



Zwischenbericht Dezember 2011

Rebecca Störmer

rebecca.stoermer@awi.de; 04725 819-3233

Dr. Gunnar Gerdts

gunnar.gerds@awi.de; 04725 819-3245

Alfred Wegener Institut für Polar- und Meeresforschung,

Biologische Anstalt Helgoland, 27483 Helgoland



Inhalt

Abbildungsverzeichnis.....	4
Übersicht Teilprojekte.....	5
Analyse funktioneller Gene in bakteriellen Sedimentgemeinschaften im Bereich der Einbringungsstelle, Tonne E3 (Teilprojekt 1).....	5
Molekularbiologische Fingerprints bakterieller Sedimentgemeinschaften im Bereich der Einbringungsstelle, Tonne E3 (Teilprojekt 2).....	5
Molekularbiologische Fingerprints bakterieller Gemeinschaften im Bereich der Einbringungsstelle, Tonne E3: Baggergut und Wasserproben (Teilprojekt 3).....	6
Molekularbiologische Fingerprints bakterieller Sedimentgemeinschaften im Strandbereich Duhnen/Cuxhaven (Teilprojekt 4).....	6
Zusammenfassung.....	7
Bisher geleistete Arbeiten.....	8
Probenahmen.....	8
I. Monitoring Umlagerungsstelle E3 (Teilprojekt 2).....	9
III. Beprobung Elbmündung bei Cuxhaven (Teilprojekt 4).....	9
IV. Zusätzliche Beprobung der Deutschen Bucht (Teilprojekt 2).....	9
Analyse der Bakteriengemeinschaften.....	10
Probenaufbereitung.....	10
I. Monitoring Umlagerungsstelle E3 (Teilprojekt 2).....	10
II. Beprobung Elbe (Teilprojekt 3).....	11
III. Beprobung Elbmündung bei Cuxhaven (Teilprojekt 4).....	11
IV. Zusätzliche Beprobung der Deutschen Bucht.....	11
Ergebnisse.....	12
I. Monitoring Umlagerungsstelle E3 (Teilprojekt 2).....	12
III. Beprobung Elbmündung bei Cuxhaven (Teilprojekt 4).....	21
Fazit.....	23
Ausblick.....	24
Teilprojekt 1 und 2.....	24
Teilprojekt 3.....	24

Auswirkungen von Baggerguteinbringungen auf bakterielle Sedimentgemeinschaften der Deutschen Bucht



Teilprojekt 4.....	24
Anhang	25
Referenzen	32



Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Probennahme für mikrobiologische Untersuchungen	8
Abbildung 2 NMDS Plots der Bakteriengemeinschaften im August 2009 (A), April (B) und August (C) 2010.	13
Abbildung 3 NMDS Plot der Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle und der Referenz im August 2009 (A), April (B) und August (C) 2010.....	14
Abbildung 4 exemplarische DCA der biologischen Daten und retrospektive Projektion der kontextuellen Daten aus August 2009.....	16
Abbildung 5: Reundanzanalysen der Bakteriengemeinschaften des Untersuchungsgebietes im August 2009 (A), April (B) und August (C) 2010. Grün: Einbringstelle, Blau: direkte Umgebung, Gelb: Transekte, Rot: Referenz.	17
Abbildung 6 NMDS Plot der Bakteriengemeinschaften des Duhner Watts (grün) mit denen des Elbsestons (rot) und der Einbringstelle E3 (schwarz) aus 2009 (A), April 2010 (B) und August 2010 (C).....	22



Übersicht Teilprojekte

Analyse funktioneller Gene in bakteriellen Sedimentgemeinschaften im Bereich der Einbringungsstelle, Tonne E3 (Teilprojekt 1)

Hamburg Port Authority (HPA), Neuer Wandrahm 4, 20457 Hamburg

In Teilprojekt 1 wird untersucht, ob im Bereich der Baggergut-Einbringungsstelle gegenüber dem Außengebiet und dem Referenzgebiet (siehe Abbildung 2) unterschiedliche bakterielle Schadstoff-Abbau oder -Transformations-Gene (Quecksilber Reduktase, Cadmium-Transporter, verschiedene Oxygenasen und Dioxygenasen) nachweisbar sind.

Molekularbiologische Fingerprints bakterieller Sedimentgemeinschaften im Bereich der Einbringungsstelle, Tonne E3 (Teilprojekt 2)

Landesamt für Landwirtschaft, Umwelt und ländliche Räume des Landes Schleswig-Holstein (LLUR), Hamburger Chaussee 25, 24220 Flintbek

In Teilprojekt 2 wird untersucht, ob im Bereich der Baggergut-Einbringungsstelle gegenüber dem Außengebiet und dem Referenzgebiet (siehe Abbildung 2) unterschiedliche bakterielle Gemeinschaften nachweisbar sind. Ferner wird mittels multivariater statistischer Methoden geprüft, ob parallel erhobene physikalische und chemische Parameter Einfluss auf die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft ausüben.



Molekularbiologische Fingerprints bakterieller Gemeinschaften im Bereich der Einbringungsstelle, Tonne E3: Baggergut und Wasserproben (Teilprojekt 3)

Bundesanstalt für Gewässerkunde, Am Mainzer Tor 1, 56068 Koblenz

In Teilprojekt 3 wird die bakterielle Gemeinschaft des jeweiligen Baggergutes bei einzelnen Verklappungs-Kampagnen analysiert. Ferner werden während der Kampagnen Wasserproben hinsichtlich ihrer Bakteriengemeinschaft analysiert.

Mittels multivariater statistischer Methoden geprüft, ob parallel erhobene physikalische und chemische Parameter Einfluss auf die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft ausüben.

Molekularbiologische Fingerprints bakterieller Sedimentgemeinschaften im Strandbereich Duhnen/Cuxhaven (Teilprojekt 4)

Nds. Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz (NLWKN-BSt Norden-Norderney), An der Mühle 5, 26548 Norderney/Ostfriesland

In Teilprojekt 4 wird die bakterielle Gemeinschaft des verschlickenden Bereiches des Duhner Wattes sowie eines Sand- und Schlickwatt Referenzgebietes bei Cuxhaven analysiert. Mittels multivariater statistischer Methoden wird geprüft, ob Rückschlüsse auf die Herkunft des Schlickmaterials gezogen werden können.



Zusammenfassung

Im Zuge der Instandhaltungsmaßnahmen des Hamburger Hafens sind seit 2005 etwa 6 Mio m³ Baggergut in die Nordsee umgelagert worden. Diese Umlagerung von Elbsedimenten ist an die Einhaltung verschiedener Maßgaben gebunden, welche unter anderem ein regelmäßiges Monitoring der Umlagerungsstelle E3 vorschreiben. Das Monitoringprogramm umfasst Peilungen sowie Untersuchungen des Wasserkörpers, der Sedimente, der Schadstoffanreicherung in Organismen, des Makrozoobenthos und der Fischfauna.

Im August 2009 wurden erstmals Proben zur Untersuchung der benthischen Bakteriengemeinschaften in das Monitoring einbezogen. Diese sollen zeigen, ob und inwiefern sich die Gemeinschaften bedingt durch die Umlagerungsprozesse verändern. Die Analysen basieren auf einer molekularbiologischen Fingerprinttechnik, die ein Profil der bakteriellen Gemeinschaft generiert. In multivariaten Analysen wird das Profil einer Probe mit denen anderer Proben verglichen und ein Einfluss erhobener analytischer Daten auf die Bakteriengemeinschaften untersucht.

Auch 2011 wurden im Rahmen der von HPA organisierten Monitoring-Ausfahrten Proben für molekularbiologische Analysen im Umlagerungsgebiet entnommen.

Die Ergebnisse der Analysen aus 2009 und 2010 weisen auf einen Einfluss der Umlagerungen auf die Bakteriengemeinschaften hin. Nach der im Winter 2009/2010 stattgefundenen Verbringung konnten signifikante Veränderungen der Gemeinschaftsstruktur an der Einbringstelle beobachtet werden. Alle Redundanzanalysen wiesen auf einen starken Gradienten erzeugt durch die Negativkorrelation von sandigem Sediment bzw. organischen Schadstoffen zu schlickigem Sediment und positiv korrelierten chemischen Elementen (Schwefel, Stickstoff, Kohlenstoff, Phosphor) und Schwermetallen auf. Auch phylogenetische Analysen der Bakteriengemeinschaft zeigten Unterschiede zwischen Einbringstelle und Referenzgebiet. Es wurden nennenswerte Unterschiede in der Gruppe der sulfatreduzierenden Bakterien aufgezeigt. An der Einbringstelle wurden vermehrt schwefelreduzierende Bakteriengruppen detektiert, während alle anderen Standorte sulfatreduzierende Bakteriengruppen in größerer Anzahl aufwiesen. Die



Auswirkungen der Umlagerung lassen sich anhand der bisherigen mikrobiologischen Untersuchungen auf die Einbringstelle eingrenzen.

Ein Einfluss der Umlagerung auf die Verschlickung des Duhner Watts lässt sich aus mikrobiologischer Sicht ausschließen.

Bisher geleistete Arbeiten

Probenahmen

Flankierend zu den Probenahme-Kampagnen der HPA (siehe Jahresberichte HPA) werden zusätzlichen Probenahme-Kampagnen seitens der Biologischen Anstalt Helgoland (BAH) in der Deutschen Bucht realisiert.

Alle Sedimentproben werden mit einem Van Veen Greifer mit Klappen entnommen. Anschließend wird das Sediment homogenisiert. An jeder Station werden vier Unterproben in sterile Plastikgefäße abgefüllt. Dies erfolgt parallel zur Beprobung durch die HPA (Abbildung 1). Die Proben werden sofort gefroren und nach der Ausfahrt bei -70°C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert.

Die Wasserproben aus dem Elbmündung (IV) werden mit einem Schlauch in zwei 12l Gefäße abgefüllt und im Labor weiter verarbeitet.

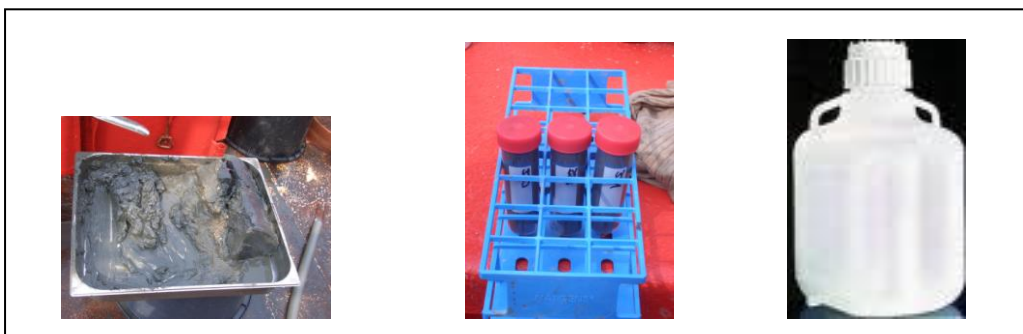


Abbildung 1 Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen

Links: Sediment vor der Probenentnahme; Mitte: Unterproben für mikrobiologische Untersuchungen; Rechts: Transportgefäße Wasserproben



I. Monitoring Umlagerungsstelle E3 (Teilprojekt 2)

In 2011 fanden die HPA Probenahme-Kampagnen im Umlagerungsgebiet in April und August statt. Bei beiden Kampagnen wurden Sedimentproben zur Analyse der Bakteriengemeinschaft an den 52 Stationen entnommen, an denen auch Sediment zur Schadstoffanalyse entnommen wurden (van Veen Greifer 0,1dm³).

III. Beprobung Elbmündung bei Cuxhaven (Teilprojekt 4)

Im Teilprojekt mit dem NLWKN sollen die Bakteriengemeinschaften am Duhner Watt mikrobiologisch analysiert werden.

Zu Beginn des Jahres wurde eine frische Schlickauflage im Duhner Watt beobachtet. Ab Januar 2011 wurden an vier Stellen des Duhner Watts (siehe Anhang) Sedimentproben entnommen. Zeitgleich wurde durch die BAH weiterhin die Elbmündung beprobt. Die Beprobung der Elbmündung soll Aufschluss über die Seston- Bakteriengemeinschaften in der Elbe-Trübungszone geben. Seston, definiert als partikuläres Material der Wassersäule, sinkt nach einer gewissen Zeit ab. Es ist daher denkbar, dass das Elb-Seston mit der Strömung zum Duhner Watt transportiert wird und sich ablagert. Deshalb sollen die Seston-Proben mit Schlickproben aus Duhnen und denen des Umlagerungsgebietes E3 verglichen werden.

Ende Februar 2010 hat die BAH begonnen, Wasserproben (ca 20l) aus der Elbmündung bei Cuxhaven zu entnehmen (Standort Probenahme siehe Anhang).

IV. Zusätzliche Beprobung der Deutschen Bucht (Teilprojekt 2)

Von September 2010 bis Juli 2011 wurden Proben zur Analyse der benthischen Bakteriengemeinschaften der Deutschen Bucht im Hinblick auf ihre jahreszeitliche Sukzession genommen. Hierbei werden an 16 Stationen mit einem van Veen Greifer (0,2dm³) Sedimentproben genommen. Diese wurden homogenisiert und in Unterproben sofort gefroren und bis zur weiteren Verarbeitung bei -70°C gelagert. (Karte siehe Anhang).



Analyse der Bakteriengemeinschaften

Zur Überprüfung, ob die natürlichen bakteriellen Benthosgemeinschaften der Deutschen Bucht im Umlagerungsgebiet bereits von der Einbringung der Elbsedimente beeinflusst sind, werden Profile der Bakteriengemeinschaften als Basis für umfangreichere Untersuchungen, z.B. Sequenzierungen, erstellt. Die Erstellung der Profile erfolgt mittels Fingerprintverfahren ARISA (*automated ribosomal intergenic spacer analysis*). Diese Methode nutzt das Vorkommen hoch variabler DNA-Sequenzen zwischen ribosomalen Genorten (*intergenic spacer*), deren Länge für jede Bakterienart spezifisch ist. Nachdem die DNA der im Sediment befindlichen Organismen extrahiert und aufgereinigt wurde, werden diese Sequenzen mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) vervielfältigt und anschließend in einem hochauflösenden Polyacrylamidgel separiert. Diese spezifischen Fingerabdrücke bzw. Profile der Bakteriengemeinschaften werden von allen Gebieten generiert und in statistischen Verfahren verglichen und auch in Zusammenhang gesetzt zu physikalischen und chemischen Parametern, die von der HPA aufgenommen werden.

Eine Übersicht über alle aufgearbeiteten Proben ist im Anhang ersichtlich.

Probenaufbereitung

I. Monitoring Umlagerungsstelle E3 (Teilprojekt 2)

Es wurde die DNA von neun repräsentativen Standorten für phylogenetische und funktionale Analysen aufbereitet.

Die Aufarbeitung der Probenahmekampagnen aus 2011 wurde begonnen. Aus allen 312 Proben wurde bereits die DNA isoliert. Die Amplifikation der DNA sowie die Erstellung der Profile und ihre anschließende statistische Auswertung stehen noch aus. Die Proben zur CHN Analyse wurden für April 2010 ebenfalls verarbeitet.



II. Beprobung Elbe (Teilprojekt 3)

Die Proben die 2010 im Köhlbrand entnommen wurden aufbereitet und Gemeinschaftsprofile erstellt.

III. Beprobung Elbmündung bei Cuxhaven (Teilprojekt 4)

Es wurden insgesamt 132 Sedimentproben im Duhner Watt entnommen und aufgearbeitet (DNA Isolierung und Amplifikation, Erstellung der Gemeinschaftsprofile).

Um partikuläres Material vom Rest der Wasserprobe zu trennen, wurden 12l des Elbwassers in einen Teflon Trichter (Zwischenbericht 2009) gefüllt. Innerhalb einer Stunde sedimentiert das partikuläre Material ab. Eine Wasserprobe wurde über einen 0,2µm Polycarbonat-Filter filtriert. Das Seston wurde mittels Zentrifugation aufkonzentriert.

Insgesamt wurden jeweils 7 Seston und 7 Wasserproben in 2011 genommen (Durchführung von DNA Extraktion, PCR, ARISA).

IV. Zusätzliche Beprobung der Deutschen Bucht

Die Aufarbeitung der etwa 500 Proben wurde begonnen. Die Analyse soll in 2012 abgeschlossen werden.



Ergebnisse

I. Monitoring Umlagerungsstelle E3 (Teilprojekt 2)

Probenahmekampagnen 2009 und 2010

Die Aufarbeitung der Proben sowie eine Darstellung erster Ergebnisse der Proben erfolgten bereits 2009 bzw. 2010 (siehe Zwischenbericht 2009 und 2010).

In den Abbildungen wurden die Proben in Gruppen zusammengefasst. Grün: Einbringstelle (Zentrum-1km); Blau: direkte Umgebung (1.5-3km Ringe); Gelb: Transekte (6km, 9km, 12km); Rot: Referenz.

Nichtmetrische Multidimensionale Skalierung

Die folgenden Analysen beziehen sich auf jeweils eine Unterprobe der jeweiligen Kampagne. Da die Ergebnisse der anderen Unterproben sehr ähnlich sind, wird auf ihre Darstellung verzichtet. Die Profile wurden qualitativ (Jaccard Index) ausgewertet. Die Diagramme bilden die Ähnlichkeit der Beprobungsstationen aufgrund ihrer Bakteriengemeinschaften ab.

Die Variabilität der Bakteriengemeinschaften war zu jeder Beprobungskampagne verschieden (Abbildung 2). Die größte Variabilität konnte in den Proben aus der Kampagne August 2009 ermittelt werden. Es wurden paarweise Vergleiche (ANOSIM) durchgeführt (siehe Anhang). 44% dieser Vergleiche zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Beprobungsregionen (Zentrum der Einbringstelle, Einbringstelle, 1km-Ring, 1.5km-Ring etc). Es konnten zudem signifikante Unterschiede in Gemeinschaften der gleichen Region (u.a. Referenz_1, Referenz_2) ermittelt werden. Diese Variabilität ging in den letzten beiden Kampagnen, April und August 2010 deutlich zurück (35%; 20%). Eine Erklärung für diese Entwicklung ist aufgrund der aktuellen Datenlage nicht eindeutig zu finden. In der deutschen Bucht wird häufig Oberflächensedimenttransport beobachtet (OSPAR 2000).



Möglicherweise werden geochemischen Bedingungen des Sedimentes verändert. Einhergehend mit sich verändernden Bakteriengemeinschaften. Auch saisonale Bedingungen könnten eine Erklärung für die Veränderungen sein. Es ist bereits bekannt, dass pelagische und auch benthische Bakteriengemeinschaften sehr stark von Temperatur und anderen jahreszeitlich bedingten Faktoren abhängen (Fuhrman et al 2006). In diesem Zusammenhang ist unsere Zusatzbeprobung, die wir in 2010 und 2011 in der deutschen Bucht monatlich durchgeführt haben wichtig (IV S.9 IV S.11).

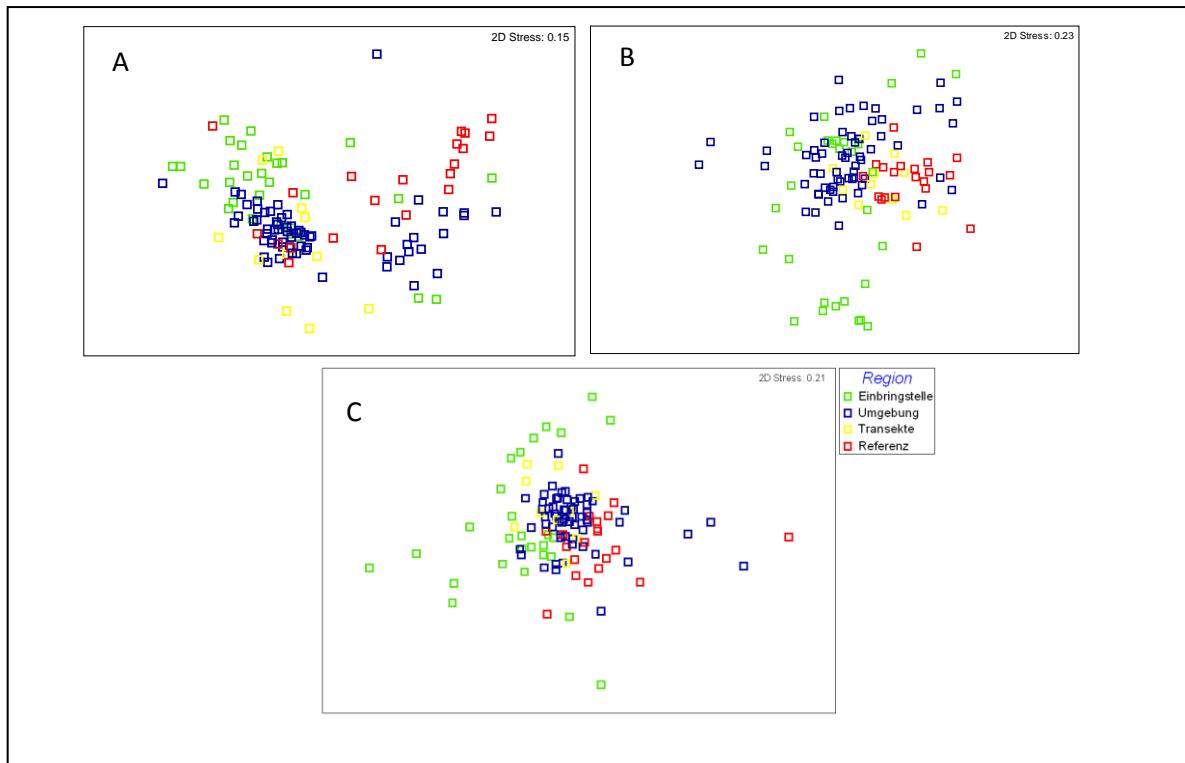


Abbildung 2 NMDS Plots der Bakteriengemeinschaften im August 2009 (A), April (B) und August (C) 2010

Bislang gibt es keine Informationen über die saisonale Sukzession benthischer Bakteriengemeinschaften der deutschen Bucht.

Im Vergleich der Bakteriengemeinschaften aus Einbringstelle und Referenz konnte gezeigt werden, dass diese Gemeinschaften in allen Beprobungen signifikant verschieden waren (Abbildung 3). Die Gemeinschaften der Einbringstelle wiesen im



August 2009 keine signifikanten Unterschiede auf (Abbildung 3A). Im April und August 2010 konnte eine Verschiebung in den Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle festgestellt werden (Abbildung 3B und C). Die Gemeinschaften des Zentrums und der restlichen Einbringstelle waren signifikant verschieden. Eine Erklärung für diese Entwicklung ist wahrscheinlich das im Winter 2009/2010 stattgefundenene Verbringen von Sedimenten. Es wurde bereits beobachtet (Findlay et al 1990), dass eine Störung des Ökosystems, wie beispielsweise ein Sedimenteintrag, zu fundamentalen Veränderungen innerhalb bakterieller Gemeinschaften führen kann.

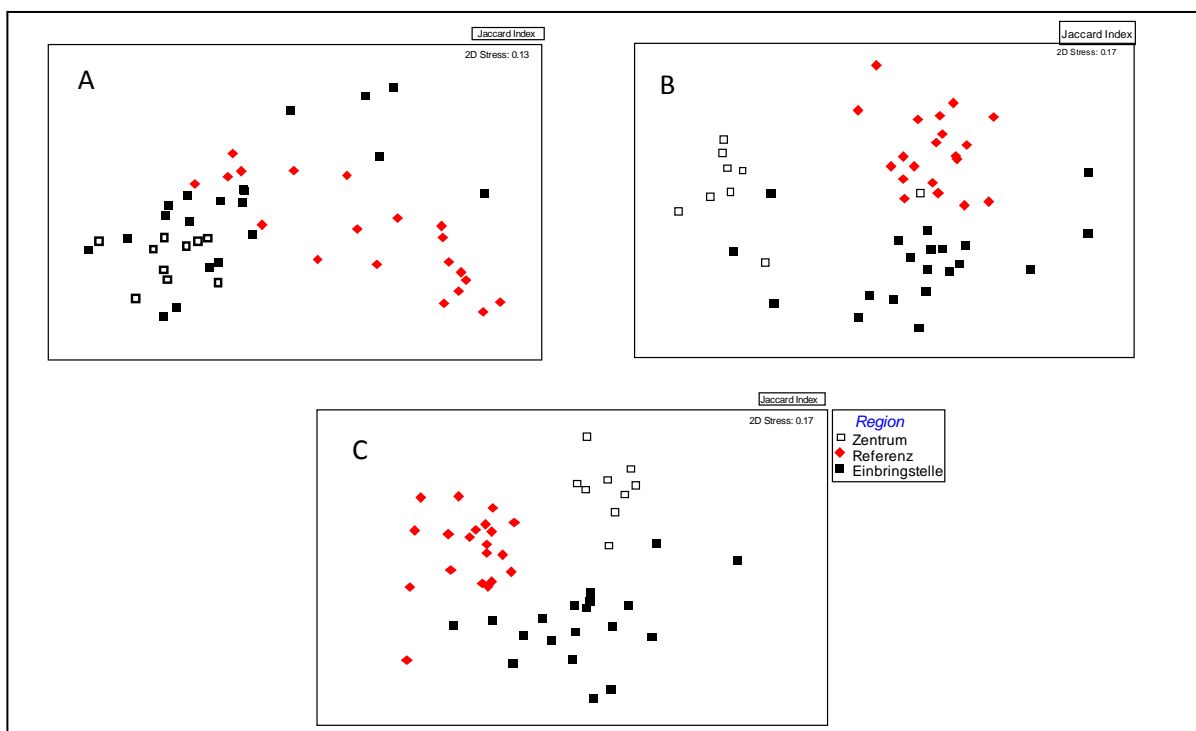


Abbildung 3 NMDS Plot der Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle und der Referenz im August 2009 (A), April (B) und August (C) 2010



Gradientenanalysen

Gradientenanalysen dienen dem Zweck mit Hilfe von kontextuellen oder Umwelt-Daten (hier: Schadstoffe und Korngrößen) Varianzen der biologischen Daten (Bakteriengemeinschaften) zu erklären. Die Daten werden in einem Koordinatensystem abgebildet. Die Achsen dieses Koordinatensystems werden durch die Umweltdaten erzeugt wobei jeder Parameter eine Achse bildet. Da dies bei der Aufnahme vieler Parameter viele Achsen bedeutet, hat sich die Ordination zum Ziel gesetzt diese Komplexität zu vereinfachen und auf zwei bis drei Achsen einzuschränken. Dazu werden mathematisch die wichtigsten Gradienten, auch Umweltdaten, extrahiert. Weshalb man dann von Gradientenanalysen spricht. Man unterscheidet zwischen indirekten und direkten Gradientenanalysen. Wobei erstere erst Unterschiede der biologischen Daten abbildet und erst im zweiten Schritt Umweltdaten mit einbeziehen, während die direkte Gradientenanalyse biologische Daten direkt in Verbindung mit den Umweltdaten abbildet. Biologische Daten verhalten sich entweder unimodal oder linear entlang eines Umweltgradienten. Korrespondenzanalysen werden auf unimodale Datensätze angewendet, während Hauptkomponentenanalysen auf lineare Datensätze angewandt werden. Das Verhalten (unimodal, linear) eines Datensatzes wird mit der sogenannten *detrended correspondance analysis* (DCA) überprüft. Dabei handelt es sich um eine Weiterentwicklung der *correspondance analysis* (CA), die von unimodalen Datensätzen ausgeht. Die erste Achse dieser Analyse wird dabei in Segmente unterteilt, die einen Datensatz entzerren sollen. Aus dieser Analyse kann ebenfalls die Länge der Gradienten, die den einzelnen Achsen zugewiesen werden abgelesen werden. Ein langer Gradient deutet auf einen sehr heterogenen Datensatz hin. In diesem Fall ist eine Korrespondenzanalyse zu wählen. Für kurze Umweltgradienten eine Hauptkomponentenanalyse, so wie es hier der Fall ist.

Zur weiteren Vereinfachung können die kontextuellen Daten im Vorfeld zusammengefasst werden. Die durch HPA zur Verfügung gestellten Daten wurden von uns gesichtet. Die ersten Redundanzanalysen (Zwischenbericht 2010) wiesen sehr starke Autokorrelationen zwischen einzelnen Faktoren auf. Um diese Korrelationen zu minimieren, bzw. Effekte zusammen zu fassen, wurden einzelne Schadstoffe nach Rücksprache mit HPA in Stoffgruppen eingeteilt (siehe Anhang). Basierend auf diesen Daten wurden die Gradientenanalysen erneut durchgeführt.



Für unsere Analysen wurden ausschließlich Daten die in der Gesamtfraktion bestimmt wurden genutzt.

Im Rahmen dieses Projektes ist eine Fraktionierung der Sedimente für mikrobiologische Gemeinschaftsanalysen nicht möglich. Darüber hinaus ist eine Korngrößenfraktionierung im Zusammenhang mit Bakteriengemeinschaftsanalysen unüblich (Cao et al 2006, Edlund & Jansson 2006, Vishnivetskaya et al 2011).

Abbildung 4 zeigt exemplarisch eine DCA der biologischen Daten (A) und die retrospektive Projektion der kontextuellen Daten (B). Die Grafiken geben Aufschluss über die biologischen bzw. kontextuellen Daten zueinander. Abbildung 4A zeigt die Bakteriengemeinschaften der einzelnen Beprobungsstationen. Es ist deutlich der Einfluss der ersten (horizontalen) Achse zu

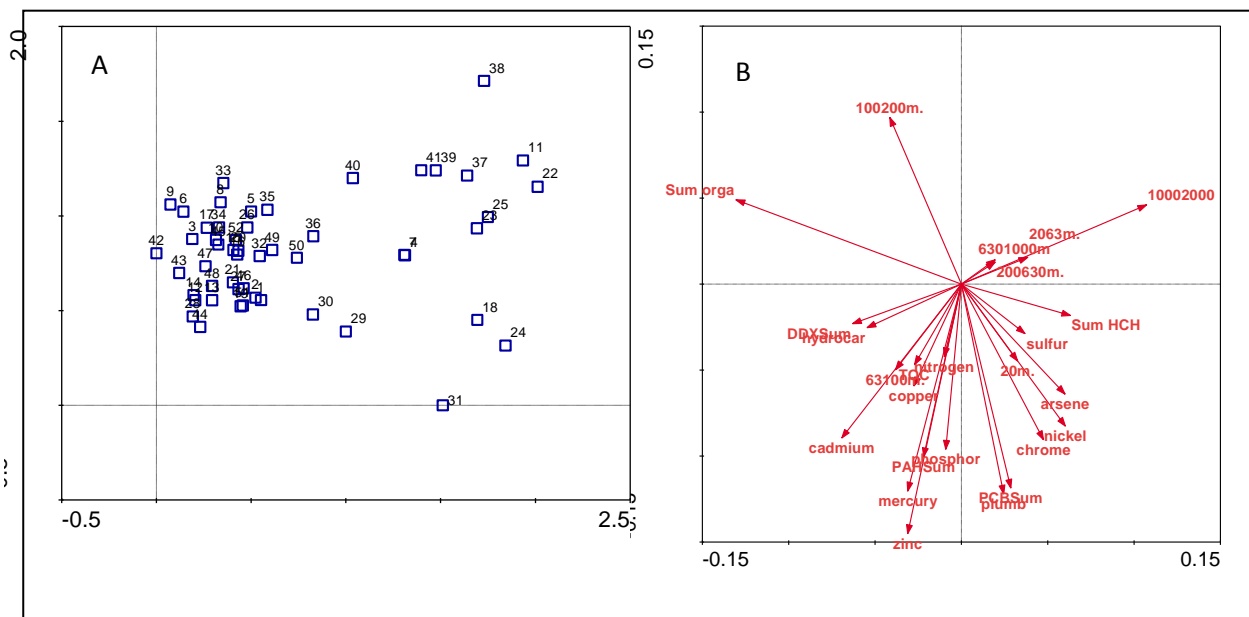


Abbildung 4 exemplarische DCA der biologischen Daten und retrospektive Projektion der kontextuellen Daten aus August 2009

erkennen. Abbildung 4B zeigt die kontextuellen Daten als Pfeile. Aus dieser Abbildung lässt sich das Verhalten der einzelnen Parameter zueinander ablesen. Pfeile die in die gleiche Richtung zeigen sind positiv zueinander korreliert, während Pfeile, die in entgegengesetzte Richtungen zeigen negativ zu einander korreliert sind. Sind Pfeile in einem Winkel von etwa 90° angeordnet sind diese nicht



miteinander korreliert. Die Pfeillänge deutet auf den Einfluss des Parameters hin. Aus Abbildung 4B lässt sich also unter anderem ableiten, dass Parameter wie Schwefel, Arsen, Nickel und auch die $< 20\mu\text{m}$ Feinfraktion positiv miteinander korreliert sind. Die Korngrößen $100\text{-}200\mu\text{m}$ sowie Organozinnverbindungen sind negativ zu diesen Parametern korreliert und zu sich selbst eher nicht korreliert. Es folgt die direkte Gradientenanalyse, hier Redundanzanalyse, die nun beide Datensätze miteinander verrechnet und abbildet.

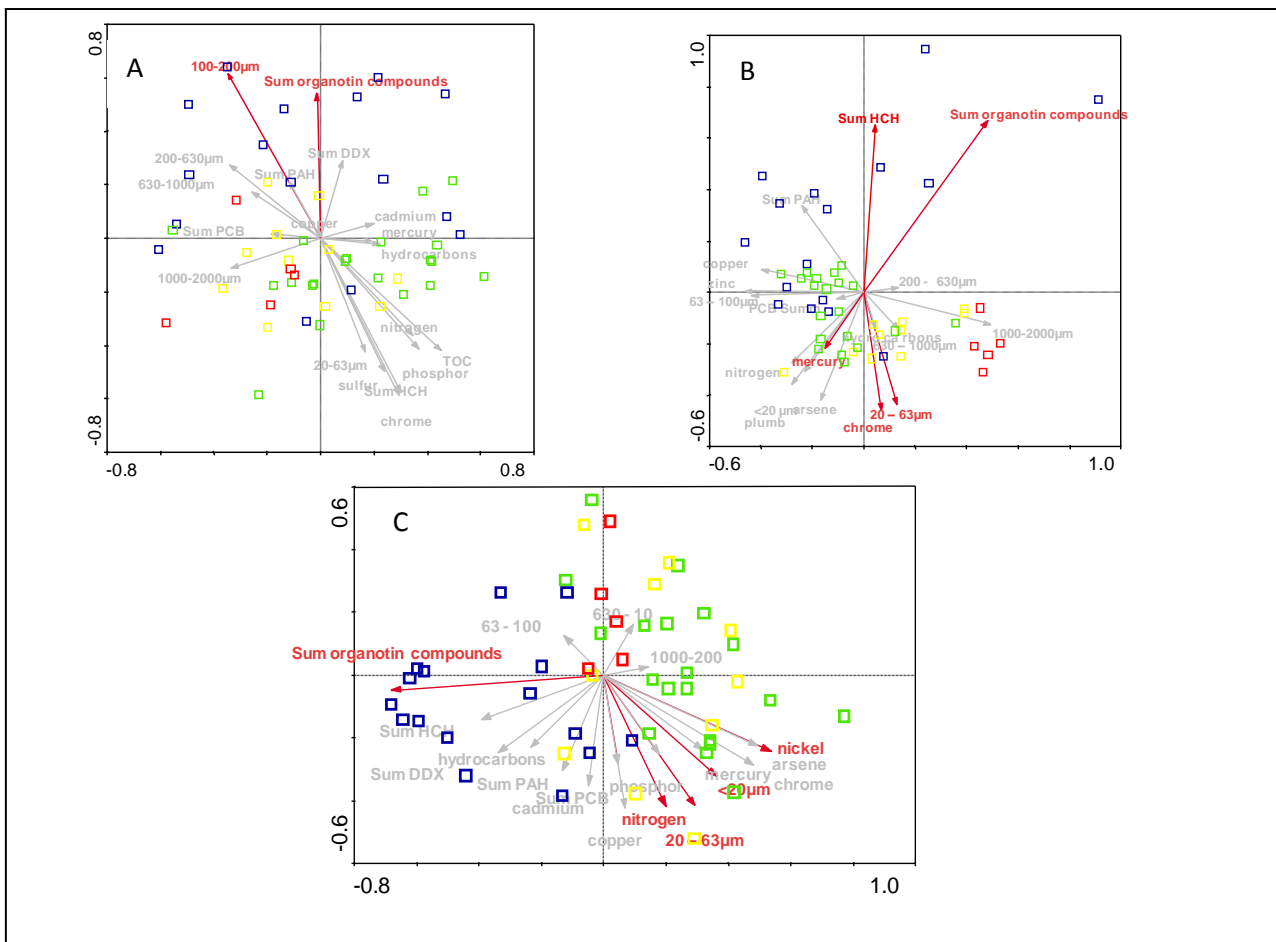


Abbildung 5: Redundanzanalysen der Bakteriengemeinschaften des Untersuchungsgebietes im August 2009 (A), April (B) und August (C) 2010. Grün: Einbringstelle, Blau: direkte Umgebung, Gelb: Transekte, Rot: Referenz.



Die erklärte Varianz der Redundanzanalysen variierte zwischen 44,1-45,5% der Gesamtvarianz, wobei die ersten zwei Achsen zwischen 14,6-17,2% erklärten. Diese relativ geringen Anteile erklärter Varianz werden auch von anderen Studien bestätigt (Cao et al 2006, Kostka et al 2011, Liu et al 2011, Vishnivetskaya et al 2011). Die Untersuchung komplexer Ökosysteme ist sehr häufig limitiert. Beispielsweise dadurch, dass in jeder Studie nur eine Auswahl an Umweltfaktoren aufgenommen werden kann.

Alle Redundanzanalysen waren von einem starken Gradienten, erzeugt von der Negativkorrelation zwischen Korngrößen (100-200µm) bzw. organischen Schadstoffen zu feinkörnigem Sediment korreliert zu „Nährstoffen“ (Stickstoff, Kohlenstoff, Phosphor, Schwefel) und Schwermetallen geprägt. Die Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle korrelierten mit der Korngrößenfraktion 100-200µm bzw. organischen Schadstoffen. Die anderen Bakteriengemeinschaften korrelierten eher mit anderen Faktoren (Abbildung 5). Die Struktur von bakteriellen Sedimentgemeinschaften ist sehr stark von sediment-geologischen Gegebenheiten abhängig. Vor allem Faktoren wie Korngrößenverteilungen und mit ihnen in Verbindung stehenden Faktoren wie Nährstoffe spielen eine entscheidende Rolle. Sandige Sedimente sind nährstoffärmer und bieten damit einen anderen Lebensraum als schlickige, nährstoffreichere Sedimente. Die beobachteten Unterschiede könnten daher durch unterschiedliche geochemischen Bedingungen des Gebietes zu erklären sein. Allerdings wurden auch in allen Redundanzanalysen organische Schadstoffe als signifikant ausgewiesen. Dieses Ergebnis zeigt an, dass ein starker Gradient, bezogen auf Korngrößenverteilungen und Schadstoffe, im Untersuchungsgebiet vorherrscht. Außerdem konnten wir feststellen, dass Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle eher mit sandigem Sediment und Schadstoffen korrelierten. Die Analyse lässt an dieser Stelle keine Möglichkeit über Aussagen von kausalen Zusammenhängen zwischen dem Ausbilden der Bakteriengemeinschaften und beispielsweise Schadstoffen zu. Lediglich die Aussage, dass bestimmte Bakteriengemeinschaften im Einbringgebiet mit den für dieses Gebiet charakteristischen Faktoren korrelieren, kann getroffen werden.

Dieser Sachverhalt kann nur anhand von kontrollierten Experimenten näher untersucht werden. So wurde in anderen Studien bereits der Einfluss von Kohlenwasserstoffen untersucht und eine Veränderung in den Bakteriengemeinschaften ermittelt (Kniemeyer et al 2007, Perez-Jimenez & Kerkhof



2005, Suarez-Suarez et al 2011). Über die Einflussnahme von Organozinnverbindungen auf Bakteriengemeinschaften ist, nach unserer Kenntnis, noch nichts bekannt.

Phylogenetische Analysen

Die Sequenzanalysen ausgewählter Proben des hochvariablen Datensatz aus August 2009 stellten Unterschiede der Bakteriengemeinschaftsstruktur und Zusammensetzung auf höheren taxonomischen Ebenen heraus.

Als dominante Gruppen aller Proben konnten *Proteobakterien* sowie *Bacteroidetes* identifiziert werden. Wie für marine Sedimente typisch, wurden die *Proteobakterien* von *Delta-* sowie *Gammaproteobakterien* beherrscht. Die Probe, die aus dem Köhlbrand stammte, wies zudem noch einen relativ hohen Anteil an *Betaproteobakterien* auf.

Die Einbringstelle wies einen höheren relativen Anteil von *Flavobacterales* (Bacteroidetes) und *Alteromonadales* (*Gammaproteobakterien*) auf. Wobei die Familie der *Flavobacterales* wiederum in 18 unterschiedliche Gattungen unterteilt war, während die *Alteromonadales* von der Gattung *Haliea* dominiert wurde.

Die *Deltaproteobakterien* wurden von den Ordnungen *Desulfobacterales* und *Desulfuromonadales* dominiert. Im Vergleich von Einbringstelle zu Referenzgebiet konnten prozentuale Unterschiede festgestellt werden. Während das Referenzgebiet und alle anderen marinen Proben von *Desulfobacterales* dominiert wurden (70%) konnten an der Einbringstelle gleiche Anteile (40-50%) beider Gruppen verzeichnet werden. Auf Familienebene zeichnete sich die Verschiebung innerhalb der Gruppen der *Desulfuromonadaceae* und *Desulfobacteraceae* ab. Erstere konnten vermehrt an der Einbringstelle nachgewiesen werden. Während die *Desulfobacteraceae* alle anderen Proben dominierten.

Die Klasse der *Deltaproteobakterien* beinhaltet viele Organismen die Schlüsselrollen in der Nährstoffbereitstellung unter anoxischen Bedingungen spielen. Der Unterschied der oben genannten Familien besteht unter anderem im Stoffwechsel. *Desulfobacteraceae* sind dazu in der Lage Sulfat umzusetzen, während



Desulfuromonadaceae auch elementaren Schwefel umsetzen können. Der Gehalt von elementarem Schwefel ist an der Einbringstelle deutlich geringer als im restlichen Umlagerungsgebiet. Aus den Daten von HPA kann der Gehalt an Nährstoffen nicht ohne weiteres abgeleitet werden, da lediglich chemische Elemente dokumentiert wurden. Es ist allerdings bekannt, dass sich Schwefelreduzierer auch andere Elemente wie Eisen oder Mangan zu nutzen machen können. Darüber hinaus wurden sie in den letzten Jahren vermehrt in Verbindung von Kohlenwasserstoffabbau genannt (Perez-Jimenez & Kerkhof 2005, Suarez-Suarez et al 2011). In Mesoksomen wurde diese Gruppe, sowie die *Desulfobacteraceae* polyaromatischen Kohlenwasserstoffen und Öl ausgesetzt. Daraus folgte, dass unter anderem schwefelreduzierende Gruppen wie die Familie der *Desulfuromonadaceae* diese Szenarien dominierten (Suarez-Suarez et al 2011).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Bakteriengemeinschaften des Umlagerungsgebietes eine große Variabilität aufweisen. Allerdings konnten signifikant verschiedene Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle im Vergleich zum Referenzgebiet in allen drei Kampagnen festgestellt werden. Die Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle korrelieren eher mit sandigem Sediment und organischen Schadstoffen. Der kausale Zusammenhang kann mittels dieser Analyse jedoch nicht eindeutig geklärt werden. Desweiteren wurde eine Verschiebung in der Bakteriengemeinschaft an der Einbringstelle nach dem Verbringen von Elbsedimenten festgestellt. Phylogenetische Untersuchungen der Kampagne aus 2009 ergaben, dass es eine Verschiebung innerhalb der Gruppe der sulfatreduzierenden Bakterien (*Desulfuromonadaceae*, *Desulobacteraceae*) gab.



III. Beprobung Elbmündung bei Cuxhaven (Teilprojekt 4)

Zur Klärung der Herkunft der Schlickauflage im Duhner Watt wurden in den folgenden Analysen Profile der Bakteriengemeinschaften des Duhner Watts, dem Elbseston bzw. der Einbringstelle E3 berücksichtigt. Abbildung 6 stellt die Bakteriengemeinschaften aus Duhnen (2011), Elbe (2010/2011) sowie der Einbringstelle E3 (2009, 2010) dar. Ein Vergleich der Bakteriengemeinschaften der Einbringstelle aus 2011 steht noch aus und wird im Endbericht präsentiert.

Die paarweisen Signifikanztests zwischen Proben aus dem Duhner Watt, des Elbsestons und der Einbringstelle ergaben für alle drei Datensätze signifikante Unterschiede zwischen den Bakteriengemeinschaften im Duhner Watt zu denen der Einbringstelle E3 (Abbildung 6). Die Abbildung zeigt, dass die Bakteriengemeinschaften aus den Sestonproben der Elbe eine Art „Zwischengemeinschaft“ bilden.

Unsere bisherigen Analysen legen nahe, dass die Verschlickung in Duhnen im Hinblick auf die Zusammensetzung der Bakteriengemeinschaft nicht in Zusammenhang mit der Verbringung von Elbsedimenten gebracht werden kann. Studien die die Ausbildung von Bakteriengemeinschaften untersuchen, kommen zu dem Schluss, dass ähnliche Umweltbedingungen ähnliche Bakteriengemeinschaften bedingen (Fuhrman et al 2006). Anhand dieser Theorie kann man in diesem Fall einen Einfluss von an Tonne E3 verbrachtem Material auf die Ausbildung der Bakteriengemeinschaften im Duhner Watt mit hoher Wahrscheinlichkeit ausschließen. Allerdings fehlt der abschließende Vergleich mit Proben der Einbringstelle die im Jahr 2011 entnommen wurden. Es ist nicht auszuschließen, dass die errechneten signifikanten Unterschiede auf unterschiedlichen Bedingungen der Beprobungsjahren zurückzuführen sind.

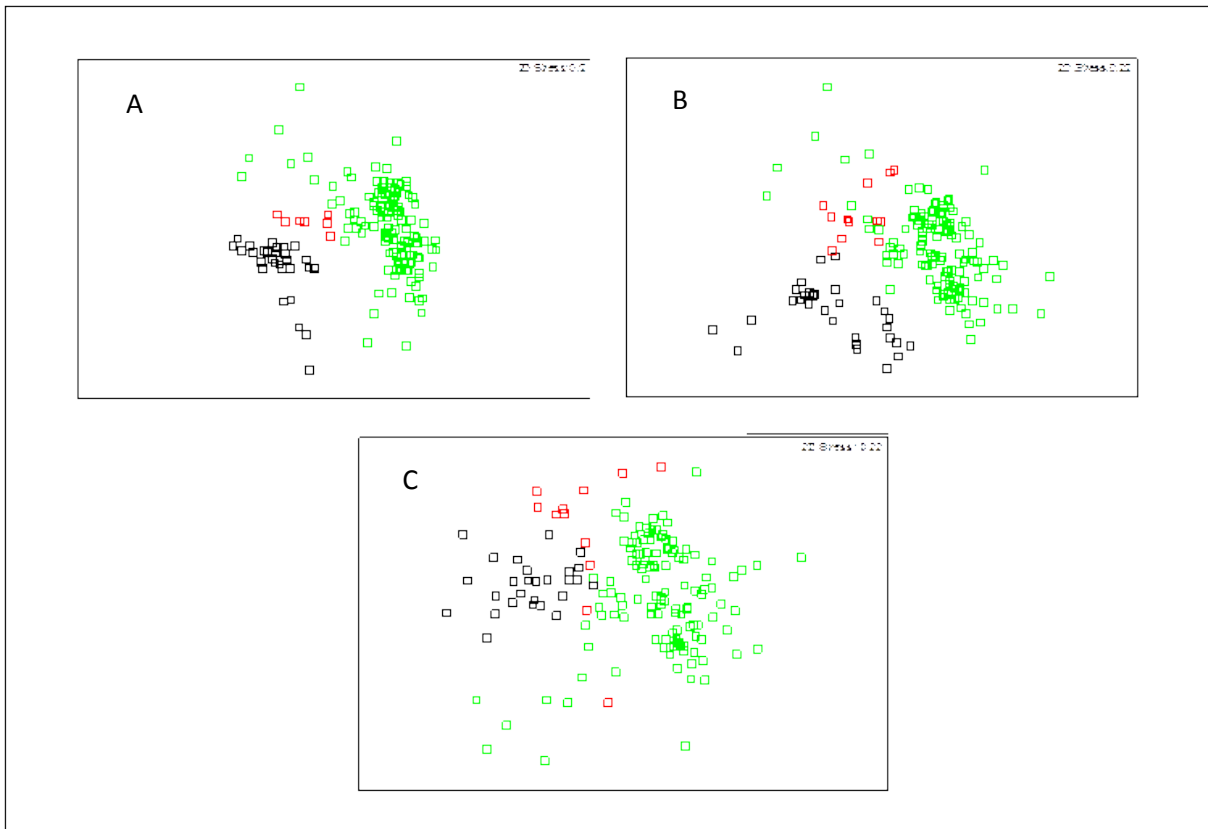


Abbildung 6 NMDS Plot der Bakteriengemeinschaften des Duhner Watts (grün) mit denen des Elbsestons (rot) und der Einbringstelle E3 (schwarz) aus 2009 (A), April 2010 (B) und August 2010 (C).



Fazit

Die bakteriellen Gemeinschaften im Umlagerungsgebiet stehen unter dem Einfluss der Umlagerung. Die geochemischen Bedingungen resultieren in unterschiedlichen Bakteriengemeinschaften. Mutmaßlich sind Korngrößenverteilungen sowie Nährstoffverfügbarkeit, aber auch die Einwirkung von Schadstoffen an dieser Entwicklung beteiligt. Hier wären experimentelle Ansätze zur Abschätzung nötig. Die phylogenetische Analyse machte eine Verschiebung in der Gruppe der sulfatreduzierenden Bakterien an der Einbringstelle im Vergleich zu allen anderen marinen Stationen deutlich. Das vermehrte Auftreten von Bakterienfamilien, die Schwefel sowie andere Elemente, aber auch organische Schadstoffe verwerten können und das Fehlen sulfatreduzierender Gruppen, unterstreichen unsere bisherigen Ergebnisse. An der Einbringstelle sind somit Veränderungen innerhalb basaler Organismen, eventuell auch ihrer Funktionalität in der Nahrungskette, zu beobachten. Die Auswirkung ist zu diesem Zeitpunkt nicht abschätzbar, aber einzig auf die Einbringstelle begrenzt. Die Analyse der genetischen Funktionalität dieser Standorte wird hier eventuell nähere Informationen liefern können.

Die Einwirkung der Verbringung auf die Verschlickung des Duhner Watts kann molekularbiologisch nicht bestätigt werden. Die Bakteriengemeinschaften des Duhner Watts sind signifikant verschieden zu denen der Einbringstelle. Eine eventuelle Ursache ist aus molekularbiologischer Sicht eher mit dem partikulären Material (Seston) der Elbe zu sehen.



Ausblick

Teilprojekt 1 und 2

2012 werden die Analysen (NMDS, Redundanzanalyse) der Probenahmekampagnen aus 2011 durchgeführt.

Die Daten der funktionellen Genanalyse ausgewählter Proben aus August 2009 werden abschließend ausgewertet.

Teilprojekt 3

Aufgrund nicht stattgefundener Verbringungsaktivitäten in 2011 sind auch für 2012 keine Experimente mit eingebrachtem Elbsediment geplant.

Teilprojekt 4

Der Vergleich der Bakteriengemeinschaften des Duhner Watt mit Proben der Einbringstelle aus 2011 wird abgeschlossen. Eventuell werden noch Redundanzanalysen mit korrespondierenden geochemischen Parametern, die durch die BfG in Duhnen erhoben wurden durchgeführt.



Anhang

Gesamtübersicht bearbeitete Proben

Kampagne	HPA Kampagne April 2011	HPA Kampagne August 2011	BAH Zusatzkampagne
Anwendung			
DNA Extraktion	156	156	480
DNA Amplifikation			
ARISA Profile			
CHN Messungen			166
Kampagne	Duhnen 2011	Beprobung Elbmündung 2011	
Anwendung			
DNA Extraktion	122	14	
DNA Amplifikation	120	7	
ARISA Profile	120	7	
CHN Messungen			

Auswirkungen von Baggerguteinbringungen auf bakterielle Sedimentgemeinschaften der Deutschen Bucht



Paarweise Vergleiche der Beprobungsregionen (ANOSIM). Signifikante Werte fett gedruckt ($p < 0.05$)

Region	duming site	2km_1	2km_2	3km_1	3km_2	6km	9km	12km	reference_1	reference_2	centre	1km	1.5km
August 2009													
duming site													
2km_1	0.0480												
2km_2	0.3691	0.9994											
3km_1	0.0311	0.1616	0.6693										
3km_2	0.5462	0.9992	0.4797	0.8295									
6km	0.0780	0.6021	0.8213	0.1018	0.9652								
9km	0.0096	0.6733	0.7760	0.1648	0.9063	0.1120							
12km	-0.1900	0.9527	1.0000	0.2760	1.0000	0.2800	-0.0400						
reference_1	0.6249	0.9353	0.6395	0.8393	0.5616	0.9047	0.8252	0.9388					
reference_2	-0.0435	0.2370	0.9870	-0.0710	0.9978	0.2347	0.2907	0.9556	0.8881				
centre	0.0151	0.8689	1.0000	0.4721	1.0000	0.7902	0.7545	0.3178	0.9732	0.8817			
1km	-0.3150	0.2205	1.0000	-0.1640	1.0000	0.0812	0.1500	0.9167	0.8671	0.3095	0.3574		
1.5km	0.1942	0.0816	0.9087	0.2876	0.9613	0.5385	0.4796	0.8111	0.9082	0.2856	0.7828	0.1496	
April 2010													
dumping site													
2km	0.1639												
3km	0.2520	0.2564											
6km	0.1232	0.3969		-0.1140									
9km	0.1443	0.5086		0.1584		0.1980							
12km	0.2529	0.5229		0.0061		-0.0400	-0.2400						
reference	0.4974	0.5484		0.3365		0.1208	0.3640	-0.2579					
centre	0.6052	0.8636		0.5360		0.7324	0.8036	0.7956	0.7996				
1km	0.0288	0.3408		-0.1469		0.3231	0.1692	0.3333	0.3880		0.6118		
1.5km	0.2839	0.3013		0.0548		0.1240	0.3656	0.3244	0.3644		0.7249	0.0084	
August 2010													
dumping site													
2km	0.2255												
3km	0.1986	0.0395											
6km	0.0598	-0.0440		-0.0922									
9km	0.1723	0.0833		-0.0041		0.1385							
12km	0.2240	0.4009		0.2270		0.5818	-0.0833						
reference	0.4108	0.2073		0.1830		0.2000	0.2792	0.5726					
centre	0.5080	0.8016		0.4771		0.8520	0.6747	0.3836	0.7316				
1km	0.2134	0.0774		-0.0080		0.4500	0.2037	0.6071	0.1345		0.6553		
1.5km	0.4641	0.1008		0.1898		0.4620	0.4012	0.7812	0.3774		0.9267	0.2618	



Stoffgruppen nach Absprache mit HPA

grain size fractions

< 20µm
20-63µm
63-100µm
100-200µm
200-630µm
630-1000µm
1000-2000µm

S, N, P, C

TOC (C)
nitrogen (N)
sulfur (S)
phosphor (P)

Hydrocarbons

Sum Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)

naphthaline
fluorene
phenanthrene
anthracene
fluoranthene
pyrene
benz(a)anthracene
chrysene
benzo(b)fluoranthene
benzo(k)fluoranthene
benzo(a)pyrene
dibenz(ah)anthracene
benzo(ghi)perylene
indeno(1.2.3cd)pyrene

Sum Chlorinated Diphenyls (PCB)

PCB28
PCB52
PCB101
PCB118
PCB138
PCB153
PCB180

Sum Hexachlorocyclohexane (HCH)

alphaHCH
betaHCH
gammaHCH
deltaHCH

Sum Dichlorodiphenyldichloroethane (DDT) and metabolites

ppDDE
opDDD
ppDDD
opDDT
ppDDT

Sum Organotin Compounds

monobutyltin (MBT)
dibutyltin (DBT)
tributyltin (TBT)
tetrabutyltin

Heavy Metals

arsene
plumb
cadmium
chrome
copper
nickel
mercury
zinc



Übersicht Probennahmestandorte Duhnen



Probe Schlickgebiet (2) Jan2011



Probe Referenz (R) Jan2011

Auswirkungen von Baggerguteinbringungen auf bakterielle Sedimentgemeinschaften der Deutschen Bucht



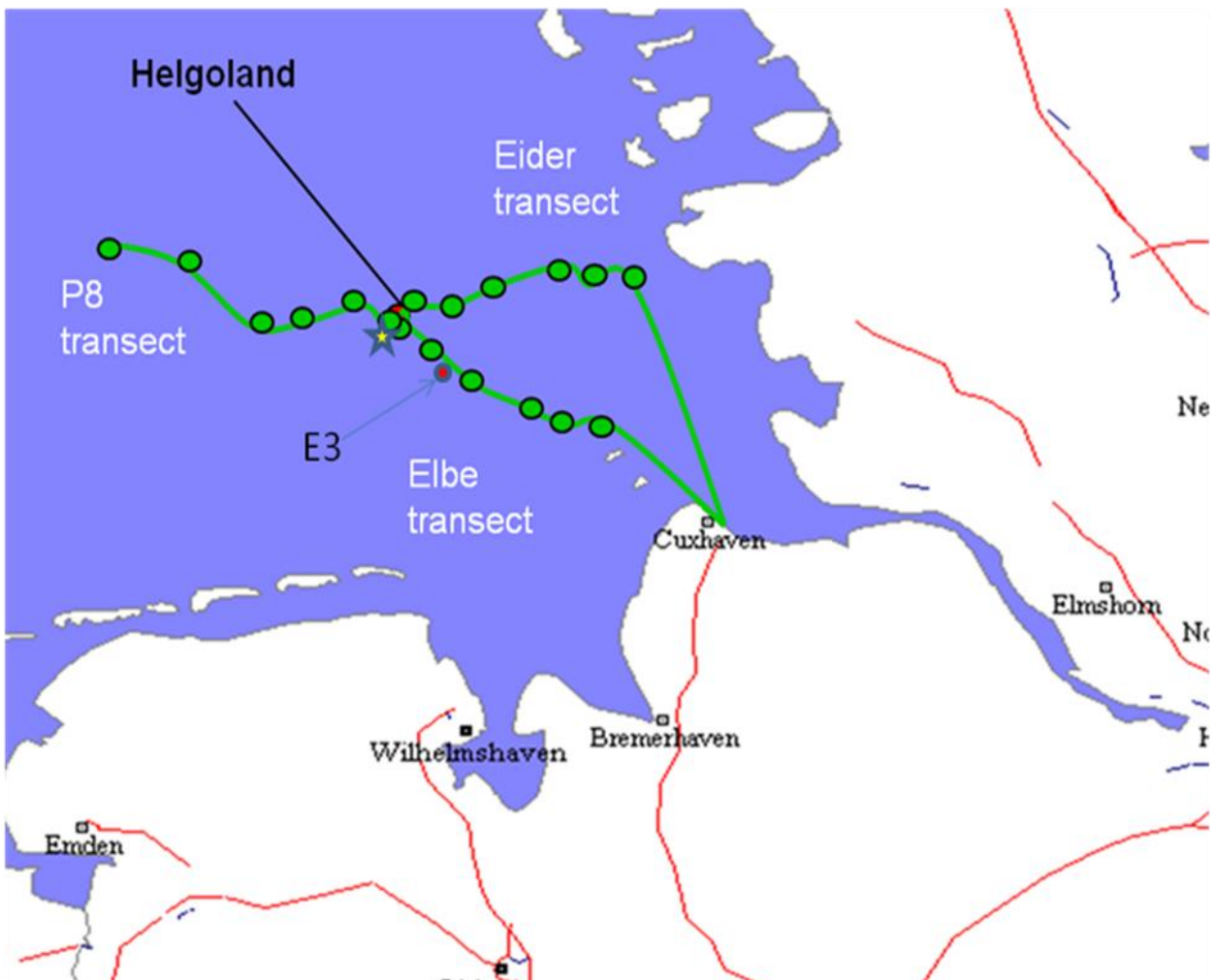
Standort Wasserprobe Elbmündung bei Cuxhaven und Teflontrichter





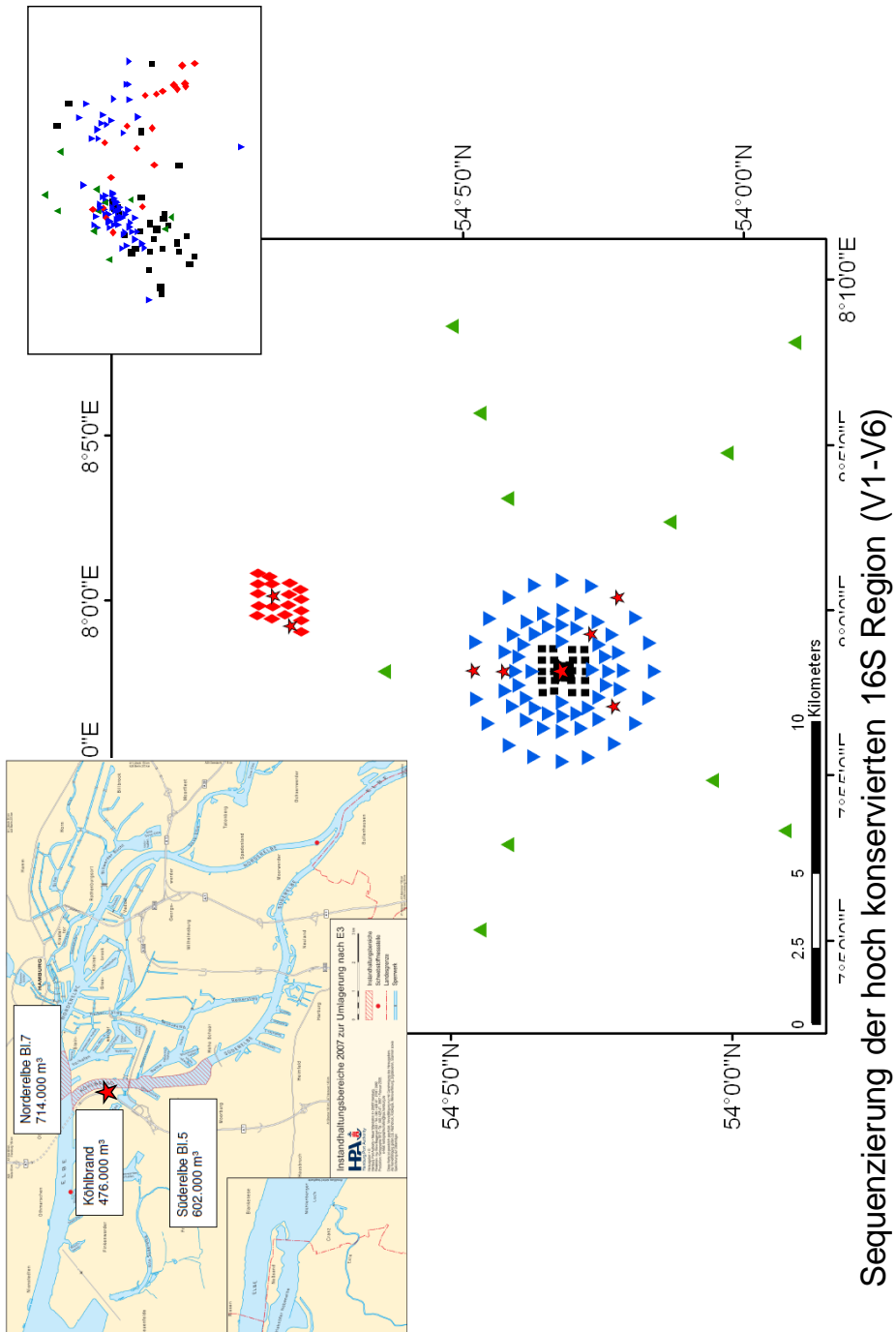
Übersicht Transekte der BAH Schnitffahrten

★ Stationen P8 I und Elbe I können nicht beprobt werden





Standorte repräsentativer Proben für die Sequenzanalyse





Referenzen

- Cao Y, Cherr GN, Cordova-Kreylos AL, Fan TWM, Green PG, et al. 2006. Relationships between sediment microbial communities and pollutants in two California salt marshes. *Microbial Ecology* 52: 619-33
- Edlund A, Jansson JK. 2006. Changes in active bacterial communities before and after dredging of highly polluted Baltic Sea sediments. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 6800-07
- Findlay RH, Trexler MB, Guckert JB, White DC. 1990. LABORATORY STUDY OF DISTURBANCE IN MARINE-SEDIMENTS - RESPONSE OF A MICROBIAL COMMUNITY. *Marine Ecology-Progress Series* 62: 121-33
- Fuhrman JA, Hewson I, Schwalbach MS, Steele JA, Brown MV, Naeem S. 2006. Annually reoccurring bacterial communities are predictable from ocean conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 13104-09
- Kniemeyer O, Musat F, Sievert SM, Knittel K, Wilkes H, et al. 2007. Anaerobic oxidation of short-chain hydrocarbons by marine sulphate-reducing bacteria. *Nature* 449: 898-U10
- Kostka JE, Prakash O, Overholt WA, Green SJ, Freyer G, et al. 2011. Hydrocarbon-Degrading Bacteria and the Bacterial Community Response in Gulf of Mexico Beach Sands Impacted by the Deepwater Horizon Oil Spill. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 7962-74
- Liu X, Xiao T, Luan QS, Zhang WY, Wang MQ, Yue HD. 2011. Bacterial diversity, composition and temporal-spatial variation in the sediment of Jiaozhou Bay, China. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 29: 576-90
- OSPAR 2000. Quality Status Report.
- Perez-Jimenez JR, Kerkhof LJ. 2005. Phylogeography of sulfate-reducing bacteria among disturbed sediments, disclosed by analysis of the dissimilatory sulfite reductase genes (*dsrAB*). *Applied and Environmental Microbiology* 71: 1004-11
- Suarez-Suarez A, Lopez-Lopez A, Tovar-Sanchez A, Yarza P, Orfila A, et al. 2011. Response of sulfate-reducing bacteria to an artificial oil-spill in a coastal marine sediment. *Environmental Microbiology* 13: 1488-99
- Vishnivetskaya TA, Mosher JJ, Palumbo AV, Yang ZK, Podar M, et al. 2011. Mercury and Other Heavy Metals Influence Bacterial Community Structure in Contaminated Tennessee Streams. *Applied and Environmental Microbiology* 77: 302-11