrationen von Phosphor sich erhöhen. Wegen des Hintergrunds eines exponentiellen Wachstums der Algen, d. h. einer Zunahme des Biomasseertrags (Zellteilungen) gesteuert vom Nährstoffangebot, werden bei einer grafischen Darstellung beide Größen, d. h. die Algenbiomasse  $f(x)$  in Abhängigkeit von der Nährstoffkonzentration  $[x]$  logarithmisch abgebildet (Abb. 10). Die Algenbiomasse wird hierbei entweder über den Chlorophyll-a-Gehalt des Phytoplanktons (Arbeitsbehelf 52, Teil 1, Kapitel 2.3.2.3; chemische Extraktion s. ÖNORM M 6231 [53] bzw. algologische Pigmentanalyse, z. B. HPLC, Greisberger und Teubner 2007) oder das Phytoplankton-Biovolumen abgeschätzt (Abb. 11). Eine allgemeine Beschreibung zur mikroskopischen Erfassung des Biovolumens von Phytoplankton ist in Utermöhl [54] gegeben.



**Abb. 10** Chlorophyll-a-Konzentration in Abhängigkeit von der Gesamt-Phosphorkonzentration für die beiden Fallbeispiele Alte Donau (1987–2019, Symbol: blaue Rhomben; 1987 bereits mit höheren Gesamt-Phosphorwerten bei relativ niedrigem Chl-a-Wert zu Zeiten der Unterwasser-Characeen-Rasen; Cyanobakterienblüten in den hypertrophen Jahren 1993 und 1994 gaben Anlass zur Sanierung, 1995 und 1996 zeigen die beiden Sanierungsjahre der chemischen RIPOX-Phosphatfällung) und Mondsee (1982–2003, Symbol: gelbe Kreise). Der Gesamt-Phosphor wird als Nährstoffpool für das Phytoplanktonwachstum betrachtet, die Konzentration von Chlorophyll-a als Maß für die Phytoplankton-Biomasse. Bei diesem Trophie-Klassifikationsschema werden Jahresmittelwerte gezeigt (Grenzwerte siehe Tab. 1). Man beachte die logarithmische Skalierung beider Achsen (Erklärung siehe exponentielles Wachstum des Planktons im Text).

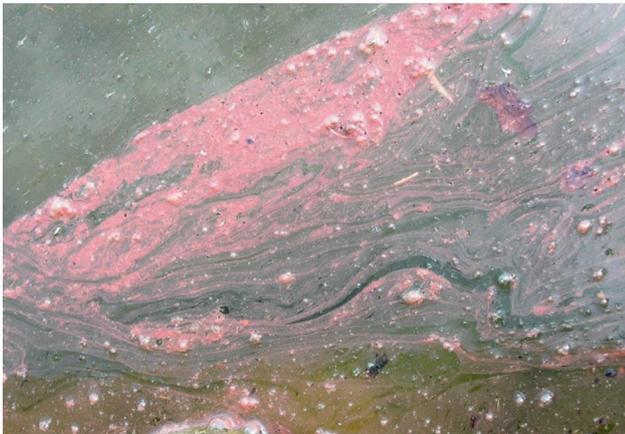
Bei den beiden hier genannten Fallbeispielen, der Alten Donau, einem abgeschnittenen Altarm der Donau in Wien, und beim alpinen Mondsee im Salzkammergut, kam es jeweils über viele Jahre zu einer Eutrophierung infolge eines massiven Phosphoreintrags. Während in der Alten Donau der Phosphatgehalt über eine aktive Sanierung reduziert wurde (Phosphatfällung und nachfolgende Biomanipulationsmaßnahmen zur Restaurierung des städtischen Erholungsgewässers, Teubner et al. 2003; Dokulil et al. 2018), ergab sich für den Mondsee die Reduktion des Phosphors alleine durch eine strikte Verhinderung eines weiteren Phosphateintrags. Letzteres wurde mit dem Bau einer Ringkanalisation und nachfolgend durch das natürliche Ausdünnen dieser Nährstoffressource für die Algen erreicht [55] (Dokulil und Teubner 2005, 2012; Jeppesen et al. 2005) [56].



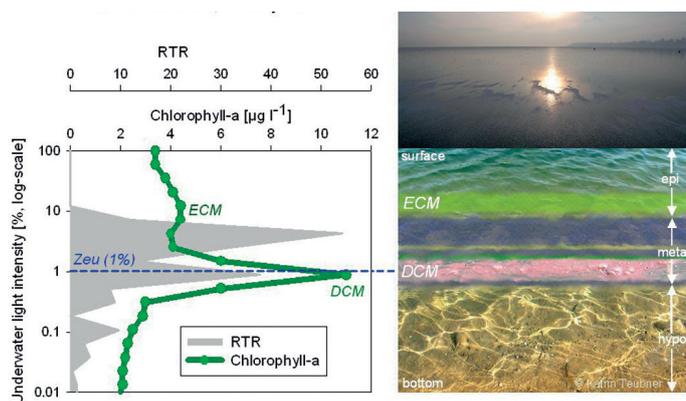
**Abb. 11** Mikroskopisches Abschätzen des Biovolumens vom Phytoplankton, Bsp. *Planktothrix rubescens*, Mondsee: Eine mit „Lugol'scher Lösung“ fixierte Seewasserprobe wird in eine Sedimentationskammer gefüllt (die Menge des untersuchten Wasservolumens ist somit definiert). Dabei wird in hohen Kammern (a: 100 mL, 50 mL, 10 ml) das Algenmaterial einer größeren Probenmenge als in einer flachen Kammer angereichert (b: 2 mL). Nach der Sedimentation der Algen am Kammerboden erfolgt die Auszählung unter dem Mikroskop (c), wobei sich auf ein Raster in der Sedimentationskammer (c, d) oder in der Optik des mikroskopischen Strahlengangs bezogen wird. Somit müssen nicht die sedimentierten Algen der gesamten Probe gezählt werden – es genügt, einen Teil der Wasserprobe definiert zu erfassen. Bei großen Phytoplanktern, wie den langen Fäden von *P. rubescens*, werden große Rasterflächen der Zählkammer bei einer relativ geringen Vergrößerung ausgezählt (d: z. B. 20-fach jeweils ein Block von vier einzelnen Rasterfeldern). Bei kleinen Zellen werden einzelne Rasterfelder bei hoher mikroskopischer Vergrößerung ausgewertet (d: z. B. diagonal der Kammerfläche 20 Rasterfelder). Dabei werden so viele Rasterflächen je Algenart gezählt, bis ein statistisch abgesichertes Zählergebnis vorliegt, d. h. je Algenart etwa „unabhängige“ 100 Zählereignisse (Zellen, Fäden, Kolonien) erfasst wurden. Zugleich wird die Größe der Algen mikroskopisch vermessen ( $\mu\text{m}$ -Dimension, dient der Berechnung des Verdrängungs-Biovolumens). Über das definierte Probenvolumen kann aus der Zahl der Zählereignisse die Abundanz je L je Algenart berechnet werden. Bei zusätzlichem Erfassen der mikroskopischen Dimension ergibt sich analog das Biovolumen in  $\text{mm}^3$  je L für eine jeweilige Algenart. Für die Bestimmung des Biovolumens von *P. rubescens* (e) wird die Anzahl der Fäden gezählt und das (Verdrängungs-) Biovolumen anhand der Zylinderformel berechnet. Für letztes wird mikroskopisch die Länge der Einzelfäden (sehr variabel) sowie deren Breite (relativ enger Schwankungsbereich) mikroskopisch vermessen und als mittlere Länge und Breite in die Zylinderformel eingesetzt (Fotos: K. Teubner).

In der Alten Donau gab die Massenentwicklung des kürzlich in Europa sich weiter verbreitenden subtropischen Cyanobakteriums *Raphidiopsis raciborskii* (syn. *Cylindrospermopsis raciborskii*) (Dokulil 2016) und der damit befürchteten Toxinbildung [57] des städtischen Erholungsgewässers in Wien, den letzten Stein des Anstoßes zur Gewässersanierung. Ein weiteres toxisches Cyanobakterium, welches häufiger in den nachfolgend weniger dramatischen Eutrophierungsperioden auftrat, war das Cyanobakterium *Microcystis aeruginosa* (Netzblualge). Im Mondsee verursachte eine intensive burgunderrote Färbung des Wassers aufgrund der Massenentwicklung des Cyanobakteriums *Planktothrix rubescens* (Burgunderblutalge) ein Nachdenken über eine Nährstoffreduktion, da die Badewasserqualität in der beliebten Tourismusregion Mondseeland dramatisch gefährdet war (Abb. 12, siehe auch [56]). Im Gegensatz zu den zuerst genannten Cyanobakterien, *Raphidiopsis raciborskii* und *Microcystis* spp, ist *Planktothrix rubescens* ein typischer Plankter in den tiefen alpinen Seen im schwach-mesotrophen Nährstoffzustand (siehe Mondsee in Abb. 10). Dieses Cyanobakterium vermehrt sich insbesondere in den tiefen Wasserschichten, dem Metalimnion (Abb. 13). Im Mondsee wuchs dieses Cyanobakterium im Zuge der übermäßigen Nährstoffanreicherung dann jedoch nicht mehr ausschließlich in der Tiefe, sondern wurde auch in die oberen Wasserschichten (Epilimnion) während der thermischen Schichtung im Sommer eingespült. Damit verlieh *P. rubescens* dem gesamten Wasserkörper die für dieses Cyanobakterium typische burgunderrote

Farbe. Die Farbe resultiert aus dem zellulären photosynthetischen Pigment Phycoerythrin, welches als Anpassung an die grünen Schwachlichtverhältnisse der Blutburgunderalge ein optimales Wachstum in der Gewässertiefe gewährt.



**Abb. 12** Makroskopisch erkennbare Überzüge von Cyanobakterien sind an der Wasseroberfläche gut zu erkennen, hier gezeigt werden die burgunderroten Aufrahmungen des Cyanobakteriums *Planktothrix rubescens* für das Beispiel Mondsee im Jahr 2004 (Foto aus: <http://www.lakeriver.at>)



**Abb. 13** Tiefenprofil eines tiefen alpinen Sees: links grafische Darstellung, rechts Schema. Hier bildet sich neben dem Phytoplanktonmaximum an der Oberfläche (epilimnetisches Chlorophyll-Maximum, ECM) die eigentliche Phytoplanktonbiomasse in einer Tiefe von etwa 10 m aus (Tiefen-Chlorophyll-Maximum, DCM). Das DCM wird in alpinen Seen wie dem Mondsee zu 90 % von dem Cyanobakterium *Planktothrix rubescens* dominiert (Dokulil und Teubner 2012), welches optimal bei den geringen Lichtintensitäten von nur 1 % Licht wachsen kann (Zeu = euphotische Zone, lichtdurchflutete Schicht). Die graue Fläche zeigt die thermische Schichtung (RTR = Wert thermischer Widerstandskraft gegen die Durchmischung des Wassers) im Tiefenprofil an (Schema aus: <http://www.lakeriver.at>)

Mit Ausnahme von extrem stark mit Nährstoffen angereicherten Gewässern, wo im Jahresmittel die Respiration (Atmung) gegenüber der Primärproduktion (Photosynthese) überwiegt (Dokulil und Teubner 2022), sind in allen übrigen stehenden Gewässern quasi im gesamten Wasserkörper planktische Algen vorzufinden. Die Biomasse der Algen kann jedoch im See sowohl horizontal als auch vertikal stark variieren. Nach dem entsprechenden Leitfaden der Gewässerzustandsverordnung (GZÜV) für das biologische Qualitätselement Phytoplankton wird an der tiefsten Stelle eines Gewässers eine sogenannte tiefenintegrierte Probe genommen [58]. Um in einem tiefen See (Bsp. Mondsee) bei einer reduzierten Zahl von vertikalen Schöpfproben trotzdem das (maximale) epilimnetische Ausmaß der Phytoplanktonentwicklung zu erfassen, wird die Sommerprobe bei etwa 12 % Lichtintensität entnommen, d. h. in der Regel in der Gewässertiefe von etwa 2 bis 3 m unter der Seenoberfläche. Für das Beispiel Alte Donau konnten die epilimnetischen Maxima (bei windstillem Sommerwetter) für den nährstoffarmen Zustand mit klarem Wasserkörper (oligotroph) in 3,0 m, bei mittlerer Nährstoffbelastung (mesotroph) in 2,6 m und bei stärkerer Nährstoffbelastung (eutroph) in 1,9 m Tiefe ermittelt werden (Teubner et al. 2020). Generell zeigt

sich dabei die Tendenz, dass bei einer erhöhten Nährstoffbasis, insbesondere von Phosphor, sich umso höhere Biomassen an Phytoplankton entwickeln können (Abb. 10) und dementsprechend die Trübe eines Wasserkörpers zunimmt (Tab. 2). In einem trüben Gewässer liegt somit die Wasserschicht des algenphysiologischen Optimums von 12 % Oberflächenstrahlung näher an der Wasseroberfläche als in einem klaren nährstoffarmen Gewässer.

Die Besonderheit der Nährstoffanreicherung in tiefen, im Sommer thermisch geschichteten Seen, liegt in der möglichen Ausprägung eines weiteren Phytoplankton-Maximums in tiefer gelegenen Wasserschichten bei etwa 0,9 bis 1 % Lichtintensität (siehe Text oben zu dem Phycoerythrin-haltigen Cyanobakterium *Planktothrix rubescens*). Somit ist in solchen Seen, wie es hier für den Mondsee beispielhaft besprochen wird, eine weitere Probenentnahme in der Tiefe notwendig, um die Nährstoffsituation und die sich daraus ableitende Bildung der Phytoplanktonbiomasse repräsentativ für den See zu erfassen. Es zeigt sich im Tiefenprofil, dass das metalimnetische Phytoplanktonmaximum etwa 4,5-fach höher sein kann als das Phytoplanktonmaximum im Epilimnion (Abb. 13, s. auch Dokulil und Teubner 2012). Gekoppelt an die thermische Schichtung des Wasserkörpers verschiebt sich im Mondsee der metalimnetische Peak von einer Tiefe in 7 m (Anfang Juni) auf 15 m (Ende August) im Verlauf eines Sommers.

**Tab. 2** 5-stufige Skala der Trophie-Klassifikation der Wasserqualität bezüglich des Gesamt-Phosphorgehalts, der Phytoplanktonbiomasse (Biomasseschätzung über das Biovolumen bzw. das Chlorophyll-a) und der Sichttiefe (Secchi-Tiefe). Die Grenzwerte beziehen sich auf Jahresmittelwerte. Die Werte für den Gesamtphosphor und das Chlorophyll-a sind der ÖNORM entnommen; das dem Chlorophyll-a Wert korrespondierende Phytoplanktonbiovolumen aus Teubner et al. (2018). Der Anteil des Cyanobakterien-Biovolumens am Gesamt-Biovolumen ist der gewichtete Mittelwert mit dem maximalen Wert gleich 100 gleichgesetzt (gewichtete prozentuale Anteile aus Dokulil et al. 2005). Die Grenzwerte für die Sichttiefe abgeleitet aus Teubner et al. (2020) sowie nach Forsberg und Ryding ([59])

	Oligotroph (gering)	Mesotroph (mittel)	Schwach Eutroph (kritisch)	Stark Eutroph (stark)	Hypertroph (sehr stark)
Gesamt-Phosphor [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ]	< 10	10 – 20	20 – 40	40 – 60	> 60
Phytoplankton Biovolumen [ $\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$ ]	< 0,8	0,8 – 2,4	2,4 – 4,7	4,7 – 7	> 7
Phytoplankton Chlorophyll-a [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ]	4	4 – 12	12 – 24	24 – 35	35
Cyanobakterien [% , Max = 100]	33	59	65	81	100
Sichttiefe [m]	> 5,5	5,5 – 2,4	2,4 – 1,5	1,5 – 1	< 1

Die Phytoplanktonentwicklung verändert sich qualitativ und quantitativ innerhalb eines Jahres in Abhängigkeit vom saisonalen Verlauf von Einstrahlung und Temperatur und damit assoziierten Sukzessionen der Nährstoffverfügbarkeit (bottom-up) und Nahrungsketten (top-down). Um auch hier die Maxima im Jahresverlauf zu erfassen, werden Gewässer insbesondere dann beprobt, wenn sich jeweils ein temporäres Maximum des Phytoplanktons im Verlauf der Vegetationsperiode aufgebaut hat. Das erste Maximum im Jahresverlauf kann im Frühjahr beobachtet werden, welches im wesentlichen bottom-up, d. h. je nach Verfügbarkeit der Nährstoffe, gesteuert wird. Dieses Frühjahrsmaximum baut sich vorwiegend aus Kieselalgen auf (Diatomeen, Bacillariophyta). Im Ausnahmefall von (1) starker Nährstoffanreicherung im Frühjahr und (2) einem Flachsee (Beispiel Alte Donau) ist das Frühjahrsplankton neben Kieselalgen auch von typischen Cyanobakterien-Frühjahrsvertretern, d. h. meist fädigen nicht-koloniebildenden Cyanobakterien, geprägt (Teubner et al. 1999; Dokulil und Teubner 2000; Dokulil 2016). Das zweite Phytoplanktonmaximum wird im Sommer auf ein Klarwasserstadium folgend (massive Zooplanktonentwicklung auf Kosten des Phytoplanktons) gebildet. Hier entwickeln sich die höchsten Biovolumenanteile

von Cyanobakterien im Jahresverlauf. Diese photosynthetischen Prokaryonten können dabei einen gewichteten Biovolumenanteil von weit über 80 % am Gesamt-Biovolumen während der Monate von Juli bis September einnehmen (Dokulil et al. 2005). Typische Sommervertreter der Cyanobakterien sind oft koloniebildende Taxa wie *Microcystis aeruginosa* und *Aphanizomenon flos-aquae* (Teubner et al. 1999; Dokulil und Teubner 2000). Darüber hinaus zeigt sich allgemein die Tendenz, dass insbesondere in nährstoffreichen Gewässern die Cyanobakterien dominieren (Dokulil et al. 2005; Dokulil und Teubner 2003; [60], siehe auch Tab. 2). Ein dritter und letzter saisonaler Peak des Phytoplanktons ergibt sich im Herbst, wobei Vollzirkulation bzw. andere saisonal bedingte Anpassungen die Cyanobakterien nur vermindert begünstigen.

Die Cyanobakterien prägen damit vorwiegend das Sommerplankton in nährstoffreichen Gewässern. Die beiden extremen Umweltbedingungen, die das Wachstum der Cyanobakterien gegenüber den anderen Phytoplanktern fördern, sind somit die Nährstoffanreicherung und hohe Wassertemperaturen. Daher werden Cyanobakterien häufig in Untersuchungen angesprochen, wo es um die Auswirkung einer lokalen Eutrophierung bzw. der globalen Erwärmung geht (Dokulil und Teubner 2000; Dokulil und Teubner 2012; Teubner et al. 2020). Physiologische Besonderheiten der Cyanobakterien, die eine Massenentwicklung gegenüber anderen Phytoplanktern ermöglichen, sind (1) die Bildung von Heterocyten mancher Taxa, welche der Bindung von Luft-Stickstoff dienen (*R. raciborskii*, *A. flos-aquae*, relevant für das Bsp. Flachsee Alte Donau), (2) eine fakultativ heterotrophe Lebensweise in Ergänzung zur obligaten autotrophen Ernährung sowie (3) der Anpassung an sehr niedrige Lichtverhältnisse, wo andere Phytoplankter dann nicht mehr dauerhaft existieren können (2 und 3 sind insbesondere relevant für das Bsp. tiefer alpiner Mondsee).

### 6.3.2 Die besondere Rolle der Cyanobakterien aufgrund der Bildung von Cyanotoxinen

Bei forciertem Phytoplanktonwachstum, welches oft im Zuge einer ungewollten Überdüngung der Seen oder auch mit der Erwärmung infolge des Klimawandels einhergeht, rückt auch die Frage nach dem Anteil der Cyanobakterien an der Phytoplankton-Massenentwicklung in den Mittelpunkt (u. a. [57]; siehe auch % Cyanobakterien in Tab. 2). Das Interesse, die Cyanobakterien quantitativ zu erfassen, ergibt sich neben einer Bestimmung des Biovolumens (Abb. 11) auch durch deren Bildung von vielfältigen Cyanotoxinen. Der qualitative und quantitative Nachweis von Cyanotoxinen (z. B. Microcystine und Nodularin) erfolgt dabei mittels analytisch-chemischer Methodik, welche üblicherweise auf Flüssigchromatographie und Massenspektrometrikopplung beruht [61, 62]. Diese Verfahren sind aber im Vergleich zu mikroskopischen und genetischen Nachweismethoden relativ aufwendig und teuer. Bei dem Beispiel *Planktothrix rubescens* kann neben dem Biovolumen ganzer Trichome zugleich auch das Biovolumen je Zelle pro L oder die Zellzahl (in den Trichomen) je L berechnet werden. Während bei der Relation Nährstoffmenge zu Response Biomassebildung (Abb. 11) immer das Biovolumen oder ein anderes Biomasseäquivalent (Chlorophyll-a, s. oben) der photosynthetischen Plankter herangezogen wird, wird bei der Abschätzung der Toxinmenge oft der Bezug auf die Zellzahl der Cyanobakterien gewählt.

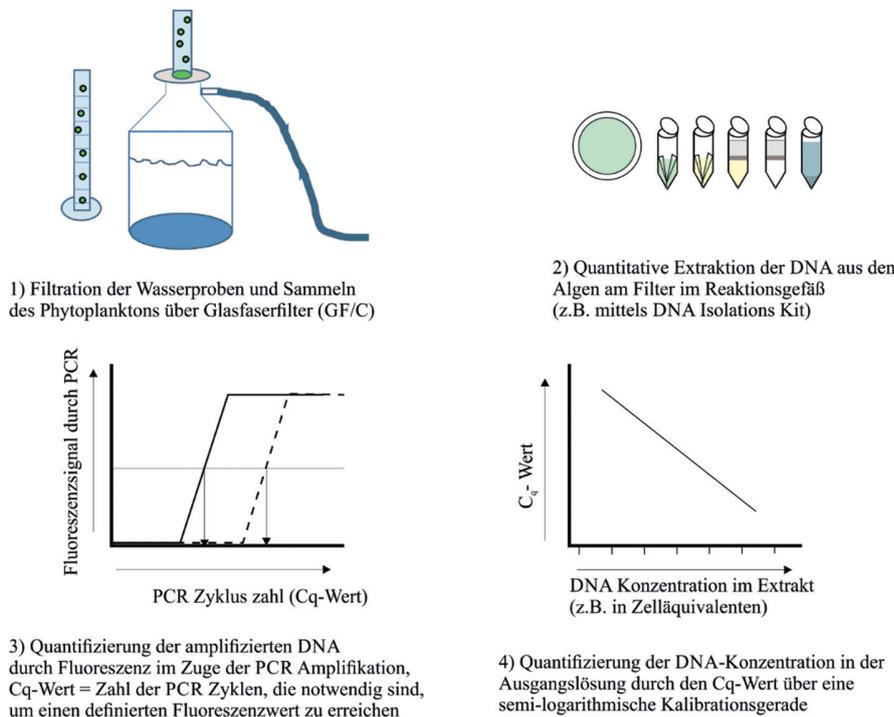
Alternativ können toxigene Cyanobakterien mittels sogenannter quantitativer (Echtzeit-)PCR-Verfahren anhand von sogenannten Referenzgenen identifiziert und auch quantifiziert werden (zur Funktionsweise der qPCR siehe Arbeitsbehelf Teil 1, Kapitel 2.3.2.1). Üblicherweise werden zu diesem Zweck Genregionen, die für Phycocyanin (z. B. *Microcystis* (Kurmayer und Kutzenberger 2003); oder *Planktothrix* (Ostermaier und Kurmayer 2009; Kurmayer et al. 2011)), oder für die RNA-Polymerase (z. B. für *Raphidiopsis* oder *Chrysoosporium (Aphanizomenon) ovalisporum*), oder auch für die 16S rDNA (z. B. bei *Microcystis*) kodieren, verwendet (Referenzen in [57]). Zusätzlich können einzelne für die Toxinsynthese indikative Genregionen amplifiziert werden, und dadurch der Anteil der Toxinproduzenten im Vergleich zur Gesamtpopulation erfasst werden (Protokolle in Kurmayer et al. 2017). Die Standard-Arbeitsschritte zur Durchführung der qPCR-Methodik für Alpenseen oder auch die Alte Donau werden in Abb. 14 dargestellt: 1) Filtrieren der Wasserprobe über GF/C-Filter (beim Mondsee ca. 2 bis 4 L) und Einfrieren des Filters bei -20 °C im Reaktionsgefäß; 2) Quantitative Extraktion der DNA aus den Algen am GF/C-Filter durch kommerzielle DNA-lolationskits; 3) Quantifizierung von einzelnen toxigenen Cyanobakterien über spezifische Genregionen

durch quantitative (Echtzeit-)PCR mittels Fluoreszenzsignal; 4) Rückrechnung des Fluoreszenzsignals auf die ursprüngliche Konzentration der amplifizierten Genregion in der Ausgangslösung.

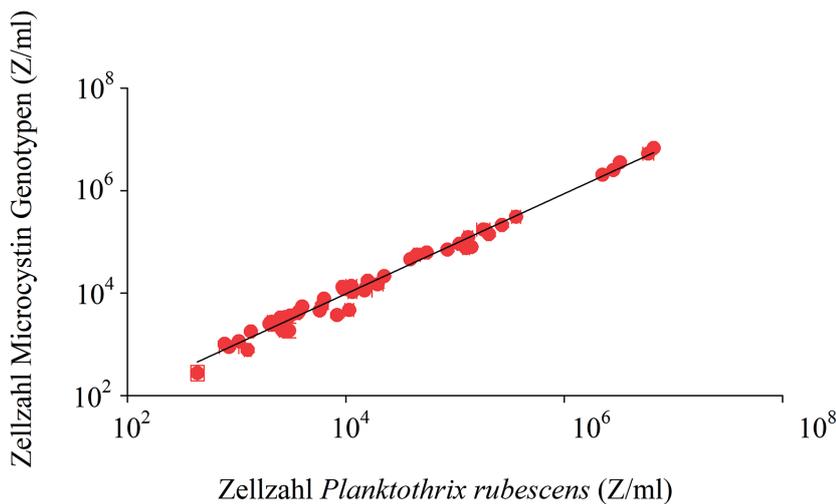
Bei den Cyanotoxinen sind vor allem Microcystine problematisch, da es sich um giftige, zyklische Peptide handelt, welche aus 7 Aminosäuren bestehende Moleküle sind. Microcystine hemmen wichtige, bei allen eukaryotischen Organismen konservierte Enzyme wie Proteinphosphatasen 1 und 2A und sind daher prinzipiell für alle höheren Organismen toxisch [57]. Bei Wirbeltieren und dem Menschen können durch den Einfluss von Microcystinen Nekrosen in der Leber hervorgerufen werden, welche bei längerer Einnahme wie durch unbehandeltes Oberflächen-Trinkwasser eine kanzerogene Wirkung entfalten können [57]. Neben den Microcystinen können von nah verwandten Cyanobakterien (z. B. *Tychonema bourellyi*, *Kamptonema* sp.) Alkaloide, z. B. (Homo-)Anatoxin-a produziert werden, welche neurotoxisch wirken.

Für den Mondsee sowie weitere alpine Seen in Österreich (z. B. Wörthersee), Deutschland (Ammersee) und der Schweiz (Zürichsee, Hallwilersee) konnten mittels qPCR-Methodik verschiedene Microcystin-Genotypen bei *Planktothrix rubescens* bestimmt und quantifiziert werden (Ostermaier und Kurmayer 2010). Darüber hinaus war es möglich, auch die durch *Planktothrix* gebildeten Toxinkonzentrationen (Microcystin) mittels qPCR-Methodik abzuschätzen. Interessanterweise ist für dieses Cyanobakterium der Anteil der Microcystin-produzierenden Cyanobakterien praktisch bei hundert Prozent. Der bestimmende Faktor für die Abundanz der Microcystin-Genotypen ist hauptsächlich durch den Zuwachs oder die Verluste der Populationsentwicklung von *P. rubescens* selbst bestimmt, was auf für dieses Cyanobakterium relativ stabile Umweltfaktoren schließen lässt (Abb. 15). Die Beständigkeit des Wachstums von *P. rubescens* (Fraßresistenz, welche nicht zuletzt durch die Toxizität bestimmt ist) wirkt sich außerdem auf die übrigen Organismen im Nahrungsnetz aus (Qu et al. 2021; Forster et al. 2021).

Nach Ostermaier und Kurmayer (2010) korrelieren die in der Wasserprobe gemessene Microcystinkonzentrationen mit der Biomasse von *Planktothrix* hoch signifikant (Zellzahl;  $y = 1,058x - 0,0173$ ,  $R^2 = 0,899$ ; hierbei entspricht  $y$  dem  $\log_{10}(x+1)$  der Microcystinkonzentration (in  $\mu\text{g/L}$ ) und  $x$  dem  $\log_{10}(x+1)$  der *Planktothrix*-Biomasse). Anhand dieser quantitativen Relation ergibt sich, dass für  $1 \text{ mm}^3/\text{L}$  *Planktothrix*-Biomasse eine Microcystinkonzentration von  $3,1 \pm 0,7 \mu\text{g/L}$  Microcystin-LR Äquivalent auftritt (Ostermaier und Kurmayer 2010).



**Abb. 14** Flussdiagramm zu den einzelnen Arbeitsschritten 1 bis 4 der qPCR-Methodik zur Quantifizierung von toxischen Cyanobakterien, siehe Fallbeispiel Mondsee (Ostermaier und Kurmayer 2010).



**Abb. 15** Zusammenhang zwischen der Zahl von Microcystin-produzierenden Genotypen und der Gesamtzellzahl von *Planktothrix rubescens* in Alpenseen, Talsperren und Reservoirten (n = 85, Kurmayer et al. 2011). Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte aus drei Parallelmessungen sowie das daraus berechnete Fehlerintervall.

Bei *Microcystis aeruginosa*, einem Cyanobakterium, das bspw. massiv in der Alten Donau in der Eutrophierungsperiode vorkam, ist allgemein die Relation der Zellzahl zu der Microcystinkonzentration eher unregelmäßig, wenngleich auch hier häufig positive Korrelationen zwischen Biomasse und Microcystinkonzentration beobachtet werden konnten [61, 63]. Daher kann man davon ausgehen, dass trotz des variablen Anteils von verschiedenen Microcystin-Genotypen in einem von *Microcystis* dominierten Phytoplankton, Cyanotoxine (Microcystin) mit hoher Wahrscheinlichkeit im Wasser nachweisbar sind (Via-Odorika et al. 2004; Kurmayer und Christiansen 2009). Dementsprechend wird für eine Risikoabschätzung von Microcystin in Gewässern durch die WHO ein Quotient von 3 µg Microcystin pro 1 mm<sup>3</sup> Biovolumen von toxischen Cyanobakterien (*Planktothrix*, *Microcystis*, *Dolichospermum*) als oberer Grenzwert angesehen ([57], S. 266). Im Zuge der seit zwei Jahrzehnten stattfindenden Phase der Reoligotrophierung wurden im Mondsee und in der Alten Donau durchschnittlich Biovolumina von den toxischen Cyanobakterien *Planktothrix* bzw. *Microcystis* < 1 mm<sup>3</sup>/L beobachtet.

## 6.4 Schlussfolgerungen

- Die Gewässersanierung am Fallbeispiel Alte Donau zeigt, dass die Reduktion des wachstumslimitierenden Nährelements Phosphor abrupt erreicht werden kann, aber durch weitere Maßnahmen der Biomanipulation (z. B. Makrophytenansiedlung, Pflanzung des Röhrichtgürtels) unterstützt werden muss, um eine nachhaltige Sanierung zu gewährleisten. Mit der Sanierung nahm die Wassertransparenz zu (Dokulil et al. 2018; Teubner et al. 2020). Die Sichttiefe von unter einem Meter während der Eutrophierungsperiode (hypertroph) stieg auf 3.5 m (mesotroph) und entspricht damit dem Referenzzustand dieses Gewässers. Zugleich wurde mit der Sanierung der Dominanz von Cyanobakterien entgegengewirkt, sodass sich ein gemischt zusammengesetztes Phytoplankton ergab.
- Bei einer eindeutigen Identifizierung der Hauptquellen des Nährstoffeintrags und einer nachfolgend strikten Sanierung des Einzugsgebiets beim Fallbeispiel Mondsee (Reduktion des Nährstoffeintrags durch Bau der Ringkanalisation u. a. [56]) ergab sich bereits innerhalb von 15 Jahren eine Rückkehr zu Referenzbedingungen des alpinen Sees (z. B. Dokulil und Teubner 2005). Die Reduktion der jährlichen Gesamtphosphorkonzentration folgte einem Trend, mit phasenweise raschen, aber dann auch wieder verzögerten Nährstoffabnahmen. Neuere Nährstoffeinträge bzw. eine Zunahme des Cyanobakteriums *Planktothrix rubescens*, die hier nicht weiter im Detail abgehandelt werden, ergeben sich durch andere Einträge und den Klimawandel (Dokulil und Teubner 2012; Luger et al. 2021).
- Dem Phytoplankton, welches sich unmittelbar bei einer Nährstoffanreicherung zunehmend bildet und als Primärproduzent die Grundlage der Nahrungsketten in einem Gewässer bildet, kommt

eine Schlüsselrolle bei der Bewertung von Seenökosystemen zu. Da Cyanotoxine sich auf alle höheren Organismen, beginnend bei den Wasserflöhen des Zooplanktons, hemmend oder giftig auswirken können, haben Cyanobakterien auch weitreichende Konsequenzen für die Nahrungsketten in einem Seen-Ökosystem (Qu et al. 2021). Aufgrund ihres prokaryontischen Zellaufbaus werden die Cyanobakterien über ihre photosynthetische Leistung innerhalb des Phytoplanktons weit hinaus auch mikrobiologisch vielfältig im See untersucht (Greisberger et al. 2008, [64]).

- Eine Reduktion des Nährstoffeintrags, insbesondere von Phosphor, wirkt nicht nur einer unerwünschten Massenentwicklung von Phytoplankton entgegen, sondern vermindert insbesondere auch das Wachstum von Cyanobakterien und verringert damit das Risiko der Bildung von cyanobakteriellen Toxinen im Wasser.
- Die Informationen zur Höhe und Zusammensetzung der Phytoplanktonbiomasse, insbesondere dem Anteil der Cyanobakterien, bildet eine wichtige Basis für Entscheidungsträger:innen, um nachhaltige Monitoring- und Managemententscheidungen inklusive der Restaurierung eines Ökosystems zu treffen.
- Genetische Nachweismethoden bieten sich heute an, das Potenzial an toxinbildenden Cyanobakterien (Ostermaier und Kurmayer 2010; Kurmayer et al. 2011) frühzeitig zu erkennen und etwaige steuernde Umweltfaktoren ausfindig zu machen. Durch Früherkennung und Quantifizierung des Biovolumens kann die aufwendige chemisch-analytische Nachweismethodik effizienter eingesetzt werden. Auf DNA-Sequenzierung basierende Verfahren und daraus resultierende Netzwerkanalysen ermöglichen es, resultierende Interaktionen zwischen toxischen Cyanobakterien und verschiedenen Organismen im Nahrungsnetz im Detail zu analysieren (Forster et al. 2021; Qu et al. 2021).

## 6.5 Detailmethodik

Die Abschätzung des Biovolumens vom Phytoplankton erfolgt nach der mikroskopischen Auszählung von Zellen, Fäden oder Kolonien der Phytoplankter sowie das Vermessen der Dimensionen der Zellgebilde (Abb. 11). Das Biovolumen einer Art wird als das Verdrängungsvolumen aller Zellen einer jeweiligen Art berechnet und auf das Volumen einer Wasserprobe bezogen. Da das mikroskopische Auszählen von Phytoplanktonproben relativ zeitaufwendig ist (ca. 4 Stunden Arbeitsaufwand am Lichtmikroskop je Probe) und auch eine gute taxonomische Kenntnis der Bearbeiter:innen voraussetzt, wird oft auf eine vereinfachte Abschätzung der Phytoplanktonbiomasse zurückgegriffen. Hierfür wird der extrahierte Chlorophyll-a Gehalt einer Phytoplanktonprobe gemessen, da dieses photosynthetische Pigment in allen Phytoplanktontaxa, wenngleich mit einem leicht variierenden zellulären Gehalt vorkommt. Im Durchschnitt beträgt der Chlorophyll-a Gehalt 0,5 % der Phytoplankton-Frischbiomasse (Teubner et al. 2018). Verhältnismäßig reich an Chlorophyll-a sind die Grünalgen, dagegen relativ arm die Cyanobakterien (Greisberger und Teubner 2007). Der relativ niedrige Gehalt von Chlorophyll-a bei den Cyanobakterien ergibt sich dadurch, dass das eigentliche photosynthetisch aktive Pigment hier nicht das Chlorophyll-a ist, sondern eine Reihe diverser photosynthetisch aktiver Phycobiline (Phycocerythrin, Phycocyanin). Aufgrund dieser speziellen Pigmente sind die Cyanobakterien in der Lage, das wenige grüne Licht im Metalimnion photosynthetisch optimal nutzen zu können (Beispiel Mondsee, s. oben). Generell lässt sich über das Messen von Markerpigmenten nicht nur die Gesamtphytoplanktonbiomasse, sondern auch die Zusammensetzung des Phytoplanktons erfassen (Greisberger und Teubner 2007).

Darüber hinaus können heute auch mittels spezifischer DNA-Sequenzierungsverfahren individuelle Vorkommen von Phytoplanktontaxa inklusive der Cyanobakterien hergeleitet werden (Ma et al. 2020). Da nicht alle Vertreter der Cyanobakterien Toxine produzieren, ist es sinnvoll, die Zusammensetzung des Phytoplanktons zum Beprobungszeitpunkt zu kennen und dadurch das Potenzial für das Auftreten von Cyanotoxinen im Verlauf der saisonalen Entwicklung besser abschätzen zu können. Die Hochdurchsatzsequenzierung von PCR-amplifizierten 16S rDNA- (für Cyanobakterien) und/oder 18S rDNA-Fragmenten (für eukaryotische Algen) und der Vergleich der Sequenzabfolge (des Barcodes) mit einer Referenzdatenbank ermöglicht über die bioinformatische Auswertung letztlich die taxonomische Zuordnung.

## 6.6 Referenzarbeiten

Dokulil M, Teubner K (2000): Cyanobacterial dominance in lakes. *Hydrobiologia* 438:1–12.

Dokulil M, Teubner K (2012): Deep living *Planktothrix rubescens* modulated by environmental constraints and climate forcing. *Hydrobiologia* 698:29–46.

Dokulil M, Teubner K (2022): Comparative Primary Production, In: *Encyclopedia of Inland Waters*, Academic Press.

Dokulil MT (2016): Vegetative survival of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) at low temperature and low light. *Hydrobiologia* 764:241–247.

Dokulil MT, Donabaum K, Pall K, Janauer GA, Teubner K (2018): Eutrophication, Management and Sustainable Development of Urban Lakes: General Considerations and Specific Solutions for Alte Donau – A Synthesis. In: Dokulil MT, Donabaum K, Teubner K (eds) *The Alte Donau: Successful restoration and sustainable management – An ecosystem case study of a shallow urban lake*. *Aquat. Ecol. Ser. 10*, Springer, 373–385.

Dokulil MT, Donabaum K, Teubner K (eds) (2018): *The Alte Donau: Successful restoration and sustainable management – An ecosystem case study of a shallow urban lake*. *Aquat. Ecol. Ser. 10*, Springer.

Dokulil MT, Teubner K (2003): Steady state phytoplankton assemblages during thermal stratification in deep alpine lakes. Do they occur? *Hydrobiologia* 502:65–72.

Dokulil MT, Teubner K (2005): Do phytoplankton assemblages correctly track trophic changes? – An assessment using directly measured and palaeolimnological data. *Freshw. Biol.* 50:1594–1604.

Dokulil MT, Teubner K, Greisberger S (2005): Typenspezifische Referenzbedingungen für die integrierende Bewertung des ökologischen Zustandes stehender Gewässer Österreichs gemäß der EU-Wasserrahmenrichtlinie. Modul 1: Die Bewertung der Phytoplanktonstruktur nach dem Brettum-Index. Abschlussbericht. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt & Wasserwirtschaft, Wien.

Forster D, Qu Z, Pitsch G, Bruni EP, Kammerlander B, Pröschold T, Sonntag B, Posch T, Stoeck T (2021): Lake Ecosystem Robustness and Resilience Inferred from a Climate-Stressed Protistan Plankton Network. *Microorganisms* 9:549.

Greisberger S, Teubner K (2007): Does pigment composition reflect phytoplankton community structure in differing temperature and light conditions in a deep alpine lake? An approach using HPLC and delayed fluorescence (DF) techniques. *J. Phycol.* 43:1108–1119.

Greisberger S, Dokulil MT, Teubner K (2008): A comparison of phytoplankton size-fractions in Mondsee, an alpine lake in Austria: distribution, pigment composition and primary production rates. *Aquat. Ecol.* 42:379–389.

Jeppesen E, Søndergaard M, Jensen JP, Havens KE, Anneville O, Carvalho L, Coveney MF, Deneke R, Dokulil MT, Foy B, Gerdeaux D, Hampton SE, Hilt S, Kangur K, Köhler J, Lammens EHHR, Lauridsen TL, Manca M, Miracle MR, Moss B, Nöges P, Persson G, Phillips G, Portielje R, Romo S, Schelske CL, Straile D, Tatrai I, Willén E, Winder M (2005): Lake responses to reduced nutrient loading – an analysis of contemporary long-term data from 35 case studies. *Freshw. Biol.* 50:1747–1771.

Kurmayer R, Kutzenberger T (2003): Application of real-time PCR for quantification of microcystin genotypes in a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis sp.* Appl. Environ. Microbiol. 69:6723-6730.

Kurmayer R, Christiansen G (2009): The genetic basis of toxin production in cyanobacteria. Freshw. Rev. 2: 31-50.

Kurmayer R, Schober E, Tonk L, Visser P, Christiansen G (2011): Spatial divergence in the proportions of genes encoding toxic peptide synthesis among populations of the cyanobacterium *Planktothrix* in European lakes. FEMS. Microbiol. Lett. 317:127-137.

Kurmayer R, Sivonen K, Wilmotte A, Salmaso N (2017): Molecular tools for the detection and quantification of toxigenic cyanobacteria. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, West Sussex, UK

Ma T, Jiang Y, Elbehery AHA, Blank S, Kurmayer R, Deng L (2020): Resilience of planktonic bacterial community structure in response to short-term weather deterioration during the growing season in an alpine lake. Hydrobiologia 847:535-548.

Ostermaier V, Kurmayer R (2009): Distribution and abundance of nontoxic mutants of cyanobacteria in lakes of the Alps. Microb. Ecol. 58:323-333.

Ostermaier V, Kurmayer R (2010): Application of real-time PCR to estimate toxin production by the cyanobacterium *Planktothrix sp.* Appl. Environ. Microbiol. 76:3495-3502

Qu Z, Forster D, Bruni EP, Frantal D, Kammerlander B, Nachbaur L, Pitsch G, Posch T, Pröschold T, Teubner K, Sonntag B, Stoeck T (2021): Aquatic food webs in deep temperate lakes: Key species establish through their autecological versatility. Mol Ecol 30:1053-1071.

Teubner K, Crosbie N, Donabaum K, Kabas W, Kirschner A, Pfister G, Salbrechter M, Dokulil MT (2003): Enhanced phosphorus accumulation efficiency by the pelagic community at reduced phosphorus supply: a lake experiment from bacteria to metazoan zooplankton. Limnol. Oceanogr. 48:1141–1149.

Teubner K, Dokulil MT (2002): Ecological stoichiometry of TN:TP:SRSi in freshwaters: nutrient ratios and seasonal shifts in phytoplankton assemblages. Fundam. Appl. Limnol. 154:625-46.

Teubner K, Feyerabend R, Henning H, Nicklisch A, Woitke P, Kohl J-G (1999): Alternative blooming of *Aphanizomenon flos-aquae* or *Planktothrix agardhii* induced by the timing of the critical nitrogen- phosphorus-ratio in hypertrophic riverine lakes. Arch. Hydrobiol., Spec. Iss. Adv. Limnol. 54:325–344.

Teubner K, Kabas W, Teubner IE (2018): Phytoplankton in Alte Donau: Response to trophic change from hypertrophic to mesotrophic over 22 years. In: Dokulil MT, Donabaum K, Teubner K (eds): The Alte Donau: Successful restoration and sustainable management – An ecosystem case study of a shallow urban lake. Huisman J (ed), Aquat Ecol Ser, Springer, 10:107–147.

Teubner K, Teubner I, Pall K, Kabas W, Tolotti M, Ofenböck T, Dokulil MT (2020): New Emphasis on Water Transparency as Socio-Ecological Indicator for Urban Water: Bridging Ecosystem Service Supply and Sustainable Ecosystem Health. Front Environ Sci 8:573724.

Via-Ordorika L, Fastner J, Kurmayer R, Hisbergues M, Dittmann E, Komárek J, Erhard M, Chorus I (2004): Distribution of microcystin-producing and non-microcystin-producing *Microcystis sp.* in European freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. System. Appl. Microbiol. 27:592-603. Dezember 2022, Wien.

Zitiervorschlag für das Kapitel 6, Teubner et al.:

Teubner K, Kurmayer R, Dokulil MT (2022) Eutrophierung, toxische Cyanobakterien am Beispiel des urbanen Donau-Altarmgewässers Alte Donau und des alpinen Mondsees. In: Farnleitner AH et al. (eds) Mikrobiologie und Wasser. Fallstudien zur Illustration der neuen diagnostisch-analytischen Möglichkeiten. ÖWAV-Arbeitsbehelf, 52 (2), Wien: 35-45



zukunft  
SEIT 1909  
denken

# REGELWERK

## WASSER • ABWASSER • ABFALL

### ■ ARBEITSBEHELFE

des Österreichischen Wasser- und Abfallwirtschaftsverbandes (ÖWAV)

ÖWAV-Arbeitsbehelf 52

## Mikrobiologie und Wasser

Teil 2: Fallstudien zur Illustration der neuen  
diagnostisch-analytischen Möglichkeiten

Wien 2022

In Kommission bei:  
Austrian Standards plus GmbH  
1020 Wien, Heinestraße 38