Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie, Kiel 1977 (1978):

Physiologische Aspekte der Ökologie aquatischer Blaualgen

Guido Benno Feige und Gabriele Aiko Ritschel

In many ecosystems, blue-green algae, especially filamentous forms, are an important factor in the nitrogen cycle. Undisturbed aquatic ecosystems provide nearly optimal conditions for species capable of nitrogen fixation. The amount of combined nitrogen added to marine ecosystems by nitrogen fixation of blue-green algae has been estimated to be in excess of 40 million metric tons per year. The total amount of combined nitrogen released into the biosphere by diazotrophe is about 175 million metric tons per year (by comparison, industrially produced nitrogen fertilizers amount to only 30 million metric tons N per year).

An optimal combination of abiotic factors for diazotrophic blue-green algae results in differentiation of vegetative cells into heterocysts. The frequency of heterocysts varies in a characteristic manner and is inversely related to the concentration of combined nitrogen in the medium. Complete absence of combined nitrogen in the medium induces differentiation of heterocysts in natural habitat as well as under laboratory conditions. This differentiation is accompanied by synthesis of glycolipids specific to heterocysts.

Unter den Blaualgen gibt es zahlreiche Vertreter, die molekularen Stickstoff fixieren können. Diese Fähigkeit bezeichnet man als Diazotrophie. Für entsprechende Blaualgen bedeutet diese Fähigkeit einen erheblichen Konkurrenzvorteil gegenüber eukaryoten Organismen, die zur N_2-Fixierung nicht in der Lage sind.

Das für die Fixierung des Distickstoffmoleküls zuständige Enzymsystem, der Nitrogenasekomplex, ist nur unter anaeroben Bedingungen aktiv (BURNS u. HARDY 1975, dort weitere Literatur). Es liegt auf der Hand, aus der Sicht der Evolution in diesem Enzymsystem ein archaisches Prinzip zu sehen, da anscheinend nur prokaryote Organismen, einige Bakterien und Blaualgen, zur diazotrophen Ernährung fähig sind. Auch die schon erwähnte Sauerstoffempfindlichkeit des Nitrogenasesystems spricht für einen sehr frühen Zeitpunkt in der Evolution der Organismen, für eine Entwicklung unter reduzierenden Umweltbedingungen. In vielen Fällen gehen diazotrophe Organismen biotrophe Assoziationen ein; erinnert sei an die Wurzelknöllchen der *Fabaceae* und an die verschiedenen Blaualgensymbiosen mit Pilzen, Lebermoosen, Farnen, Cycadeen und höheren Pflanzen.

Fädige Blaualgen unterschiedlicher taxonomischer Stellung bilden unter bestimmten Umwelt- bzw. Kulturbedingungen besondere Zelltypen aus, die als Heterocysten bezeichnet werden. Diese Zellen, die sich bereits lichtmikroskopisch durch Form, Größe und Zellwanddicke von den normalen Zellen eines betreffenden Blaualgenfadens abheben (Abb. 1), galten lange Zeit als botanisches Rätsel (FRITSCH 1951). FOGG (1949) konnte nachweisen, daß die Ausbildung der Heterocysten bei *Anabaena cylindrica*, einer Nostocacee, durch das Vorhandensein verwertbarer Stickstoffverbindungen im Nährmedium verhindert wurde. Nitrat- und ammoniumfreie Nährmedien stimulieren die Heterocysten-Differenzierung bzw. lösen die Differenzierung normaler Blaualgenzellen zu Heterocysten aus.

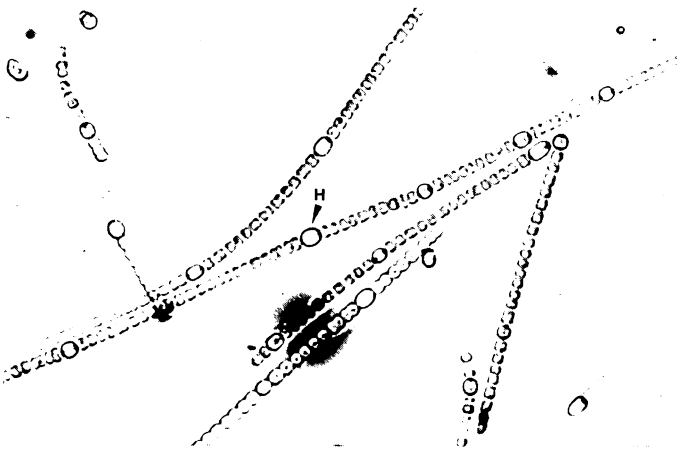


Abb. 1: *Anabaena cylindrica*, Heterocysten und "vegetative Zellen".

Heterocysten können basal, also am Grund des Algenfadens angelegt sein (Abb. 2), sie können aber auch interkalar vorkommen (Abb. 1). In letzterem Fall ist oft eine regelmäßige Musterbildung zu beobachten (WILCOX 1970). Die grundlegenden Zusammenhänge zwischen Heterocystenausbildung und fehlendem Angebot verwertbarer Stickstoffverbindungen führten zu der heute als bewiesen geltenden Annahme, daß in den Heterocysten die Diazotrophie, das Nitrogenasesystem zur Fixierung molekularen Stickstoffs lokalisiert

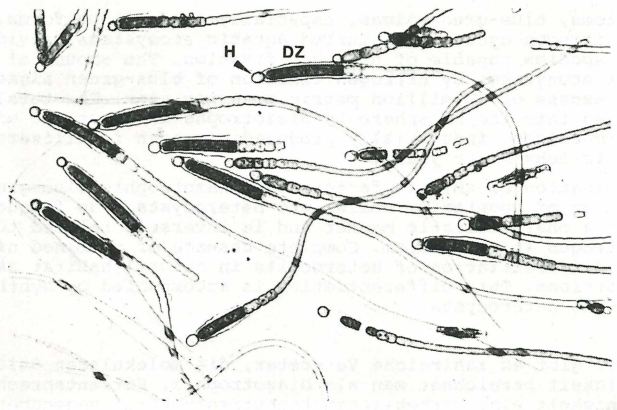


Abb. 2: *Gloeotrichia pisum*, basale Heterocysten und angrenzende Dauerzellen.

bzw. aktiv ist. Durch die Untersuchungen von STEWART und Mitarbeitern (1969), besonders aber von KULASOORIYA und Mitarbeitern (1972) konnte nachgewiesen werden, daß das Maximum der N_2-Fixierung bei *Anabaena cylindrica* mit dem Zeitpunkt maximaler Heterocystenfrequenz korreliert war. Als Heterocystenfrequenz bezeichnet man den prozentualen Anteil der Heterocysten an der Gesamtzellzahl der Blaualgen. In Tab. 1 sind einige ausgewählte Untersuchungen zur Heterocystenfrequenz zusammengestellt.

Tab. 1

Blaualge	Heterocystenfrequenz	Autor
Anabaena cylindrica	6	FOGG 1949
" "	8	KULASOORIYA et al. 1972
" "	10.5	eigene Untersuchungen
" "	14 *(calc.)*	WILCOX 1970
Nostoc calcicola	6	KUTTIG 1976
Anabaena azollae	33	HILL 1975
Nostoc spec. (Flechten)	3.5	HITCH a. MILLBANK 1975a
" " "	22	" " " 1975a
" " "	15-30	" " " 1975b
" " *(Blasia)*	30	RODGERS a. STEWART 1977
" " *(Anthoceros)*	43	" " " 1977
" " *(Gunnera)*	80	SILVESTER a. MCNAMARA 1975

In Fällen biotrophen Zusammenlebens von Blaualgen mit Pilzen, Lebermoosen, Farnen oder höheren Pflanzen weisen diese Blaualgen oft extrem hohe Heterocystenfrequenzen auf, die stets mit entsprechend hohen N_2-Fixierungsraten korrelieren (HITCH a. MILLBANK 1975a u. b, RODGERS a. STEWART 1976).

Durch die von LANG und FAY (1971) entwickelte Methode der schonenden Heterocysten-Isolierung gelang in vivo in diesen Isolaten der Nachweis fast so hoher N_2-Fixierungsraten wie in intakten Zellfäden entsprechender Heterocystenfrequenz. Entzieht man einer zur Heterocystenbildung fähigen Blaualge - z.B. *Nostoc calcicola* - alle verwertbaren Stickstoffverbindungen des Substrats, in diesem Fall Nitrate und Ammoniumverbindungen, so induziert man damit die Differenzierung von Heterocysten. Die strukturellen

und physiologischen Veränderungen der betreffenden Zellen, die bei dieser Differenzierung ablaufen, lassen sich grob schematisieren und sind mit verhältnismäßig geringem Aufwand im Laborexperiment nachvollziehbar. Die Abb. 3 zeigt die Abfolge dieser Differenzierung.

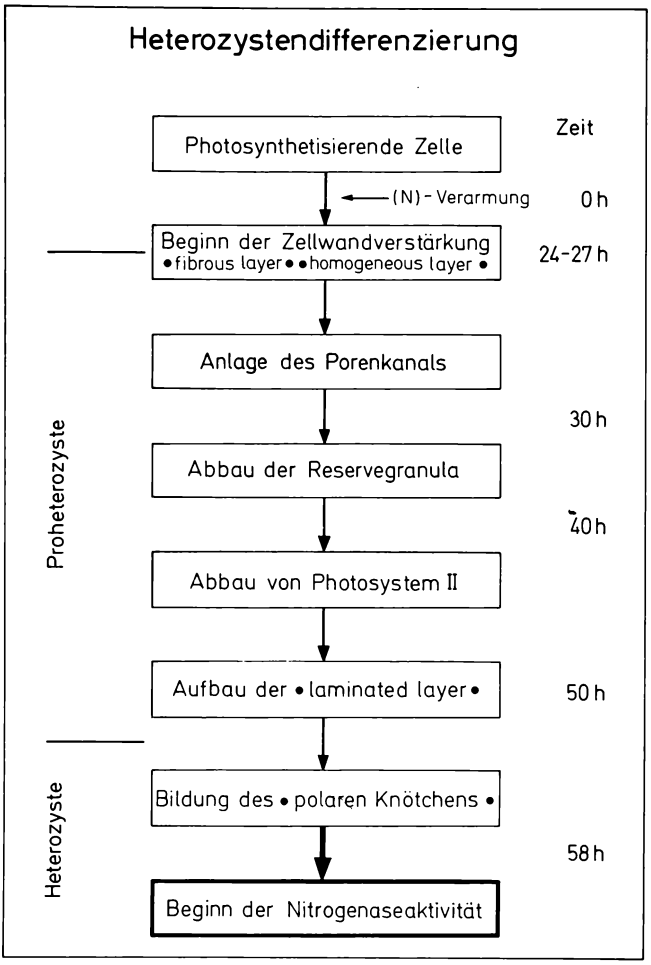
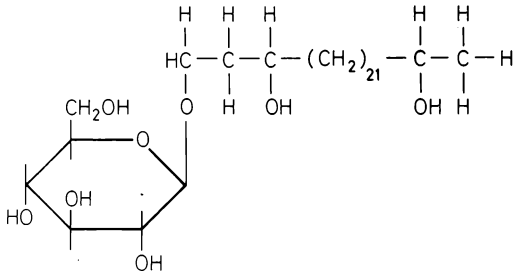


Abb. 3: Schematischer Ablauf der Heterocysten-Differenzierung.

Die zu Beginn der Differenzierung ablaufenden Prozesse lassen nach etwa 24 h die Proheterocysten erkennen. Von entscheidender Bedeutung für die Funktionsfähigkeit der Heterocysten sind der Abbau des Photosystems II, die Bildung der "laminated layer" und anscheinend auch die Bildung des sog. polaren Knötchens, das die zu Beginn der Heterocystenbildung geschaffenen Porenkanäle zu den benachbarten "vegetativen" Zellen abdichtet (KULASOORIYA et al. 1972). Parallel zu den licht- und elektronenmikroskopisch sichtbaren Veränderungen der sich zu Heterocysten differenzierenden Zellen kann die Bildung der "laminated layer", die aus Polyhydroxialkanglykosiden in den Kettenlängen um C_{26} besteht, als biochemischer bzw. physiologischer Nachweis der Heterocystendifferenzierung herangezogen werden (NICHOLS a. WOOD 1968, WALSBY a. NICHOLS 1969, LAMBEIN a. WOLK 1973, WINKENBACH et al. 1972, FEIGE 1976, KUTTIG 1976). Diese für Heterocysten spezifischen "Glycolipide" wurden erstmals von NICHOLS u. WOOD (1968) bei *Anabaena cylindrica* nachgewiesen. Als Folgeprodukte photosynthetischer ^{14}C-Inkorporation wurden sie erstmals im vergangenen Jahr bei *Nostoc*-Arten unterschiedlicher Herkunft und bei *Tolypothrix tenuis* radioaktiv markiert (FEIGE 1976). Zur Methodik der radioaktiven

Markierung und dünnschichtchromatographischen Isolierung und Trennung dieser Verbindungen vgl. FEIGE (1976). Die Abb. 4 zeigt eines dieser Polyhydroxialkanglykoside aus *Anabaena cylindrica* (LAMBEIN a. WOLK 1973). Das Maximum der Synthese der heterocystenspezifischen Polyhydroxialkanglykoside fällt mit dem Zeitpunkt der maximalen Umwandlung von Proheterocysten zu Heterocysten zusammen, ist also kennzeichnend für die letzten Schritte der Differenzierung.



1-(O-α-D-glucopyranosyl)-3,25-hexacosanediol

Abb. 4: Formelbild eines Polyhydroxialkanglycosides aus der Heterocystenwand von *Anabaena cylindrica*.

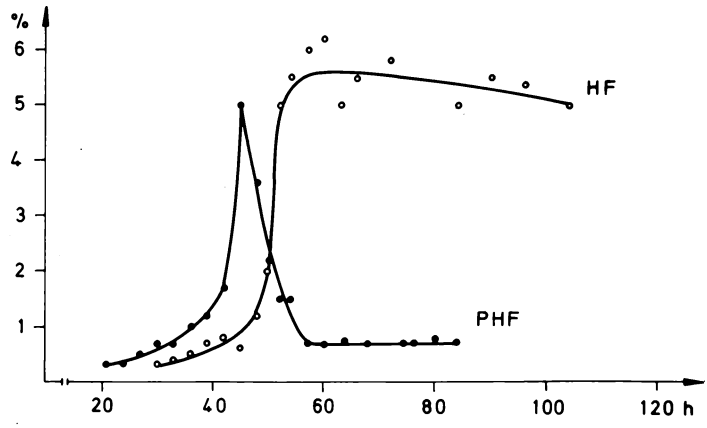


Abb. 5: Proheterocystenfrequenz (PHF) und Heterocystenfrequenz (HF) bei *Nostoc calcicola* in Abhängigkeit von der Nitratverarmungszeit.

Die Abb. 5 zeigt den Verlauf der mikroskopisch sichtbaren Umwandlung von Proheterocysten in Heterocysten bei *Nostoc calcicola*, in der Regel gut determinierbar durch die Ausbildung des stärker lichtbrechenden "polaren Knötchens". Die Abb. 6 macht deutlich, daß im Zeitraum der maximalen Umwandlungsrate von Proheterocysten zu Heterocysten, exakt zwischen 48 und 52 Stunden nach Beginn der Verarmung der Kultur an gebundenem Stickstoff, die Synthese der heterocystenspezifischen Lipide ihr Maximum erreicht. Dieses gilt auch für die absolute Markierung der Alkanglykoside, ersichtlich aus der Abb. 7.

Neben den Polyhydroxialkanglykosiden existiert eine zweite Gruppe heterocystenspezifischer Lipide, Polyhydroxifettsäurezuckerester, die nach bisher vorliegenden Untersuchungen (LAMBEIN a. WOLK 1973) in den Kettenlängen der Fettsäuren mit den Alkanen zu korrespondieren scheinen. Ein gemeinsamer Syntheseabschnitt, bzw. gemeinsame Vorstufen dieser beiden Verbindungsklassen sind somit wahrscheinlich. Die Frage nach dem Syntheseort der heterocystenspezifischen Lipide bzw. ihrer Vorstufen ist berechtigt, zumal die

Heterocysten durch das Fehlen von Photosystem II nicht mehr zur photosynthetischen C-Fixierung in der Lage sind (STEWART et al. 1969). Sie kann aber bisher nicht beantwortet werden.

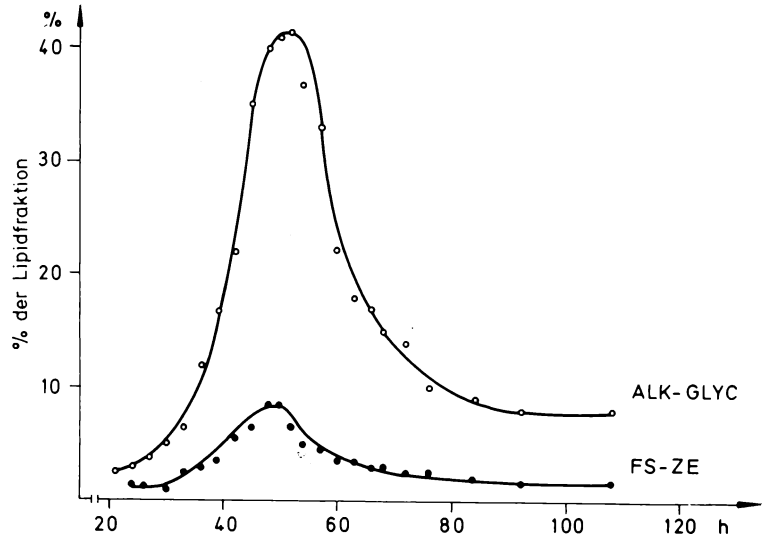


Abb. 6: Prozentualer Anteil der heterocystenspezifischen Glycolipide an der Gesamtlipidfraktion nach photosynthetischer ^{14}C-Inkorporation in Abhängigkeit von der Nitratverarmungszeit.
(Inkubationszeit 30 min, ALK-GLYC - Polyhydroxialkanglycoside, FS-ZE-Polyhydroxifettsäurezuckerester).

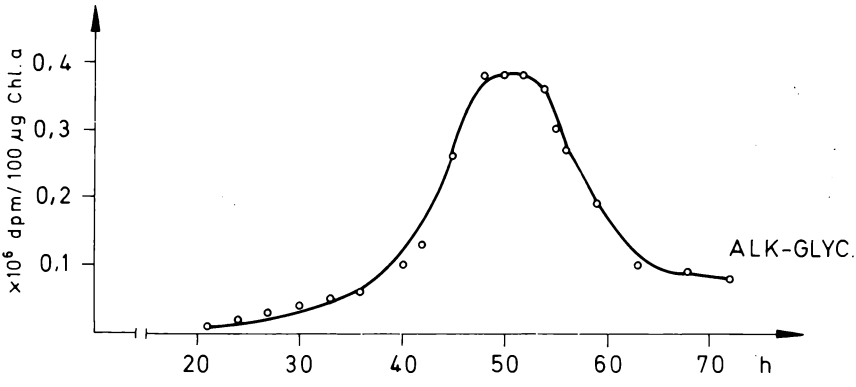


Abb. 7: Vgl. Abb. 6, absolute Markierung der Polyhydroxialkanglycoside.

Bei der Kultur entsprechender Blaualgen in Nährmedien mit verwertbaren Stickstoffverbindungen, in denen keine Heterocysten-Differenzierung erfolgt, werden auch die heterocystenspezifischen Lipide nicht synthetisiert (FEIGE 1976, KUTTIG 1976). Aufgrund der Sauerstoffempfindlichkeit des Nitrogenasesystems muß angenommen werden, daß im Innern der Heterocyste, also am Reaktionsort der Nitrogenase, anaerobe Bedingungen herrschen. STEWART und Mitarbeiter (1969) konnten mit chemoautographischer Methodik ein reduzierendes Milieu in den Heterocysten nachweisen.

Durch die nachweisbare Destruktion des Photosystems II entfällt in den Heterocysten die Photolyse des Wassers und somit die photosynthetische Sauerstoffproduktion. Die Nitrogenase der Heterocysten bedarf für ihre Aktivität also nur noch des Schutzes vor exogenem Sauerstoff. Der "laminated layer" können aufgrund ihres lipophilen Charakters kutikulaähnliche Funktionen zugeschrieben werden. Dazu gehört die Verhinderung des Gasaustausches mit der Umgebung. Der Zutritt des N_2 in das Innere der Heterocyste müßte dann über den Porenkanal, der die Heterocysten mit den Nachbarzellen verbindet, erfolgen. Der gleichzeitige Zutritt von Sauerstoff müßte dabei verhindert werden. Als Spekulation bietet sich das ebenfalls im Endstadium der Heterocysten-Differenzierung gebildete polare Knötchen als Sauerstoff-Falle an, vergleichbar dem Legoglobin der *Rhizobium*-Knöllchen der *Fabaceae*.

Neben anderen Parametern gestatten uns die Zusammenhänge zwischen dem Standortsfaktor Stickstoff (in Form verwertbarer Verbindungen wie NO_3^-, NH_4^+ und lösliche organische N-Verbindungen) und der Ausbildung von Heterocysten die Verwendung bestimmter Blaualgen als Bioindikatoren, z.B. als Anzeiger unterschiedlicher Wassergüte im Hinblick auf eine Stickstoffeutrophierung. Stark verschmutzte aquatische Habitate der polysaproben Zone haben als Leitorganismen unter den Blaualgen *Oszillatoria*-Arten, die zur Heterocystenbildung nicht in der Lage sind, Daneben gilt aber auch die zur Heterocystenbildung fähige *Anabaena constricta* als Indikator dieser Trophiestufe. Sie bildet jedoch unter den hohen Nährstoffkonzentrationen dieser Biotope niemals Heterocysten aus.

Im α-mesosaproben Bereich gelten *Phormidium*- und *Oszillatoria*-Arten als indizierende Blaualgen, sie können keine Heterocysten ausbilden. Erst in ß-mesosaproben Habitaten, also in nur mäßig verschmutzter aquatischer Umwelt, treten unter den Blaualgen Leitorganismen mit Heterocysten auf. Einige davon seien erwähnt:

1. *Gloeotrichia echinulata*
2. " *pisum* (vgl. Abb. 2)
3. *Anabaena flos aquae*
4. " *spiroides*

Der oligosaprobe Bereich, die noch sauberen Binnengewässer, sind u.a. durch das Vorkommen der Blaualgen *Haplosiphon fontinalis* und *Calothrix parietina* gekennzeichnet, zwei Vertreter, die unter dem Standortsfaktor der Nährstoffarmut stets Heterocysten ausbilden.

Nicht zur Heterocystenbildung fähige Blaualgen können auch im oligosaproben (z.B. *Microcoleus subtorulosus*) und ß-mesosaproben Bereich (z.B. *Microcystis flos aquae*) vorkommen. Obligatorisch mit Heterocysten ausgestattete Blaualgen *(Rivulariaceae)* fehlen im α-mesosaproben und polysaproben Bereich. Fakultative Heterocystenbildner *(Nostocaceae)* bilden Heterocysten nur an oligotrophen Standorten, sie sind somit als standortsindizierende Organismen für unterschiedliche Stickstoff-Eutrophierungsgrade anzusehen.

Blaualgen können neben den Trophiestufen noch andere abiotische Standortsfaktoren indizieren. Die meisten aquatischen und auch terrestrischen Formen besiedeln nur Habitate im neutralen bis alkalischen pH-Bereich, nur sehr wenige Vertreter können an Standorten mit einem pH-Wert zwischen 5 und 6 existieren, unterhalb pH 4 ist die Existenz fädiger Blaualgen auf die Dauer nicht möglich (BROCK 1973). Die Besiedlung heißer alkalischer Quellen durch Blaualgen sei hier nur am Rande erwähnt.

Marine Ökosysteme bieten - mit Ausnahme stark verschmutzter Küstenregionen - aufgrund des hohen pH-Wertes und der fast überall nur in sehr geringer Menge gelöster Stickstoffverbindungen diazotrophen Blaualgen nahezu ideale Standortsbedingungen. Besonders in tropischen und subtropischen Meeren können diese Faktoren, verbunden mit den höheren Temperaturen, zur Massenentwicklung von Blaualgen, zu Blaualgenblüten, führen. In jahreszeitlicher Abhängigkeit können solche Algenfelder, die Millionen Hektar umfassen können, mehr als 1000 t/N pro Feld und Tag fixieren (DUGDALE 1969). Bei der marinen N_2-Fixierung, deren Anteil zur Zeit auf 20-25% der globalen N_2-Fixierung geschätzt wird (BURNS a. HARDY 1975), ist die Oszillatoriacee *Trichodesmium erythraeum* möglicherweise die dominante diazotrophe Blaualge. Die in der euphotischen Zone tropischer und subtropischer Meere beheimatete Blaualge bildet Algenblüten in der Sargassosee und im Roten Meer. Alternde Zellen auch anderer Blaualgen erscheinen durch höhere Konzentrationen an Sekundärkarotinoiden (z.B. Echinenon) und glykosidierten Karotinoiden (z.B. Myxolrhammosid) oft rötlich gefärbt. Das hat dazu geführt, daß das Rote Meer seinen Namen von der Blaualge *Trichodesmium* bekam (MARTIN 1970).

Auch bei *Trichodesmium* sind die für die N_2-Fixierung zuständigen Zellen von den normalen Zellen des Algenfadens separiert. Die diazotrophen Zellen des Fadens lassen sich lichtmikroskopisch nur durch eine geringe Pigmentierung von den normalen Zellen unterscheiden. Es ist das Verdienst von CARPENTER u. PRICE (1976), die zentral gelegenen Zellen bei *Trichodesmium* als eigentliche Orte der Diazotrophie und somit als funktionelle Heterocysten identifiziert zu haben. Da der für normale Heterocysten typische Aufbau der Wandstrukturen und das "polare Knötchen" nicht vorhanden sind und detaillierte Untersuchungen über diese marine Blaualge noch ausstehen, können bisher keine Aussagen über die Aufrechterhaltung oder Herstellung der für die Nitrogenaseaktivität zu fordernden Anaerobiosis gemacht werden. Übereinstimmend mit normalen Heterocysten sind auch die zentralen Zellen des *Trichodesmium*-Fadens nicht mehr zur photosynthetischen C-Fixierung in der Lage (CARPENTER a. PRICE 1976).

Im Phytoplankton des Indischen und Atlantischen Ozeans, aber besonders im Bereich der pazifischen Korallenriffe tragen einige *Nostoc*-Arten zur diazotrophen Einbringung gebundenen Stickstoffs in die Weltmeere bei (STEWART 1970).

In wenig verschmutzten Küstenregionen der Weltmeere treten noch weitere diazotrophe Blaualgen auf. Erwähnt seien *Calothrix*- und *Rivularia*-Arten, die z.B. im Sublitoral westeuropäischer Felsküsten zu finden sind.

Die jährlich auf diazotrophem Wege in die Weltmeere gelangende Menge an gebundenem Stickstoff beläuft sich nach neueren Hochrechnungen (BURNS u. HARDY 1975) auf 40 x 10^6 t N. Als Vergleich sei angeführt, daß die industriell erzeugte Menge an Stickstoff-Düngemitteln 30 x 10^6 t N/Jahr entspricht.

Literatur

BROCK T.D., 1973: Evolutionary and ecological aspects of the Cyanophytes. In: The Biology of blue-green algae. Bot. Monographs 9.

BURNS R.C., HARDY R.W.F., 1975: Nitrogen fixation in bacteria and higher plants. Berlin/Heidelberg/ New York (Springer).

CARPENTER E.C., PRICE C.C., 1976: Marine *Oscillatoria (Trichodesmium):* Explanation for aerobic nitrogen fixation without heterocysts. Science 191: 1278-1280.

DUGDALE R.C., 1969: Biology and ecology of nitrogen. Nat. Acad. Sci. U.S., Washington, D.C.: 16-17.

FEIGE G.B., 1976: Untersuchungen zur Physiologie der Cephalodien der Flechte *Peltigera aphthosa* (L.) Willd. I. Die photosynthetische ^{14}C-Markierung der Lipidfraktion. Z. Pflanzenphysiol. 80: 377-385.

FOGG G.E., 1949: Growth and heterocyst production in *Anabaena cylindrica* Lemm. II. In relation to carbon and nitrogen metabolism. Ann. Bot. n.s. 13: 241-259.

FRITSCH F.E., 1951: The heterocyst: a botanical enigma. Proc. Linn. Soc. London 162: 194-211.

HILL D.J., 1975: The pattern of development of *Anabaena* in the *Azolla-Anabaena*-Symbiosis. Planta 122: 179-184.

HITCH C.J.B., MILLBANK J.W., 1975a: Nitrogen metabolism in lichens VI. New Phytol. 74: 473-476.

- , - 1975b: Nitrogen metabolism in lichens VII. New Phytol. 75: 239-244.

KULASOORIYA S.A., LANG N.J., FAY P., 1972: The heterocysts of blue-green algae III. Differentiation and nitrogenase activity. Proc. Roy. Soc. B. 131: 199-209.

KUTTIG U., 1976: Biochemische Aspekte der Heterocystendifferenzierung: glycosidierte Polyhydroxialkane und Polyhydroxifettsäurezuckerester. Dipl. Arbeit, Univ. Köln.

LAMBEIN F., WOLK C.P., 1973: Structural studies on the glycolipids from the envelope of the heterocyst of *Anabaena cylindrica*. Biochemistry 12: 791-798.

LANG N.J., FAY P., 1971: The heterocysts of blue-green algae. II. Details of ultrastructure. Proc. Roy. Soc. B. 178: 193-203.

MARTIN D.F., 1970: Marine chemistry II. (Dekker) New York.

NICHOLS B.W., WOOD B.J.B., 1968: New glycolipid specific to nitrogen fixing blue-green algae. Nature 217: 767-768.

RODGERS G.A., STEWART W.D.P., 1977: The Cyanophyte-Hepatic symbiosis. New. Phytol. 78: 441-458.

SILVESTER W.B., MCNAMARA P.J., 1975: The infection process and ultrastructure of the *Gunnera-Nostoc*-Symbiosis. New Phytol. 77: 135-141.

STEWART W.D.P., HAYSTEAD A., PEARSON H.W., 1969: Nitrogenase activity in heterocysts of blue-green algae. Nature 224: 226-228.

- 1970: Algal fixation of atmospheric nitrogen. Plant soil 32: 555-588.

WALSBY A.E., NICHOLS B.W., 1969: Lipid composition of heterocysts. Nature 221: 673-674.

WILCOX M., 1970: One-dimensional pattern found in blue-green algae. Nature 228: 686-687.

WINKENBACH F., WOLK C.P., JOST M., 1972: Lipids of membranes and of the cell envelope in heterocysts of a blue-green alga. Planta 107: 69-80.

Adressen

Priv.-Doz. Dr. Guido Benno Feige
Botanisches Institut der Universität
Gyrhofstr. 15

D-5000 Köln 41

Dr. Gabriele Aiko Ritschel
Botanisches Institut der Universität
Mittlerer Dallenbergweg 64

D-8700 Würzburg

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie

Jahr/Year: 1978

Band/Volume: 7_1978

Autor(en)/Author(s): Feige Guido Benno, Ritschel Gabriele

Artikel/Article: Physiologische Aspekte der Ökologie aquatischer Blaualgen 303-309