

Universität Oldenburg

Studiengang Diplom – marine Umweltwissenschaften

Diplomarbeit

# **Nanostrukturen im Aufbau von Diatomeenschalen**

–

## **Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Arten *Fragilariopsis kerguelensis* und *Thalassiothrix antarctica***

vorgelegt von: Jessica von Einem

Betreuender Gutachter: Dr. Erhard Rhiel

Zweite Gutachterin: Prof. Dr. Angela Köhler-Günther

Oldenburg, den 09.06.2006



# Inhalt

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. Einleitung.....</b>                                       | <b>1</b>  |
| 1.1. Grundlagen der Materialwissenschaften.....                 | 5         |
| 1.1.1. <i>Mechanische Eigenschaften von Materialien.....</i>    | <i>5</i>  |
| 1.1.2. <i>Verteilung von Belastungen in Körpern.....</i>        | <i>7</i>  |
| 1.1.3. <i>Die Finite Elemente-Methode.....</i>                  | <i>8</i>  |
| 1.2. Untersuchungsorganismen – Diatomeen.....                   | 10        |
| 1.2.1. <i>Allgemeines zu Diatomeen .....</i>                    | <i>10</i> |
| 1.2.2. <i>Die Diatomeenart Fragilariopsis kerguelensis.....</i> | <i>11</i> |
| 1.2.3. <i>Die Diatomeenart Thalassiothrix antarctica.....</i>   | <i>12</i> |
| <br>  |           |
| <b>2. Material und Methoden.....</b>                            | <b>13</b> |
| 2.1. Probenmaterial.....  | 13        |
| 2.2. Rasterelektronenmikroskopie.....                           | 13        |
| 2.3. Transmissionselektronenmikroskopie.....                    | 14        |
| <br>  |           |
| <b>3. Ergebnisse.....</b>                                       | <b>17</b> |
| 3.1. Rasterelektronenmikroskopie.....                           | 17        |
| 3.2. Transmissionselektronenmikroskopie.....                    | 18        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4. Diskussion.....</b>  | <b>33</b> |
| 4.1. Rasterelektronenmikroskopie.....  | 33        |
| 4.2. Transmissionselektronenmikroskopie.....                                     | 36        |
| 4.3. Betrachtung der Arten <i>F. kerguelensis</i> und <i>T. antarctica</i> ..... | 42        |
| 4.4. Schlussfolgerungen.....   | 46        |
| <br>   |           |
| <b>5. Zusammenfassung.....</b>   | <b>47</b> |
| <br>   |           |
| <b>6. Literatur.....</b>   | <b>49</b> |

## 1. Einleitung

Diatomeen (Bacillariophyta) sind eukaryotische, einzellige Algen, die in nahezu allen Gewässern vorkommen. Silikat ist für sie ein limitierender Nährstoff, da es zum Aufbau einer artspezifischen Schale benötigt wird (Round et al. 1990). Die Diatomeen sind die artenreichste und produktivste Gruppe des Phytoplanktons und stellen dementsprechend eine wichtige Nahrungsquelle für zahlreiche Organismen wie Copepoden, Krill oder Salpen dar (Smetacek et al. 2004).

Der Artenreichtum der Kieselalgen ist enorm, Schätzungen zu Folge gibt es bis zu  $2 \times 10^5$  rezente Arten (Mann & Droop 1996). Sie weisen dabei ein beeindruckendes Spektrum an unterschiedlichsten Formen (z.B. nadelförmig, schiffsförmig, zylindrisch oder dreieckig) und Strukturen wie Poren, Rippen oder Waben auf (Abb. 1).

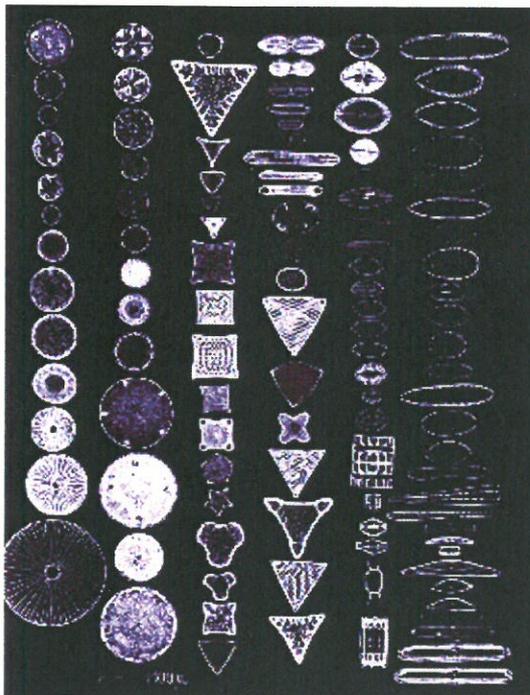


Abb. 1: Lichtmikroskopische Aufnahme von Diatomeen mit unterschiedlichen Formen und Strukturen

Die Diatomeenschalen bestehen zu mehr als 97% aus anorganischem Material, d.h. Silikat mit Spuren von Aluminium und Eisen, und zu einem sehr geringen Anteil aus organischem Material (Noll et al. 2002). Dabei handelt es sich um Polypeptide, die bei der Ausfällung des Silikats zur Bildung der Zellwand eine wichtige Rolle spielen (Kröger et al. 1999). Vrieling et al. (2000) zeigten mittels Weitwinkelröntgendiffraktometrie, dass die Diatomeenschalen aus amorphem Material bestehen und bestätigten damit die Ergebnisse früherer Arbeiten (z.B. Kamatani 1971).

Die Verwendung von Silikat als Material für die Schale bringt für die Kieselalgen einige Nachteile mit sich. So besitzen die Diatomeenschalen mit etwa  $2 \text{ g cm}^{-3}$  eine deutlich höhere Dichte als Wasser (Frondel 1962, Sosman 1965, Hurd 1983), so dass insbesondere große, dickschalige Arten in der Wassersäule relativ schnell nach unten sinken würden. Des Weiteren ist Silikat ein limitierender Nährstoff für die Diatomeen, bei geringem Silikatgehalt in der Wassersäule ist ihr Wachstum also begrenzt und es können sich keine Blüten ausbilden. Daher sind sie gezwungen, möglichst wenig Silikat zum Aufbau ihrer Schale zu verbrauchen.

Die Verwendung von Silikat als Material für die Schale bietet gegenüber anderen Stoffen jedoch auch einige Vorteile. So wird zur Bildung einer Silikatschale weniger Energie benötigt als zur Bildung einer äquivalenten Schale aus organischem Kohlenstoff, es besteht also ein ökonomischer Vorteil für die Diatomeen (Raven 1983). Außerdem kann die Silikatschale der Diatomeen möglicherweise als UV-Filter (Davidson et al. 1994), als Ballast zur Kontrolle der Position in der Wassersäule (Moore & Villareal 1996), oder als Puffer zur Abgabe und Aufnahme von Protonen (Milligan & Morel 2002) dienen.

Mit Sicherheit spielt die Schale aufgrund ihrer mechanischen Festigkeit auch eine wichtige Rolle als Schutzpanzer gegenüber Parasiten und Zooplankton (Smetacek 2001). Je nach Dicke und Struktur der Schale sind Kräfte im

Bereich von einigen 100  $\mu\text{N}$  notwendig, um eine Diatomeenschale zu zerbrechen (Hamm et al. 2003). Um die erforderlichen Kräfte aufbringen zu können, haben verschiedene herbivore Organismen unterschiedliche Taktiken entwickelt.

Copepoden lagern in ihren Mandibeln Silikat ein und erhöhen dadurch deren Härte. So können sie selbst höheren Kräften standhalten, ohne beschädigt zu werden (Sullivan et al. 1975, Michels & Schnack-Schiel 2005). Euphausiiden zerbrechen die Diatomeen in einem Muskelmagen, wobei Werkzeuge zum Einsatz kommen, die den Mandibeln der Copepoden sehr ähneln (Suh & Toda 1992). Auch bei den Bryozoen gibt es Hinweise darauf, dass Arten, die einen Muskelmagen mit chitinhaltigen Zähnen oder Platten besitzen, möglicherweise besser dazu in der Lage sind, Diatomeen zu fressen (Markham & Ryland 1987).

Andere Organismen wie Bäume oder Schnecken und Muscheln, die ähnlich wie die Diatomeen regelmäßig starken mechanischen Belastungen ausgesetzt werden, haben sich im Laufe ihrer Evolution an diese angepasst (Mattheck 1998, Vermeij 1993). Sie haben Strukturen ausgebildet, die dafür sorgen, dass die wirkenden Kräfte gleichmäßig über den gesamten Organismus verteilt werden. Dadurch wird verhindert, dass punktuell hohe Belastungen auftreten. Des Weiteren findet man häufig besonders stabile Strukturen in Bereichen, die regelmäßig starken Belastungen ausgesetzt werden.

Ein vergleichbares Verhalten konnte auch für Diatomeen nachgewiesen werden. Anhand von Modellen wurde für die Arten *Arachnoidiscus japonicus* und *Fragilariopsis kerguelensis* gezeigt, dass es innerhalb ihrer Schalen Strukturen gibt, die einseitigen Belastungen ausgesetzt werden, wenn Druck auf die Zelle ausgeübt wird, d.h. die Spannungen sind in einer bestimmten Richtung am höchsten (Hamm unpublizierte Ergebnisse, Hamm et al. 2003). Die Diatomeen erreichen so bei geringem Materialverbrauch und möglichst

wenig Gewicht eine optimale Stabilität ihrer Schale, es kommen hier also die Prinzipien des Leichtbaus zum Einsatz.

Offenbar sind die Kieselalgen also optimal an die Gegebenheiten ihres Lebensraumes angepasst. Es ist demzufolge zu erwarten, dass diese Anpassung noch weiter geht und auch den Bereich der Nanostrukturen umfasst. Speziell in den Bereichen der Zellwand, in denen einseitig gerichtete Spannungen auftreten, würden Strukturen wie Schichten oder Fasern dazu beitragen, dass das Material optimal genutzt würde. So können hohe, punktuelle Belastungen vermieden werden.

Die Kalkgehäuse von Muscheln, die ähnlich wie die Silikatschalen der Diatomeen unter anderem als Schutz vor Fressfeinden dienen, weisen solche Strukturen auf. Ihre Schalen sind aus Kalkschichten im Wechsel mit sehr dünnen organischen Schichten aufgebaut. Die anorganischen Schichten setzen sich aus annähernd hexagonalen oder anderen mehrseitigen Platten zusammen, zwischen denen sich ebenfalls organisches Material befindet. Diese Strukturen spielen eine wichtige Rolle bei der gleichmäßigen Verteilung von Belastungen über die Schale (Mayer 2005).

Ähnliche Strukturen, sowie weitere Hinweise auf Anisotropie, sollen im Rahmen dieser Diplomarbeit auch für Diatomeenschalen nachgewiesen werden. Dazu wird der Schalenaufbau der antarktischen Diatomeenarten *Fragilariopsis kerguelensis* und *Thalassiothrix antarctica* sowohl im Raster- als auch im Transmissionselektronenmikroskop untersucht.

### 1.1. Grundlagen der Materialwissenschaften

#### *1.1.1. Mechanische Eigenschaften von Materialien*

Um die Materialeigenschaften der Diatomeenschalen und das daraus folgende Verhalten bei Belastung verstehen zu können, müssen zunächst einige Grundlagen der Materialwissenschaften behandelt werden.

Sind die Atome eines Festkörpers in einem sich wiederholenden regelmäßigen Gitter angeordnet, so spricht man von einer Kristallstruktur. Amorphe Materialien besitzen hingegen keine Fernordnung oder Kristallstruktur.

Unter Isotropie versteht man die Richtungsunabhängigkeit von Eigenschaften, d.h. Zug mit einer bestimmten Kraft in eine beliebige Richtung führt immer zur gleichen Auslenkung der Atome. Durch die Rückstellkraft wird die Ausgangsposition der einzelnen Atome wieder hergestellt. Im Gegensatz dazu besteht bei Anisotropie eine Richtungsabhängigkeit des Materialverhaltens.

Weitere wichtige Eigenschaften eines Materials können an einem Spannungs-Dehnungs-Diagramm abgelesen werden (Abb. 2), das z.B. aus einem Zugversuch gewonnen werden kann. Die Spannungs-Dehnungs-Kurve verläuft zunächst linear (elastische Dehnung), wobei die Steigung dieses Abschnitts dem Elastizitätsmodul (Youngscher Modul) entspricht. Ein Material mit hohem Elastizitätsmodul behält bei elastischer Beanspruchung weitgehend seine Form und Größe, es besitzt damit eine hohe Steifigkeit.

Die Streckgrenze stellt die Grenze zwischen elastischem und plastischem Bereich des Spannungs-Dehnungs-Diagramms dar. Da dieser Übergang nicht immer deutlich ausgeprägt ist, wird häufig die Ersatzstreckgrenze angegeben. Sie wird als Schnittpunkt zwischen der Spannungs-Dehnungs-Kurve und einer Hilfsgerade, die parallel zum linearen Teil der Spannungs-Dehnungs-Kurve verläuft und um 0,002 (bzw. 0,2%) vom Ursprung nach rechts verschoben wurde, ermittelt.

Im anschließenden plastischen Bereich der Kurve findet eine plastische Verformung des Materials statt, d.h. die Ausgangsform des Materials wird bei

Entlastung nicht wieder hergestellt. Das Maximum der Kurve entspricht der Festigkeit, also der höchstmöglichen Belastung des Materials. Es kommt dadurch zustande, dass alle Größen auf die Anfangsfläche des Materials bezogen werden. Nach dem Durchlaufen des Maximums wird bei einem Zugversuch die Fläche aufgrund der Verformung des Materials jedoch geringer, d.h. dort genügen kleinere Kräfte um eine Deformation zu bewirken. Das Spannungs-Dehnungs-Diagramm endet in dem Punkt, in dem das Material bricht, wobei die maximale Längenänderung, die ein Material bis zu seinem Bruch erfahren kann, als Dehnbarkeit (Verformbarkeit, Duktilität) bezeichnet wird. Spröde Materialien wie z.B. Gläser oder Gesteine besitzen eine sehr geringe Dehnbarkeit. Bei einer Kompression solcher Materialien schließen sich eventuell vorhandene Sprünge und Risse, so dass ihre Druckfestigkeit wesentlich größer als ihre Zugfestigkeit ist.

Die Energie, die für einen Materialbruch erforderlich ist, steht in Beziehung zur Fläche unterhalb der Spannungs-Dehnungs-Kurve. Keramische Stoffe und Gläser besitzen trotz hoher Festigkeit nur ein geringes Widerstandsvermögen, da sie praktische keine Dehnbarkeit aufweisen. Metalle besitzen hingegen eine hohe Zähigkeit, sie sind sowohl sehr fest als auch dehnbar (Askeland 1996).

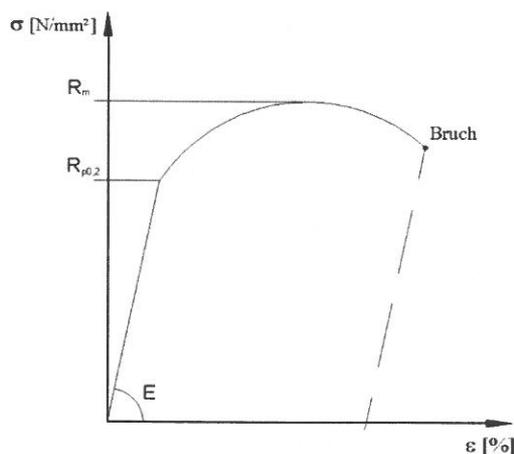


Abb. 2: Spannungs-Dehnungs-Diagramm mit  $\sigma$  – Spannung,  $\epsilon$  – Dehnung,  $R_{p0,2}$  – Ersatzstreckgrenze,  $R_m$  – Festigkeit,  $E$  – Elastizitätsmodul; Quelle: [www.de.wikipedia.org/wiki/Spannungs-Dehnungs-Diagramm](http://www.de.wikipedia.org/wiki/Spannungs-Dehnungs-Diagramm)

### *1.1.2. Verteilung von Belastungen in Körpern*

Wird auf eine bestimmte Stelle eines langen Balkens Druck (oder Zug) ausgeübt, so ist die Belastung in Form von Druck- und Zugspannungen in Richtung der Längsachse des Balkens am höchsten. Biegt sich der Balken aufgrund der Belastung durch, so wird er an der Oberseite komprimiert und an der Unterseite gedehnt. Zur Mitte des Balkens hin werden Kompression und Dehnung geringer und die Mitte selbst wird weder gedehnt noch komprimiert. Befindet sich in einem Balken eine Kerbe, so treten an ihrer Spitze besonders hohe Kräfte auf. Durch einen vergrößerten Radius der Endung der Kerbe kann die Belastung bedeutend abgeschwächt werden (Mattheck 1998). Bei Diatomeen findet man solche kreisförmigen Endungen oder andere, gerundete Strukturen häufig in den Endbereichen der Raphe, einem Schlitz in der Diatomeenschale, der der Fortbewegung dienen kann. Dadurch wird vermieden, dass in einem sehr kleinen Gebiet sehr hohe Kräfte auftreten. Zusätzlich ist die Schale der Kieselalgen in diesem Bereich der Zelle häufig dicker, sie ist also daran angepasst, dass hohe Belastungen auftreten können (Edgar & Pickett-Heaps 1984, Round et al. 1990, Vrieling et al. 1999, Cox 1999).

Das Ausbreiten einer Kerbe kann auch durch Materialverbände, also z.B. eine Schichtung des Materials, vermieden werden. Dabei verteilt sich die Spannung an der Spitze einer Kerbe beim Erreichen einer weicheren Schicht in alle Richtungen, es treten also punktuell nur vergleichsweise geringe Belastungen auf. Bei einem solchen geschichteten Aufbau bewirken weichere Schichten also eine erhöhte Festigkeit, da Kerbspannungen abgefangen werden können und das Material nicht so schnell bricht. Dieser Effekt ist umso stärker, je mehr Schichten vorhanden sind (Mattheck 1998).

Einen solchen Aufbau aus verschiedenen Schichten findet man unter anderem bei Muscheln (Mayer 2005), und es ist zu erwarten, dass auch die Diatomeen optimal an diese Gegebenheiten angepasst sind und Schichten oder möglicherweise auch Fasern im Aufbau ihrer Schalen aufweisen.

### *1.1.3. Die Finite Elemente-Methode*

Die Methode der finiten Elemente wurde Mitte des 20. Jahrhunderts für Probleme der Festigkeitsberechnung entwickelt und ist heute von großer Bedeutung für die numerische Simulation von z.B. statistischen und dynamischen Verformungs- und Spannungsberechnungen, Wärmeleitung und Temperaturverteilung sowie Elektrostatik und Magnetostatik.

Einer der Vorteile dieser Methode ist, dass auch komplexe, mit Formeln nicht erfassbare dreidimensionale Gebilde einfach und hinreichend genau berechnet werden können. Gleichzeitig wird jedoch auch der Rechenaufwand schnell sehr groß, wobei allerdings eine Algorithmierung möglich ist, d.h. es wird innerhalb eines Modells immer wieder nach dem gleichen Schema gerechnet. Das Grundprinzip der Finite Elemente-Methode (FEM) beruht auf der Zerlegung des zu berechnenden Systems, also z.B. der Schale einer Diatomee, in endlich viele, aber sehr kleine Elemente. Dazu wird zunächst ein dreidimensionales Modell erstellt, diesem werden Materialeigenschaften zugewiesen und die Randbedingungen werden festgelegt. Dieses Modell wird dann in die entsprechenden Elemente zerlegt. Für jedes dieser Elemente wird eine Ansatzfunktion definiert, die festlegt, ob und in welche Richtung sich das Element bewegen kann und welche Kraft auf das Element wirkt. Zusammen mit der partiellen Differentialgleichung und den Randbedingungen ergibt sich ein großes Gleichungssystem. Aus dem gelösten Gleichungssystem werden dann die gesuchten Resultate abgeleitet.

Dabei mussten anfangs noch Zahlenkolonnen ausgewertet werden.

Mittlerweile erfolgt die Auswertung grafisch mit Hilfe von Einfärbung der verschiedenen Beanspruchungsregionen des dreidimensionalen Modells mit unterschiedlichen Farben.

Dieses Verfahren ist bei kleinen Lebewesen wie Diatomeen sehr hilfreich, da ihre mechanischen Eigenschaften auf anderen Wegen sehr schwierig zu erfassen sind. Um den Rechenaufwand in Grenzen zu halten, müssen bei der Erstellung von FE-Modellen für Diatomeen aufgrund ihrer komplexen Morphologie Vereinfachungen z.B. im Bereich der Raphe oder der Poren vorgenommen werden.

Das Verfahren ermöglicht im allgemeinen die Betrachtung der von-Mises-Vergleichsspannung sowie sämtlicher Normal- und Schubspannungen. Dabei wirken Normalspannungen senkrecht auf die Oberfläche des betrachteten Körpers und Schubspannungen parallel dazu. Die von-Mises-Vergleichsspannung liefert einen Überblick über die Spannung innerhalb eines Körpers, wobei Informationen über die einzelnen Spannungskomponenten, die zu dieser Spannung führen, verloren gehen. Bei der Untersuchung von Diatomeen ist außerdem wichtig, dass die Deformation der Schale in stark vergrößertem Maßstab angezeigt werden kann. Dadurch können Rückschlüsse auf die Funktion von bestimmten morphologischen Merkmalen der Schale, sich daraus ergebende notwendige Materialeigenschaften, das Gesamtverhalten der Schale sowie eventuelle Schwachstellen und Bruchgebiete gezogen werden.

### 1.2. Untersuchungsorganismen - Diatomeen

#### 1.2.1. Allgemeines zu Diatomeen

Jede Diatomeenschale besteht aus zwei Schalenhälften, die wie eine Petrischale zusammengesetzt sind und von Gürtelbändern zusammengehalten werden. Die größere und ältere Valve heißt Epivalve (bzw. Epitheka inklusive der Gürtelbänder) und die kleinere und jüngere Hypovalve (Hypotheka). Bei der vegetativen Vermehrung durch Zellteilung wird zu jeder der beiden Valven eine neue Hypovalve in einem so genannten „silica deposition vesicle“ (SDV) gebildet. Dieser Vorgang hat eine kontinuierliche Größenabnahme der Diatomeen zur Folge. Sobald eine minimale Größe erreicht ist, erfolgt sexuelle Reproduktion (Kröger & Sumper 2004). Dabei entstehen die für Diatomeen einzigartigen Auxosporen, in denen dann eine neue Zelle mit einer größeren Schale gebildet wird (Kaczmarska et al. 2000).

Man unterteilt die Diatomeen im Allgemeinen in die punktsymmetrischen Zentrales oder Biddulphiales und die achsensymmetrischen Pennales oder Bacillariales. Die Pennales können eine oder mehrere Raphen besitzen. Es handelt sich dabei um einen Schlitz in der Diatomeenschale, der zur Fortbewegung genutzt werden kann. Weitere morphologische Merkmale, die zur Bestimmung der Arten herangezogen werden können, sind Rippen, Poren, Waben oder Stacheln. Es gibt sowohl planktische Diatomeenarten, die frei in der Wassersäule schweben, als auch benthische, die auf oder im Sediment oder auch als Aufwuchs auf Makroalgen (epiphytisch) vorkommen (Round et al. 1990).

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Organismen, *Fragilariopsis kerguelensis* und *Thalassiothrix antarctica*, sind Schlüsselarten des Südpolarmeers.

### 1.2.2. Die Diatomeenart *Fragilariopsis kerguelensis*

Die Art *Fragilariopsis kerguelensis* ist eine monoraphide, Ketten bildende Art mit elliptischen Einzelzellen, die eine bestimmte Anzahl an Rippen sowie zwischen zwei Rippen jeweils zwei Reihen von Poren besitzen. Es handelt sich um eine mittelgroße Diatomeenart, wobei die Größe der Zellen stark vom Lebenszyklus abhängig ist. Die Angaben für die Länge der Zellen schwanken zwischen 15 bis 30  $\mu\text{m}$  (Verity & Smetacek 1996), 30 bis 50  $\mu\text{m}$  (Gall et al. 2001) und 60  $\mu\text{m}$  (Timmermans et al. 2004).

*F. kerguelensis* ist eine Schlüsselart des antarktischen Phytoplanktons. Sie kann bei entsprechendem Nährstoffangebot in großen Mengen vorkommen (Gall et al. 2001) und somit eine wichtige Nahrungsquelle für verschiedene Zooplanktonarten darstellen. Die relativ massive Silikatschale von *F. kerguelensis* trägt vermutlich zu deren Schutz und daher auch zu deren Erfolg bei (Verity & Smetacek 1996, Smetacek 1999).

Die Kraft, die benötigt wird, um eine einzelne Zelle von *F. kerguelensis* mit einer Länge von 30  $\mu\text{m}$  zu zerbrechen beträgt 730  $\mu\text{N}$ , das ist deutlich mehr als bei den zentrischen Arten *Thalassiosira punctigera* (260  $\mu\text{N}$  bei einem Zelldurchmesser von 50  $\mu\text{m}$  bzw. 180  $\mu\text{N}$  bei einem Zelldurchmesser von 100  $\mu\text{m}$ ) und *Coscinodiscus granii* (bis zu 90  $\mu\text{N}$  bei einem Zelldurchmesser von 130  $\mu\text{m}$ ) (Hamm et al. 2003). Berechnungen haben ergeben, dass kleine Copepoden nicht in der Lage sind, die erforderliche Kraft, die benötigt wird um eine Zelle von *F. kerguelensis* zu zerbrechen, aufzubringen.

Mittels eines FE-Modells wurde untersucht, wie sich die Belastung bei Ausübung von punktuellen Druck über die Zelle verteilt. Dabei wurde festgestellt, dass die Bereiche mit den Poren am wenigsten belastet werden, wohingegen die Rippen die Hauptlast tragen. Im Bereich der Rippen in der Mitte der Zelle wirken noch größere Kräfte als in den Rippen, die zum Rand der Zelle hin liegen (Hamm et al. 2003).

Die Art *F. kerguelensis* ist also offenbar aufgrund der Dicke und Morphologie ihrer Silikatschale sehr gut daran angepasst, hohen Belastungen, die etwa durch Fressfeinde verursacht werden können, standzuhalten.

### 1.2.3. Die Diatomeenart *Thalassiothrix antarctica*

Die Einzelzellen der antarktischen Diatomeenart *Thalassiothrix antarctica* sind nadelförmig und weisen in jeder Valve jeweils zwei Reihen von Poren auf.

Diese Art wird bei einer Breite von 1,5-6  $\mu\text{m}$  bis zu 5 mm lang, wobei die Dicke der Schale ca. 1  $\mu\text{m}$  beträgt. Sie ist damit die größte und robusteste Art dieser Gattung (Smetacek et al. 2002). Die Größe von *T. antarctica* stellt einen Vorteil bei der Nährstoffaufnahme dar, da durch turbulente Strömungen eine erhöhte Nährstoffzufuhr erreicht werden kann (Karp-Boss & Jumars 1966, Pahlow et al. 1997). Dennoch vermehrt sich diese Art nur langsam.

Kleine Copepoden, die im gleichen Größenbereich liegen wie *T. antarctica*, können die Zellen aufgrund ihrer Größe vermutlich nicht fressen. *T. antarctica* besitzt außerdem Widerhaken, die möglicherweise eine zusätzliche Verteidigung gegenüber Zooplankton darstellen. Wenn der Fraßdruck auf *T. antarctica* gering ist, wenn also z.B. wenig Krill vorhanden ist, können sich trotz der niedrigen Vermehrungsrate große Bestände ausbilden und die Art kann dann auch das antarktische Phytoplankton dominieren (Smetacek et al. 2002).

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Probenmaterial

Das Probenmaterial setzt sich aus einer Sedimentprobe aus der Antarktis und einer Kultur von *Fragilariopsis kerguelensis* zusammen.

Die Diatomeen der Sedimentprobe wurden durch Dichtentrennung aus dem Bohrkern gewonnen. Das Alter der Diatomeen liegt bei etwa 120000 Jahren und es sind hauptsächlich die zu untersuchenden Arten *Fragilariopsis kerguelensis* und *Thalassiothrix antarctica* enthalten. Weitere Arten, unter anderem einige zentrische Diatomeen, sind in geringer Anzahl vorhanden.

Diese Probe weist den Vorteil auf, dass das organische Material bereits abgebaut wurde, d.h. die Präparation für die Elektronenmikroskopie wird erheblich vereinfacht. Gleichzeitig ist die Probe jedoch noch nicht so alt, dass bereits diagenetische Prozesse stattgefunden haben könnten.

Zum Vergleich wird im Transmissionselektronenmikroskop (TEM) zusätzlich eine Kultur von *Fragilariopsis kerguelensis* (zur Verfügung gestellt von Dr. Philipp Assmy, Alfred Wegener Institut für Polar- und Meeresforschung) untersucht. Dadurch soll auch gezeigt werden, dass im sedimentären Material noch keine Umwandlungsprozesse des Silikats eingesetzt haben.

### 2.2. Rasterelektronenmikroskopie

Die Rasterelektronenmikroskopie wurde durchgeführt, um einen Einblick in mögliche Strukturen innerhalb der Diatomeenschalen zu gewinnen.

Da in der Sedimentprobe nur noch die Silikatschalen der Kieselalgen und kein organisches Material mehr vorhanden war, konnte sie ohne weitere Behandlung für die Rasterelektronenmikroskopie verwendet werden. Zum Aufbringen der Probe auf die Probenhalter wurde das trockene

Diatomeenpulver zunächst auf einen Objektträger gegeben, um eine gleichmäßige Verteilung des Materials zu gewährleisten. Anschließend wurden die Diatomeen mit Hilfe von leitfähigen Haftaufklebern auf die Probenhalter aufgebracht.

Die Probe wurde in einem SC 500 der Firma Emscope für 3 Minuten mit Gold-Palladium besputtert. Anschließend wurde die Mikroskopie an einem FEI Quanta FEG 200 durchgeführt.

Zur Auswertung der Rasterelektronenmikroskopie wurden die Bruchflächen der Zellen auf Schichten oder andere erkennbare Strukturen hin untersucht. Des Weiteren wurden Beobachtungen zum Bruchverhalten und zu auftretenden Bruchrichtungen gemacht. Bei einigen Zellen wurden auch Messungen der Schichtdicke durchgeführt.

### **2.3. Transmissionselektronenmikroskopie**

Die Transmissionselektronenmikroskopie wurde durchgeführt, um die Ergebnisse der Rasterelektronenmikroskopie zu bestätigen und um Strukturen nachzuweisen, die am Rasterelektronenmikroskop (REM) aufgrund seiner geringeren Auflösung nicht erkennbar sind.

Im TEM wurden zwei verschiedene Proben untersucht, die Sedimentprobe sowie eine Kultur von *F. kerguelensis*. Letztere wurde für zwei Stunden in Glutaraldehyd und Formol fixiert. Anschließend wurde eine Stunde lang mit  $\text{OsO}_4$  (2 %) nachfixiert und dann zweimal in 0,2 M Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 7,2) gewaschen. Anschließend wurden die Entwässerungsreihe mit Ethanol und Propylenoxid sowie die schrittweise Überführung in reines EPON 812 gemäß folgender Vorschrift durchgeführt (Rhiel persönliche Mitteilung, Rhiel et al. 1985, Janssen et al. 2001):

15 min in 30 % Ethanol  
15 min in 50 % Ethanol  
15 min in 70 % Ethanol  
15 min in 80 % Ethanol  
15 min in 90 % Ethanol  
2x15 min in 100 % Ethanol  
2x15 min in Propylenoxid

60 min in EPON/Propylenoxid (1:1)  
60 min in EPON/Propylenoxid (2:1)  
60 min in EPON/Propylenoxid (3:1)  
über Nacht in reinem EPON  
am nächsten Tag einbetten in reines EPON

Da in der Sedimentprobe kein organisches Material mehr enthalten war, konnte auf die Fixierung und Entwässerung verzichtet werden. Die Probe wurde daher zunächst in Agar gegeben und anschließend in Form von Agarblocks in EPON 812 eingebettet.

Das Schneiden der Proben erfolgte an einem Leica EM UC6. Die Proben wurden jeweils so dünn wie möglich geschnitten und die Schnittdicken lagen zwischen 60 und 90 nm. Die Mikroskopie wurde an einem EM Zeiss 109 bei einer Spannung von 50 kV durchgeführt und es wurden Bilder mit einer Digitalkamera (Proscan) aufgenommen. Dabei wurden das Photoprogramm iTEM sowie zum Betrachten der Bilder das Programm Soft Imaging Viewer der Firma Soft Imaging System benutzt. Die weitere Bearbeitung der Bilder erfolgte mit Adobe Photoshop CS2.

Zur Auswertung der Transmissionselektronenmikroskopie wurden vor allem die verschiedenen Bruchformen und Bruchrichtungen, sowie mögliche

Strukturen, die die Ergebnisse der Rasterlektronenmikroskopie bestätigen könnten, betrachtet.

Aus Zeitgründen konnte ich die Einbettung der Sedimentprobe und das Schneiden der Proben nur z.T. selbst durchführen. Sonja Einsporn und Ute Marx haben den größten Teil dieser Arbeiten übernommen.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Rasterelektronenmikroskopie

Die Oberflächen aller Diatomeenschalen in der Sedimentprobe sind nicht mehr glatt, sondern unterschiedlich stark aufgeraut. Bei manchen Zellen ist lediglich eine leichte Unebenheit der Zelloberfläche erkennbar (Tafel 3, Bild 4), wohingegen andere deutlich tiefere kraterförmige Aushöhlungen aufweisen (Tafel 2, Bild 2). Die Bruchflächen haben entweder ebenfalls eine körnige Struktur (Tafel 2, Bild 4) oder sie sind glatt und strukturlos (Tafel 1, Bild 4). Eine der zentralen Zellen (Tafel 3, Bild 3) hat eine Oberflächenschicht, die eindeutig andere Eigenschaften besitzt als das darunter liegende Material. Sie besteht aus glattem, recht dichtem Material, das teilweise bereits abgeblättert ist, wohingegen das darunter freigelegte Material die übliche aufgeraute Struktur aufweist. Vergleichbare Beobachtungen an anderen Zellen wurden nicht gemacht.

Bei *T. antarctica* waren in vielen Bruchflächen eindeutig Schichten sichtbar, die parallel zur Ober- und Unterfläche der Zellwand verlaufen und eine Dicke von maximal 200 nm aufweisen (Tafel 1, Bild 1-3). Die Dicke der Schichten war aufgrund der unterschiedlichen Lagen der Zellen auf den Stubs schwierig zu bestimmen. Auch bei den Zellen einiger zentraler Diatomeenarten, die nicht bestimmt wurden, sind Schichten vorhanden. Ihre Dicke liegt im gleichen Bereich wie bei *T. antarctica* (Tafel 3, Bild 1-2). Zur Messung der Schichtdicken wurden nur wenige Zellen herangezogen, es handelt sich also nicht um statistisch abgesicherte Werte. Die Größenordnung von etwa 200 nm ist vermutlich dennoch realistisch.

Bei *F. kerguelensis* sind nur andeutungsweise Schichten erkennbar, so dass Messungen der Schichtdicke nicht möglich waren (Tafel 2, Bild 3-4). Bei dieser Art fällt allerdings auf, dass sich die Zellwand im Bereich der Poren

schneller auflöst als die Rippen (Tafel 2, Bild 2). Des Weiteren tritt im Bereich der Poren häufig eine Aushöhlung der Zellwand auf, das Innere der Wand wurde also bereits aufgelöst und es ist nur noch eine Außenwand erhalten (Tafel 2, Bild 1-2). Dieser Effekt kommt nur in diesem Bereich der Zellwand von *F. kerguelensis* vor, hier wird also offenbar Material verwendet, das relativ leicht abbaubar ist.

Manchmal gibt es in der Innenseite der Zellen von *F. kerguelensis* an den Rändern der Rippen Erhebungen mit unterschiedlich starken Ausprägungen (Tafel 2, Bild 3-4; Tafel 3, Bild 4). Die Rippen können allerdings auch vollständig glatt sein, die Erhebungen werden also offenbar nur unter bestimmten Bedingungen ausgebildet.

Die Rasterelektronenmikroskopie lieferte also für *T. antarctica* sowie einige zentrische Zellen die erwarteten Ergebnisse, d.h. es waren Schichten sichtbar. Bei *F. kerguelensis* konnten Schichten nicht eindeutig nachgewiesen werden, es gibt aber Hinweise darauf, dass innerhalb einer Zelle Unterschiede in den Materialeigenschaften auftreten können.

### **3.2. Transmissionselektronenmikroskopie**

Bei der Transmissionselektronenmikroskopie traten keine wesentlichen Unterschiede zwischen der Sedimentprobe und der Kultur von *F. kerguelensis* auf. Die Artbestimmung in der Sedimentprobe war schwierig, da die Schnitte nicht in einer definierten Richtung verliefen. Einige Zellen von *F. kerguelensis* konnten eindeutig identifiziert werden, ansonsten konnte jedoch häufig nicht geklärt werden, um welche Arten es sich handelt.

Bei der Betrachtung der Proben im Transmissionselektronenmikroskop fällt allgemein auf, dass die Zellwände der Diatomeen aus kleinen Kugeln zusammengesetzt sind (Tafel 7, Bild 2; Tafel 9, Bild 2).

Die Schalen fast aller Diatomeen sind beim Schneiden in kleine Bruchstücke zersplittert, es gibt allerdings einige Ausnahmefälle (Tafel 4, Bild 2; Tafel 6, Bild 1), in denen ein relativ großes Stück erhalten geblieben ist. Diese Gebiete sind dunkler, also elektronendichter, als das restliche Material.

Die übrigen, zersplitterten Bereiche weisen relativ einheitliche Formen auf, obwohl es eine enorme Vielfalt an verschiedenen Bruchstücken gibt. Ein Großteil des Silikats ist in Form von muscheligen Bruch zersplittert, die entstandenen Bruchstücke sind also leicht gerundet (Tafel 5, Bild 1, 4; Tafel 8, Bild 1). Meistens sind sie an den Rändern dünner als in der Mitte und sie enden häufig in Spitzen. Diese sind in großer Vergrößerung (85000x) in Bild 2 auf Tafel 9 dargestellt. Manchmal können die Bruchstücke auch über brückenähnliche Auswüchse, die für Bruch von sprödem Material untypisch sind, miteinander verbunden sein (Tafel 5, Bild 1; Tafel 6, Bild 4).

Neben den gerundeten Bruchstücken kommen auch solche vor, die sich vielleicht nicht so einfach als muscheliger Bruch klassifizieren lassen. Es handelt sich dabei um Blöcke oder Plättchen in verschiedensten Formen und Größen, die sich oft gegenseitig überlagern (Tafel 4, Bild 1; Tafel 5, Bild 2-3; Tafel 6, Bild 3-4; Tafel 9, Bild 3-4), so dass der Eindruck entsteht, dass es sich um Schichten handelt. Die Orientierungen sind jedoch nicht wie nach den Ergebnissen der Rasterelektronenmikroskopie erwartet und können zwischen verschiedenen Zellen variieren. Es liegt also vermutlich eine Abhängigkeit von der Schnittrichtung vor.

In einigen Zellen treten die Plättchen in mehr oder weniger rechteckiger Form auf (Tafel 7, Bild 1, 3-4) und liegen dann teilweise in Stapeln aus mehreren Bruchstücken übereinander vor. Zwischen den nebeneinander liegenden Stapeln kann sich recht diffuses Material befinden (Tafel 7, Bild 1).

Da das Silikat beim Schneiden in viele kleine Bruchstücke zersplittert ist, war es schwierig, die Schichten, die bei der Rasterelektronenmikroskopie zu sehen waren, erneut nachzuweisen. In einigen Zellen traten jedoch nicht die normalen

Bruchstücke auf, sondern die Zellwand zerfiel in Form von Schichten (Tafel 4, Bild 3-4; Tafel 8, Bild 2, 4). Bei Bild 3 auf Tafel 8 könnte es sich um einen Grenzfall handeln, in dieser Zelle verläuft der Bruch einerseits parallel zur Ober- und Unterfläche der Zelle, andererseits sind aber auch deutliche Ansätze zu muscheligen Bruch in Form von Rundungen vorhanden. Die Dicke der Schichten beträgt im allgemeinen etwa 200 nm und liegt damit im Bereich der Schichten, die bei der Rasterelektronenmikroskopie vermessen wurden.

In der Sedimentprobe konnte jedoch nicht geklärt werden, bei welchen Arten diese Schichten vorkamen. Dass die Schichten auch in der Kultur von *F. kerguelensis* auftraten, deutet auf jeden Fall darauf hin, dass es auch im Aufbau von *F. kerguelensis* vermutlich Schichten gibt, obwohl für diese Art die Ergebnisse der Rasterelektronenmikroskopie nicht eindeutig waren.

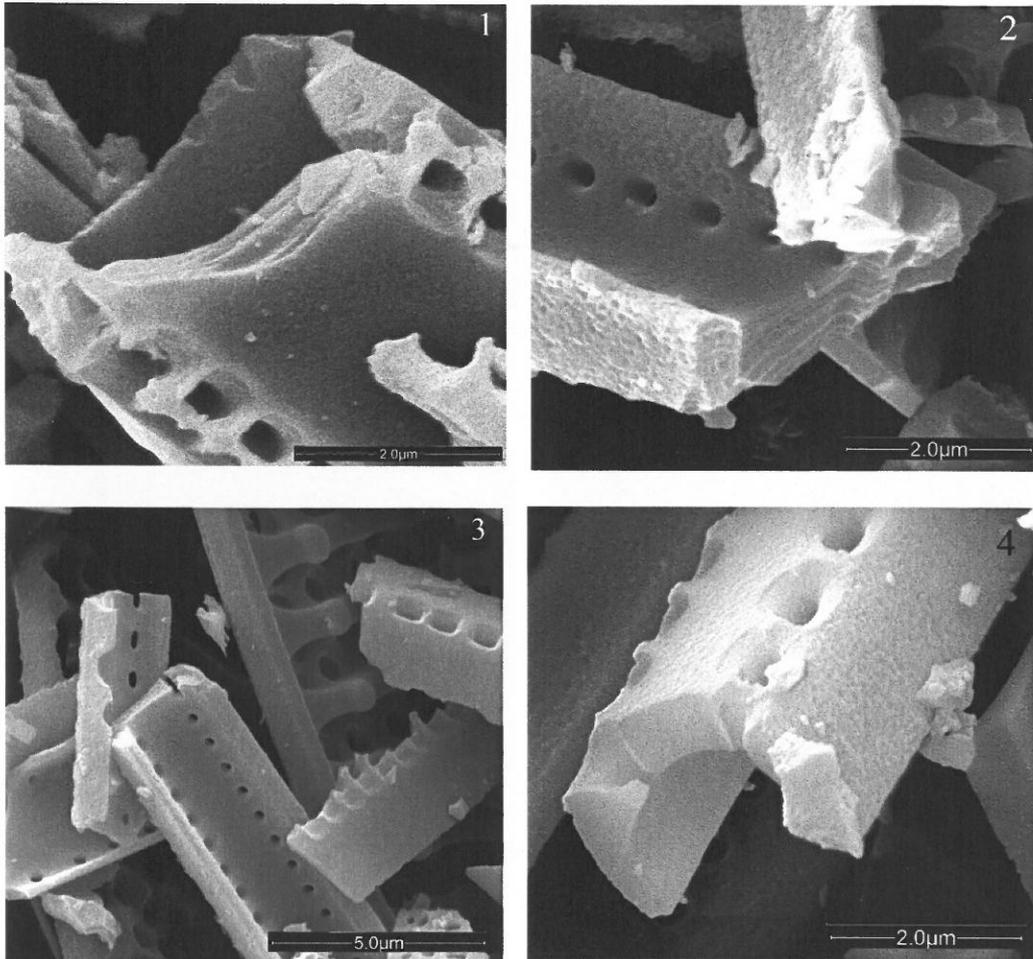
Allgemein ist festzuhalten, dass die Schnittrichtung offenbar einen großen Einfluss darauf hat, wie die Zellwände zerbrechen. In der Regel gibt es zwar eine gemeinsame Bruchrichtung für alle Zellen. Es kommt aber auch vor, dass Unterschiede in der Bruchrichtung zwischen verschiedenen Zellen (Tafel 11, Bild 1) oder sogar innerhalb einer Zelle (Tafel 10, Bild 1) auftreten. Besonders deutlich ist dies in Bild 1 auf Tafel 11 zu sehen. Bei dieser Zelle ist die Bruchrichtung im Bereich der Rippen eindeutig anders als im Bereich der Seitenwände oder Gürtelbänder und es treten auch zwischen den Rippen Unterschiede auf. Die Rippen, die am Ende der Zelle liegen, weisen einen Bruchwinkel auf, der zwischen dem der Seitenwände und dem der Rippen im mittleren Bereich der Zelle liegt.

Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Bruchformen kommen an den Rändern einiger Bruchstücke Strukturen vor, die möglicherweise als Schichten interpretiert werden können (Tafel 6, Bild 2). Sie sind allerdings vermutlich deutlich dünner als die Schichten aus dem REM und es scheint keine festgelegte Orientierung dieser Strukturen zu geben.

Auf Bild 1 in Tafel 5 ist neben muscheligen Bruch und den oben bereits erwähnten Verbindungen zwischen verschiedenen Bruchstücken eine weitere Struktur zu erkennen, die nur in dieser Zelle auftrat. Das Material ist in diesem Bereich der Zellwand nicht so zerbrochen wie in den anderen Gebieten, es entsteht im Gegenteil der Eindruck, dass hier kein Bruch erfolgt ist und dass es sich um ein weiches Material handelt, das beim Schneiden lediglich seine Form verändert hat

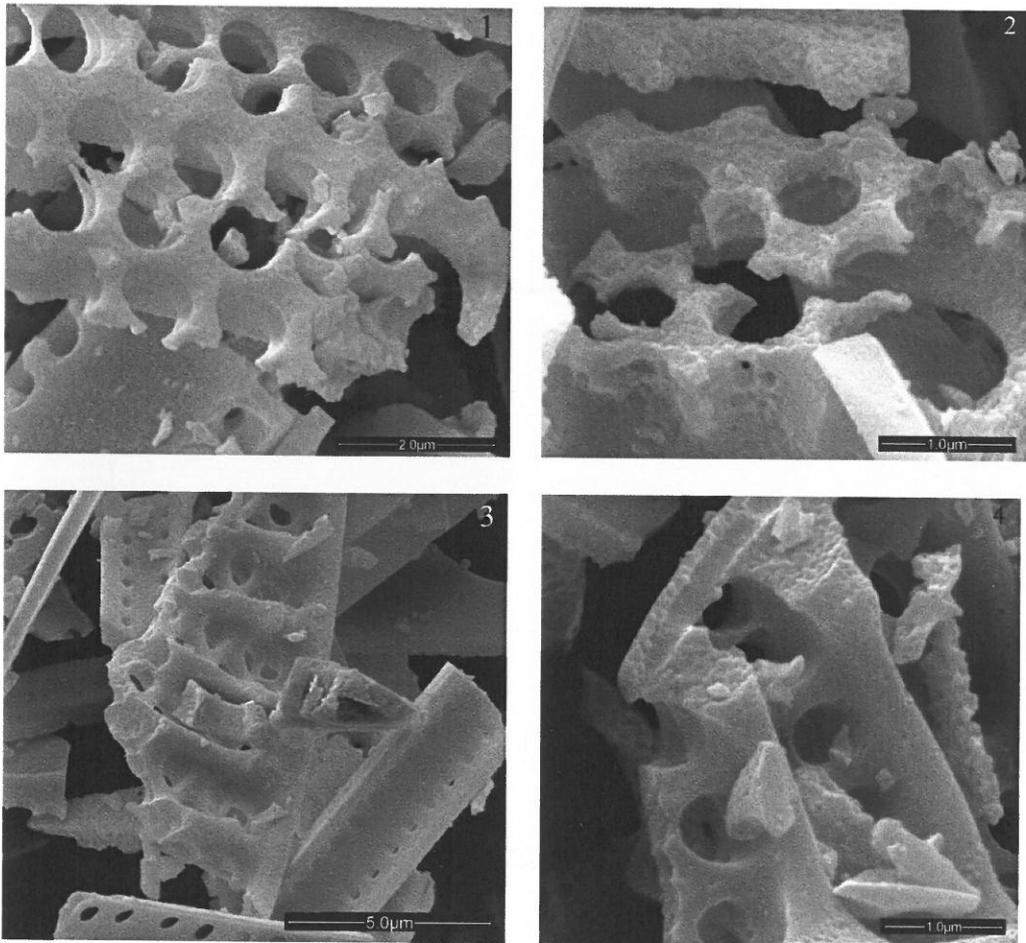
**Tafel 1**

REM, Sedimentprobe



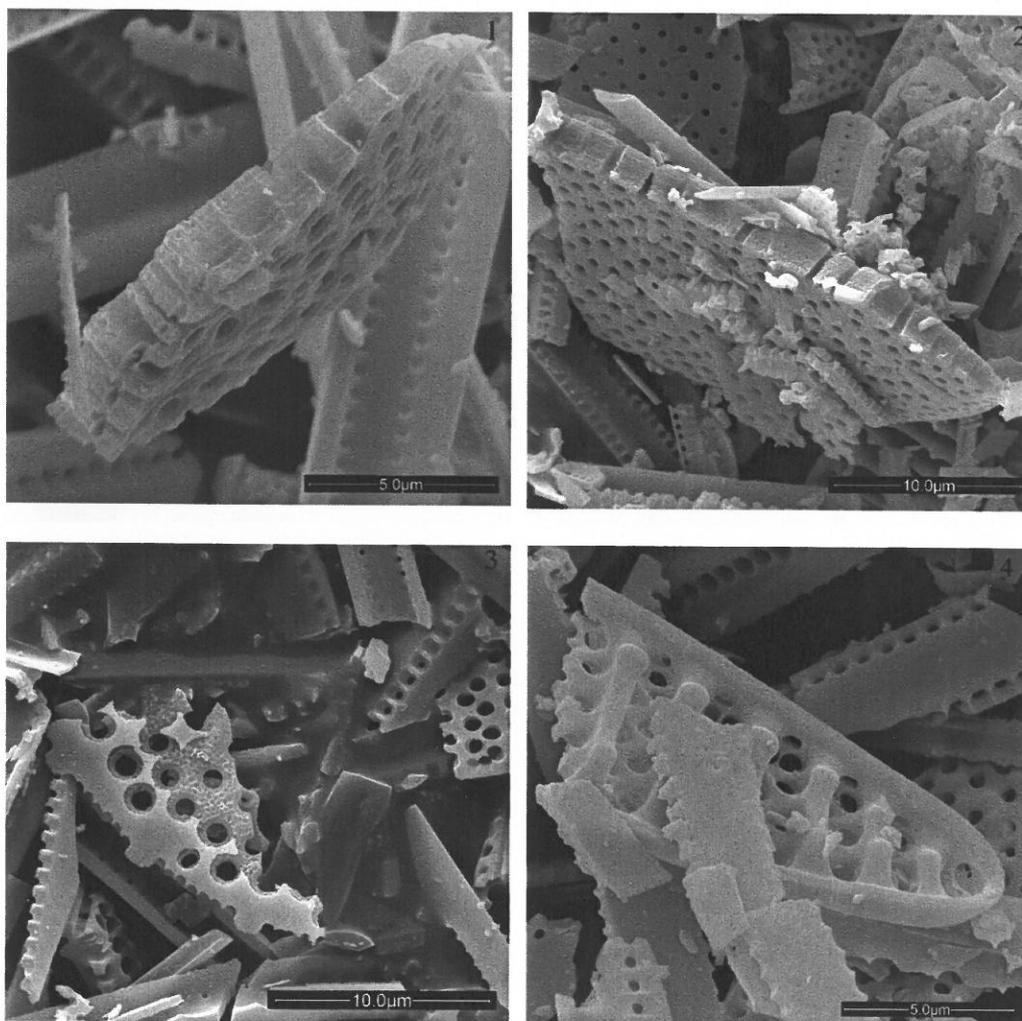
- 1 Schichten im Querschnitt von *T. antarctica*
- 2 Schichten im Querschnitt von *T. antarctica*
- 3 Schichten im Querschnitt von *T. antarctica*
- 4 Glatte Bruchfläche von *T. antarctica*

**Tafel 2**  
REM, Sedimentprobe



- 1 Ausgehöhlte Zellwand im Bereich der Poren bei *F. kerguelensis*
- 2 Ausgehöhlte Zellwand im Bereich der Poren bei *F. kerguelensis*; die Auflösung der Zellwand und die daraus folgende aufgeraute Struktur sind deutlich zu erkennen
- 3 Schichten im Bereich der Rippen von *F. kerguelensis* sind andeutungsweise zu erkennen; auf den Rippen sind Erhebungen sichtbar
- 4 Schichten im Bereich der Rippen von *F. kerguelensis* sind andeutungsweise zu erkennen; auf den Rippen sind keine Erhebungen sichtbar

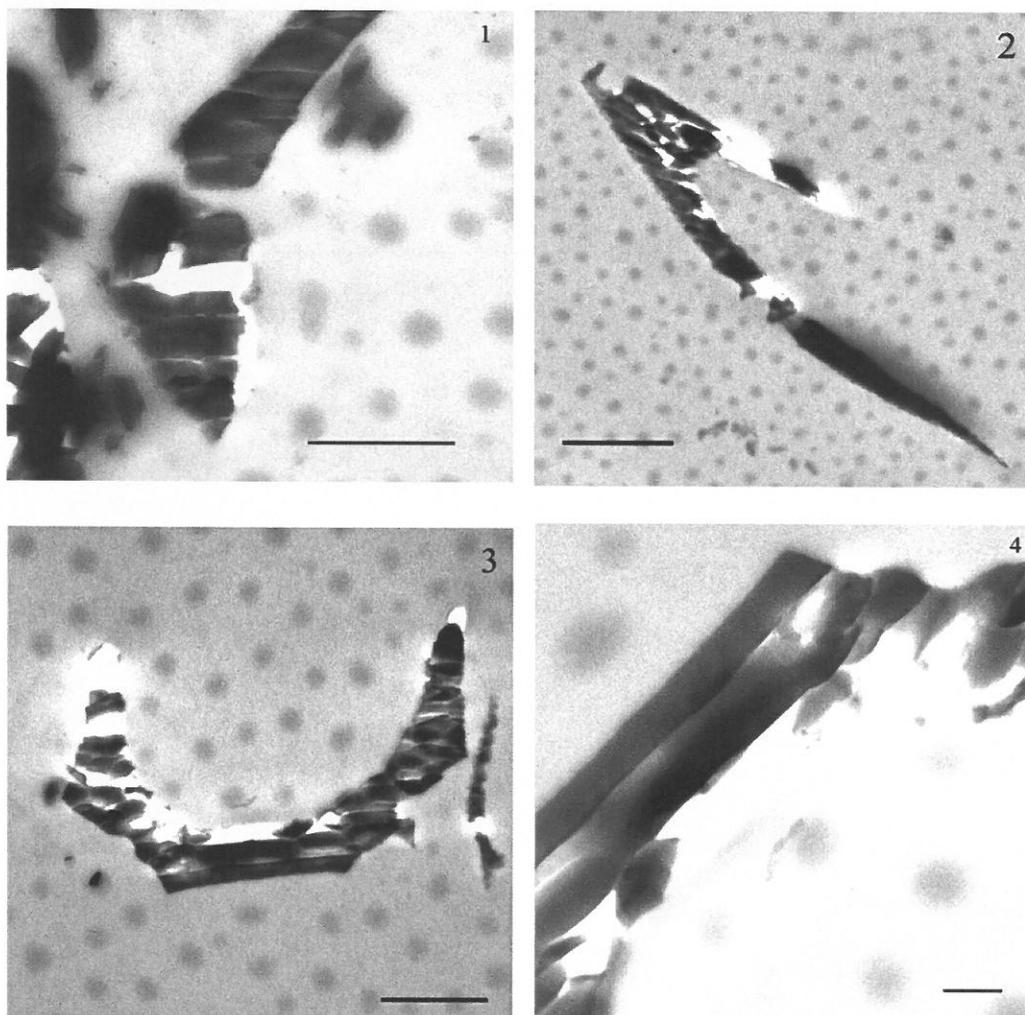
**Tafel 3**  
REM, Sedimentprobe



- 1 Schichten in einer zentrischen Diatomee
- 2 Schichten in einer zentrischen Diatomee
- 3 Zentrische Diatomee mit einer ungewöhnlich dichten Oberflächenschicht
- 4 Erhebungen auf den Rippen von *F. kerguelensis*

**Tafel 4**

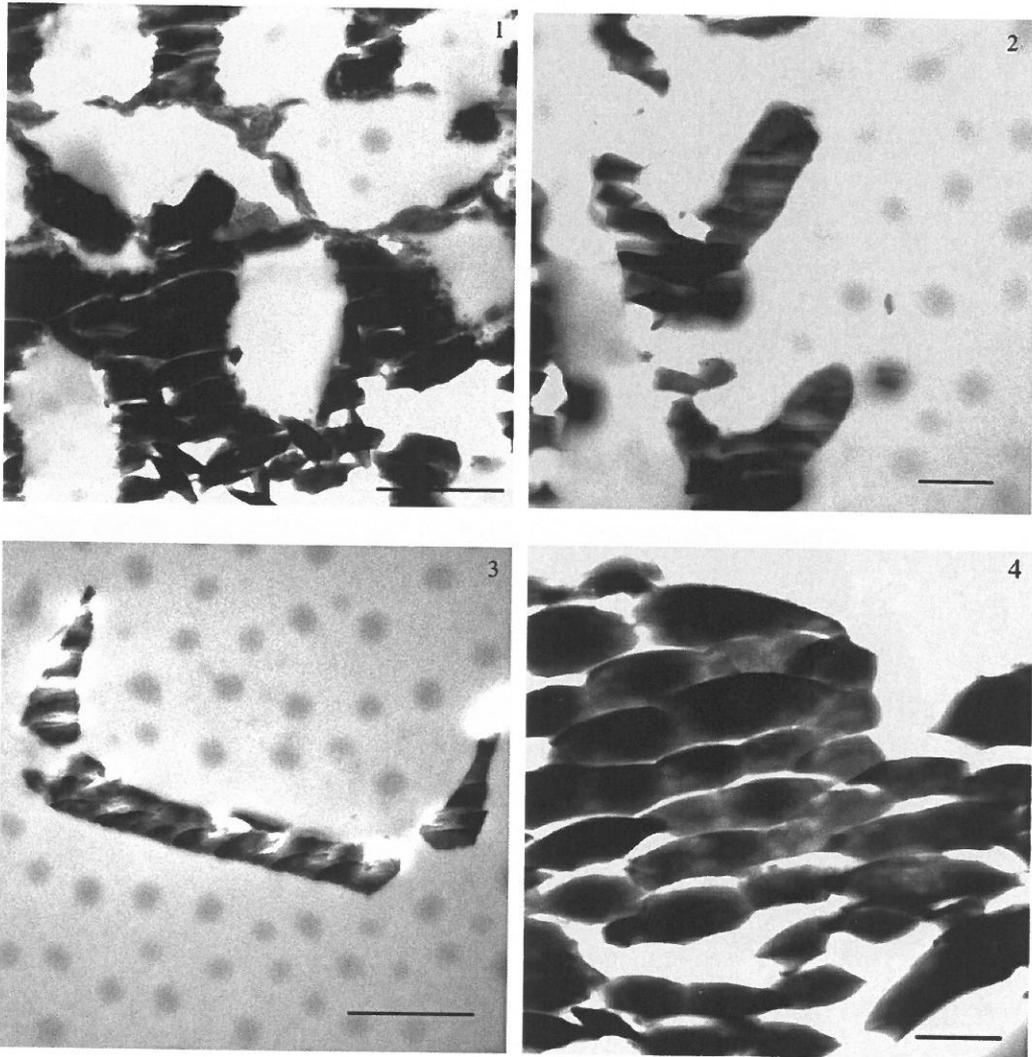
TEM, Kultur von *Fragilariopsis kerguelensis*



- 1 Zellwand ist in Blöcke zerbrochen; Skala = 1  $\mu\text{m}$
- 2 Zelle mit einem nicht zersplitterten Stück; Skala = 2  $\mu\text{m}$
- 3 Zellwand ist in Form von Schichten zerfallen; Skala = 1  $\mu\text{m}$
- 4 Detail aus 3; Skala = 200 nm

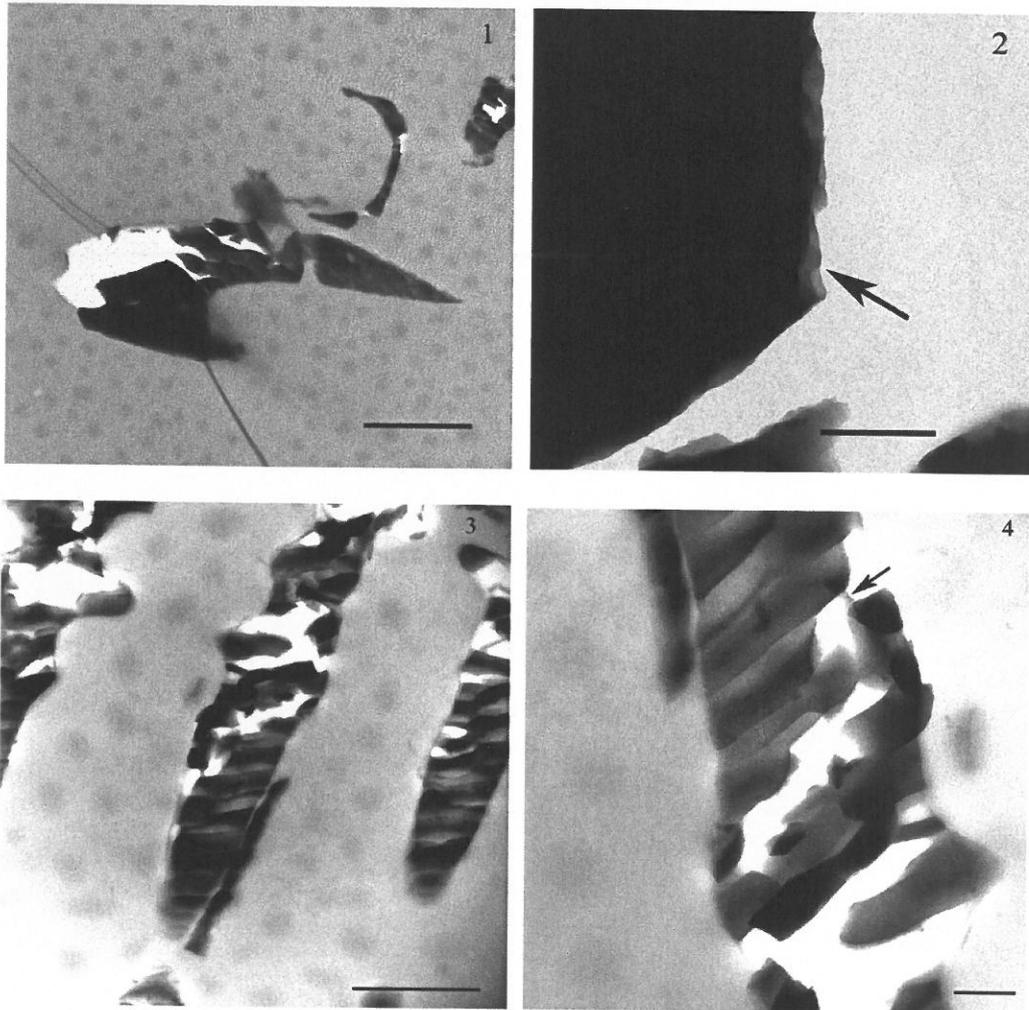
Tafel 5

TEM, Kultur von *Fragilariopsis kerguelensis*



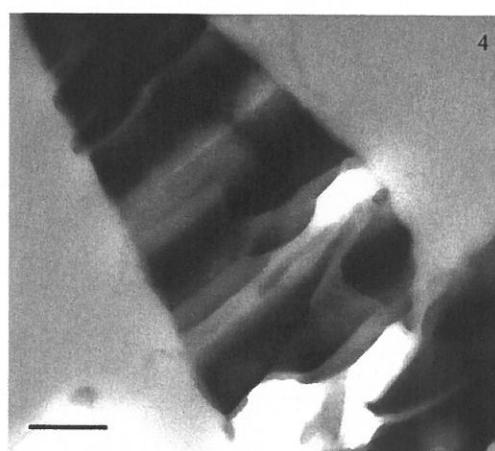
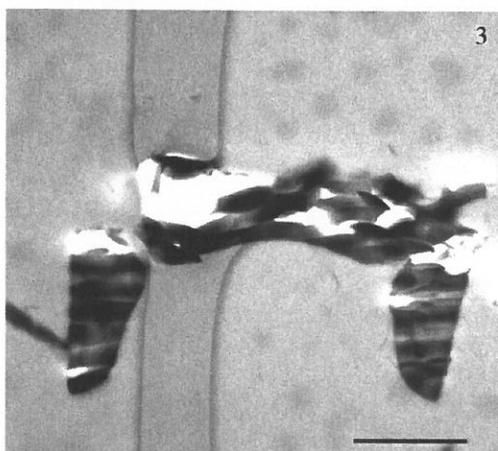
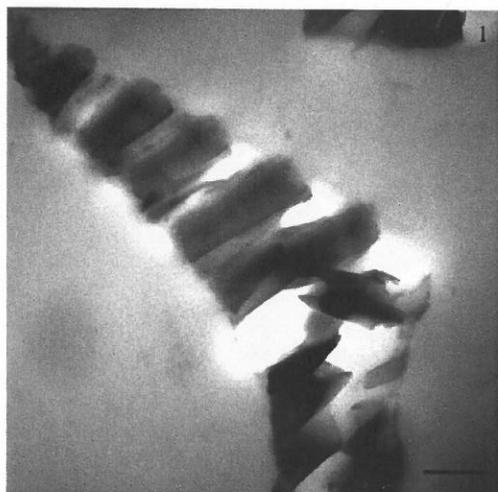
- 1 Bereich mit Poren; muscheliger Bruch, Verbindungen zwischen Bruchstücken im unteren Bildbereich und Strukturen, die möglicherweise durch weiches Material zustande kommen, oben im Bild; Skala = 1  $\mu\text{m}$
- 2 Sehr dünne Bruchstücke (Plättchen) überlagern sich gegenseitig innerhalb der Rippen; Skala = 1  $\mu\text{m}$
- 3 Querschnitt der Zelle; sehr dünne Bruchstücke (Plättchen) überlagern sich gegenseitig; Skala = 1  $\mu\text{m}$
- 4 Muscheliger Bruch; Skala = 1  $\mu\text{m}$

**Tafel 6**  
TEM, Sedimentprobe



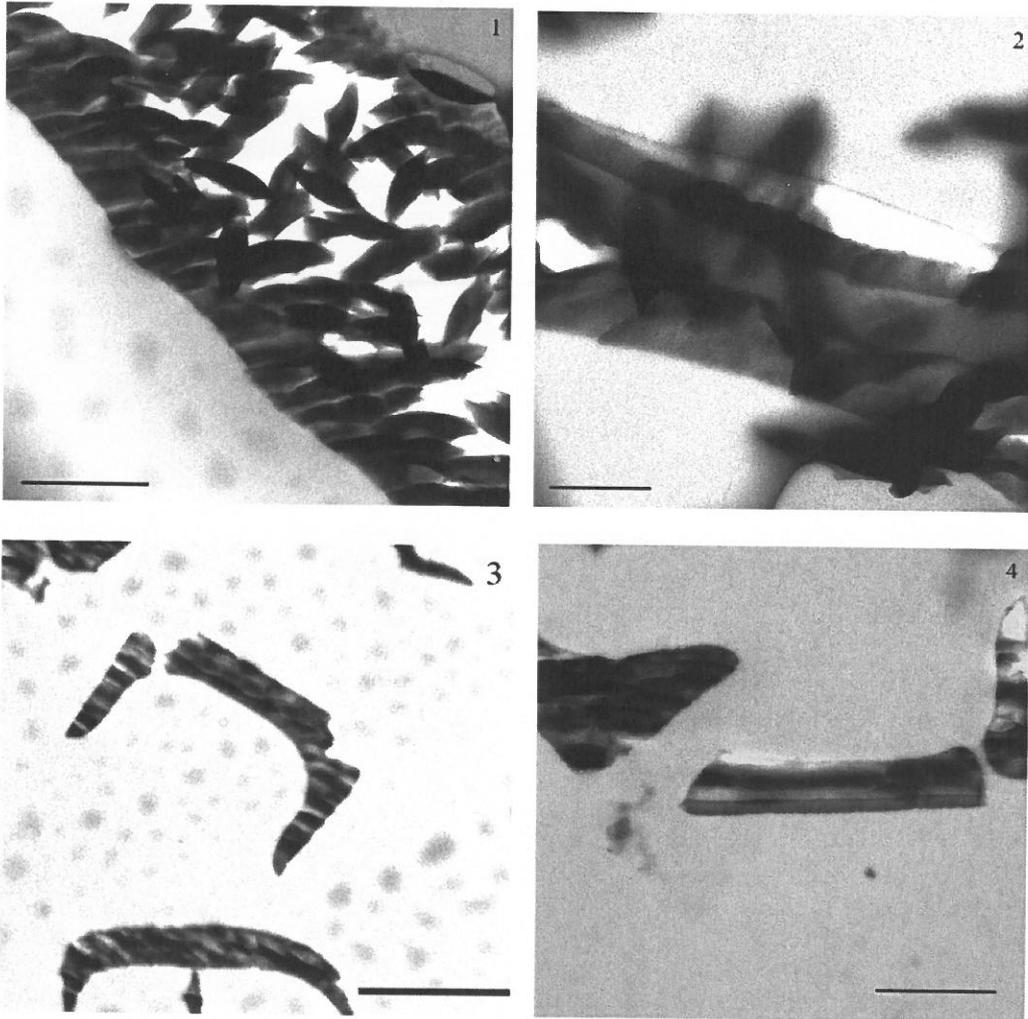
- 1 Zelle von *F. kerguelensis* mit einem nicht zersplitterten Stück; Skala = 2  $\mu\text{m}$
- 2 Detail aus 1; der Pfeil markiert Strukturen am Rand des unzersplitterten Bruchstücks; Skala = 200 nm
- 3 Detail aus Tafel 10; Rippen von *F. kerguelensis* mit sehr dünnen, sich gegenseitig überlagernden Bruchstücken (Plättchen); Skala = 1  $\mu\text{m}$
- 4 Detail aus 3; der Pfeil deutet auf eine Verbindung zwischen zwei Bruchstücken; Skala = 200 nm

**Tafel 7**  
TEM, Sedimentprobe



- 1 Stapel von rechteckigen Bruchstücken mit diffusem Material in den Zwischenräumen;  
Skala = 200 nm
- 2 Detail aus 1; die Kugeln, aus denen das Material besteht, sind erkennbar; Skala = 100 nm
- 3 Querschnitt einer Zelle mit rechteckigen Bruchstücken in den Seitenwänden; Skala = 1  $\mu$ m
- 4 Detail aus 3; sehr dünne Bruchstücke (Plättchen) überlagern sich gegenseitig;  
Skala = 200 nm

**Tafel 8**  
TEM, Sedimentprobe



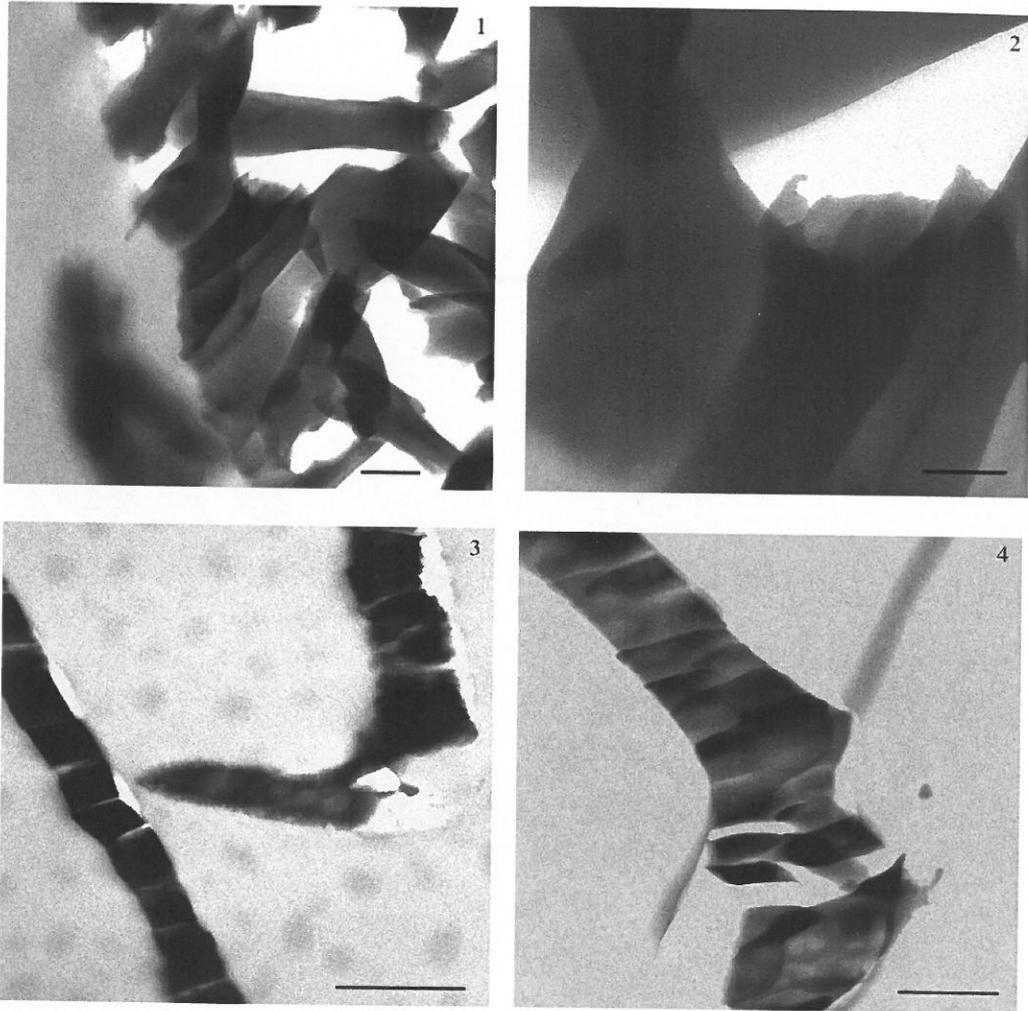
1 Muscheliger Bruch; Skala = 1  $\mu\text{m}$

2 Schichten, möglicherweise handelt es sich um *T. antarctica*; Skala = 500 nm

3 Muscheliger Bruch mit Andeutung von Schichten; Skala = 2  $\mu\text{m}$

4 Die Zellwand ist in Form von Schichten zerbrochen; Skala = 1  $\mu\text{m}$

**Tafel 9**  
TEM, Sedimentprobe



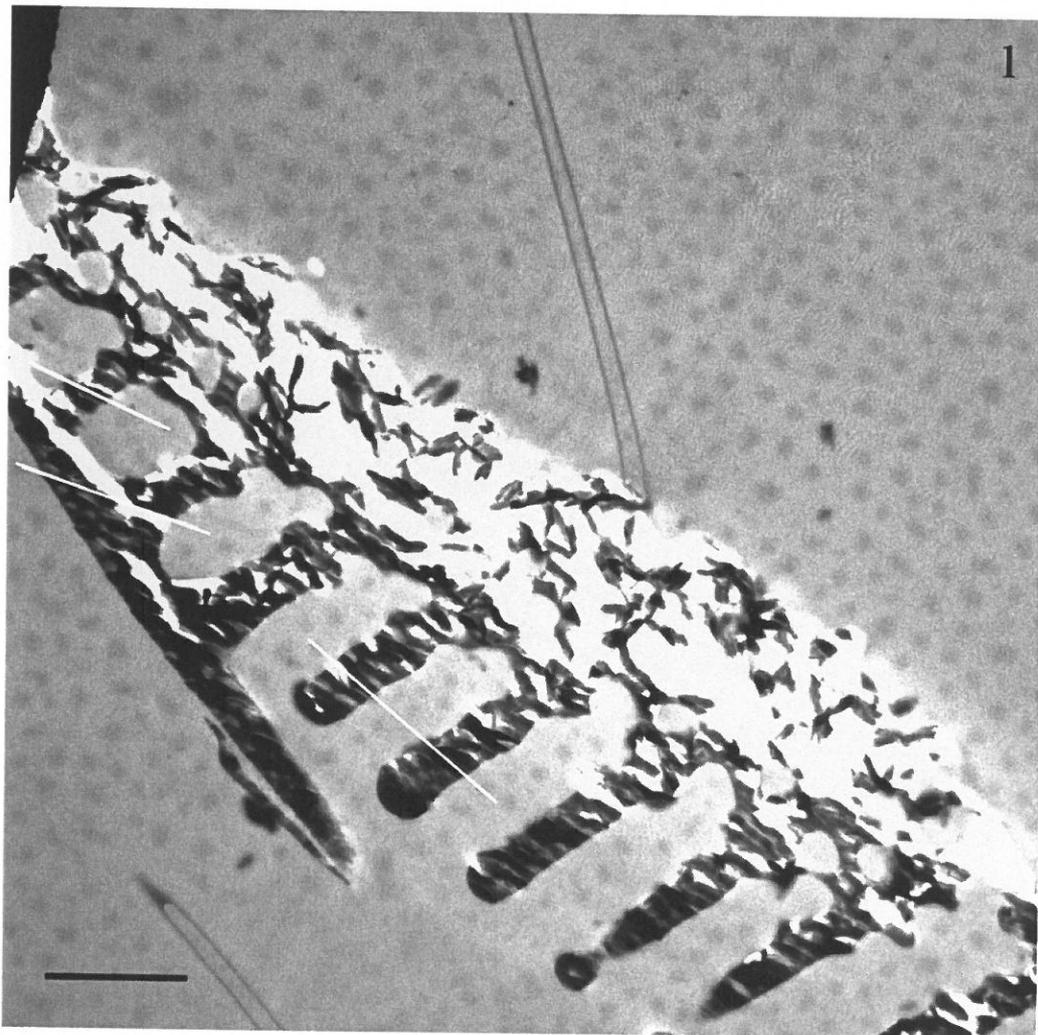
1 verschiedene Bruchstücke; Skala = 200 nm

2 Detail aus 1; Spitzen an Ende eines Bruchstücks; die Kugeln, aus denen das Material besteht, sind erkennbar; Skala = 100 nm

3 Zellwände sind in Blöcke zerbrochen; Skala = 500 nm

4 Sehr dünne Bruchstücke (Plättchen) überlagern sich gegenseitig; Skala = 500 nm

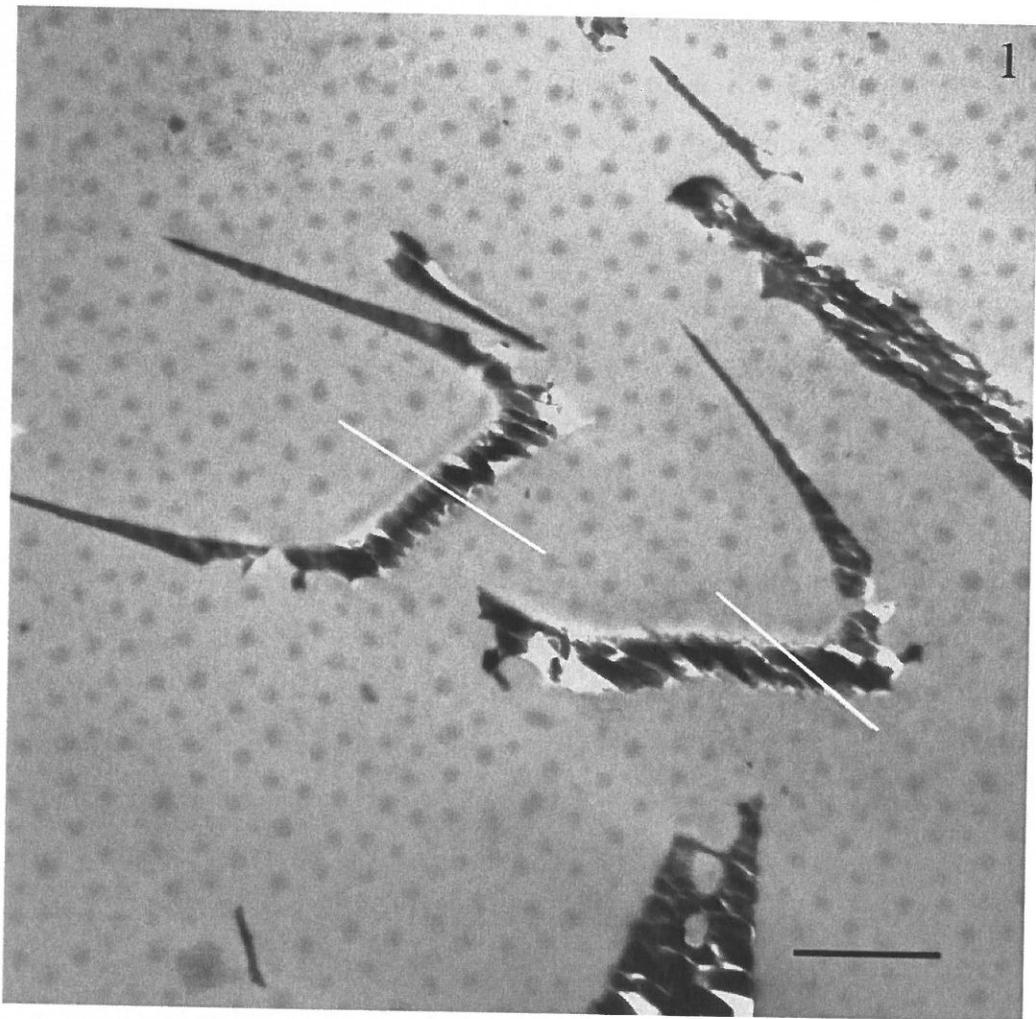
**Tafel 10**  
TEM, Sedimentprobe



1 Die weißen Linien markieren unterschiedliche Bruchrichtungen innerhalb einer Zelle von *F. kerguelensis*; Skala = 2  $\mu\text{m}$

**Tafel 11**

TEM, Kultur von *F. kerguelensis*



1 Die weißen Linien markieren Unterschiede in den Bruchrichtungen von zwei verschiedenen Zellen; Skala = 2  $\mu\text{m}$

## 4. Diskussion

### 4.1. Rasterelektronenmikroskopie

Die aufgeraute Struktur der Diatomeenschalen, die in der Sedimentprobe vorkommt (Tafel 3, Bild 4; Tafel 2, Bild 2), tritt auch in anderen Publikationen sowohl bei limnischem (Flower 1993) als auch bei marinem sedimentären Material (Tiffany & Hernández-Becerril 2005) auf. Dieser Effekt ist vermutlich auf das Alter der Proben, also die Lösung des Silikats, zurückzuführen.

Die glatten Oberflächen vieler Bruchflächen in der Sedimentprobe (Tafel 1, Bild 4) sind möglicherweise beim Auftragen der Probe auf die Probenteller entstanden. Durch die Ausübung von Druck sind dabei vermutlich einige Zellen zerbrochen, so dass frische Bruchflächen entstanden sind, an denen noch keine Auflösungsprozesse stattfinden konnten. Daher treten die Strukturen in diesen Bereichen nicht so deutlich hervor. Crawford et al. 2001 wiesen allerdings an frischen Bruchflächen von *Pinnularia viridis* Konglomerate von einzelnen Kugeln nach, es können also auch in frischen Bruchflächen Strukturen sichtbar sein.

Bei einer der zentralen Zellen gibt es eine Oberflächenschicht, die eindeutig andere Eigenschaften hat als das restliche Material dieser und auch aller anderen Zellen (Tafel 3, Bild 3). Es handelt sich um eine sehr dünne, glatte und scheinbar recht dichte Schicht. Möglicherweise ist sie mechanisch gesehen sehr stabil und erfüllt somit eine Schutzfunktion. Wenn diese Schicht sowohl an der Ober- als auch der Unterseite der Zellwand vorkommt, könnte sich eine Funktionsweise ähnlich wie bei einem Doppel-T-Träger ergeben. Des Weiteren scheint sie vor Auflösung gut geschützt zu sein, da sie im Gegensatz zum restlichen Zellwandmaterial keine aufgeraute Struktur aufweist. Demnach könnte es sich also auch um einen Schutz vor der Auflösung der Zellwand bei

der lebenden Zelle handeln. Warum diese Oberflächenschicht in keiner anderen Zelle sichtbar war, ist ungeklärt.

Bei *F. kerguelensis* waren Strukturen innerhalb der Bruchflächen andeutungsweise zu erkennen, aber nicht eindeutig nachweisbar (Tafel 2, Bild 3-4). Die Annahme, dass Diatomeenschalen aus anisotropem Material aufgebaut sind und demnach Strukturen wie Schichten oder Fasern aufweisen müssten, konnte also mittels Rasterelektronenmikroskopie für diese Art nicht zweifelsfrei belegt werden. Es ist allerdings möglich, dass die Strukturen im Aufbau von *F. kerguelensis* so fein sind, dass die Auflösung des Rasterelektronenmikroskops nicht hoch genug war, um sie eindeutig nachweisen zu können.

Die Tatsache, dass sich der Innenbereich der Zellwand im Bereich der Poren häufig schneller auflöst als der Rest der Zellwand zeigt, dass bei *F. kerguelensis* in verschiedenen Bereichen der Zelle Unterschiede in den Materialeigenschaften auftreten. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich sehr gering und es ist nicht geklärt, ob das Material, das sich schneller auflöst, auch gegenüber mechanischen Belastungen weniger stabil ist. Das wäre allerdings im Einklang mit dem FE-Modell von *F. kerguelensis*, in dem die Belastung der Zelle im Bereich der Poren im Vergleich zu den Rippen relativ gering ist. Demzufolge ist es nicht notwendig, in diesen Bereichen ebenso dichtes Material einzusetzen wie in den stark belasteten Gebieten. So kann bei der Morphogenese möglicherweise Energie gespart werden und die Art kann sich, wenn genügend Nährstoffe vorhanden sind, schneller vermehren.

Welche Funktion die Erhebungen auf den Rippen, die bei *F. kerguelensis* in unterschiedlichem Ausmaß auftreten können (Tafel 2, Bild 3-4; Tafel 3, Bild 4), ausüben, ist fraglich. Sie werden jedenfalls nur unter bestimmten Bedingungen ausgebildet, sind also nicht unbedingt notwendig für das Überleben der Zelle. Ein entscheidender Faktor für die Ausbildung der Erhebungen könnte das Silikatangebot sein, oder sie werden nur bei hohem

Fraßdruck ausgebildet, um dann zusätzliche Stabilität zu gewährleisten. Ein ähnliches Prinzip findet man bei Daphnien, die bei starkem Fraßdruck einen Stachel am Kopf ausbilden können, der dann zur Verteidigung dient (Walls et al. 1997, Dzialowski et al. 2003). Ob die Erhebungen die Stabilität der Silikatschale tatsächlich zusätzlich erhöhen, könnte mit Hilfe weiterer FE-Modelle überprüft werden.

Im Gegensatz zu *F. kerguelensis* wiesen viele Zellen von *T. antarctica*, sowie einige zentrische Zellen, eindeutig Schichten innerhalb ihrer Zellwand auf (Tafel 1, Bild 1-3; Tafel 3, Bild 1-2). Sie erfüllen vermutlich eine mechanische Funktion, d.h. sie bewirken, dass die Festigkeit des Silikats deutlich gesteigert wird.

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde nicht untersucht, woraus die verschiedenen Schichten bestehen. Da Diatomeenschalen zu mehr als 97% aus Silikat und nur zu einem entsprechend sehr geringen Anteil an organischem Material bestehen (Noll et al. 2002), handelt es sich wahrscheinlich um Schichten aus Silikat, zwischen denen sich sehr dünne Lagen aus organischem Material befinden. Ein solcher Aufbau ist auch von Muschelschalen bekannt (Mayer 2005).

Zusammenfassend lässt sich nach der Rasterelektronenmikroskopie festhalten, dass bei *T. antarctica* sowie einigen zentrischen Zellen eindeutig Schichten nachgewiesen werden konnten. Diese entsprechen in jeder Hinsicht den Erwartungen und lassen den Schluss zu, dass diese Arten nicht ausschließlich amorphes Silikat für ihren Schalenaufbau verwenden. Bei *F. kerguelensis* waren die Ergebnisse nicht so eindeutig, aber es traten hier Unterschiede in den Materialeigenschaften innerhalb von verschiedenen Bereichen der Zellen auf, was ebenfalls gegen durchgängig amorphes bzw. isotropes Material spricht.

#### 4.2. Transmissionselektronenmikroskopie

Da im TEM keine bemerkenswerten Unterschiede zwischen der Sedimentprobe und der Kultur von *F. kerguelensis* auftraten, kann davon ausgegangen werden, dass im Sedimentmaterial wie erwartet noch keine diagenetischen Prozesse eingesetzt haben, die das Material verändert haben könnten. Dementsprechend handelt es sich bei den Schichten, die im REM zu sehen waren, vermutlich nicht um Abbauartefakte, sondern um Strukturen, die innerhalb der Diatomeenschalen tatsächlich vorhanden sind. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass sie erst durch beginnende Abbauprozesse sichtbar werden. Dieser Effekt wurde für Korallen bereits nachgewiesen (Perrin & Cuif 2001).

In den hier untersuchten Proben wurde beobachtet, dass sich die Zellwände der Diatomeen aus Kugeln zusammensetzen (Tafel 7, Bild 2; Tafel 9, Bild 2). Dieser Aufbau des Silikats in Diatomeenschalen wurde bereits in mehreren Publikationen beschrieben (Helmcke 1961, Crawford et al. 2001, Wetherbee et al. 2004). Er kommt dadurch zustande, dass das Silikat bei der Morphogenese in Form von kleinen Kugeln ausgefällt wird, die dann zur Schale zusammengesetzt werden (Kröger et al. 1999).

Bei der Untersuchung der verschiedenen Bruchmuster und -Stücke wurden einige interessante Beobachtungen gemacht, die Hinweise auf den Aufbau der Diatomeenschalen liefern. So sind an den Rändern einiger Bruchstücke Strukturen zu sehen (Tafel 6, Bild 2), bei denen es sich um Schichten handeln könnte. Dagegen spricht jedoch, dass sie innerhalb der verschiedenen Zellen unterschiedlich orientiert sind. Demnach würden die Schichten nicht in allen Zellen die gleiche Richtung aufweisen und damit ist auch ihre mechanische Wirksamkeit in Frage gestellt. Daher erscheint es plausibler, dass diese Strukturen beim Zersplittern entstehen oder dass es sich um Unebenheiten im Material wie die kugelförmigen Partikel, aus denen die Schalen zusammengesetzt sind, handelt, und dass kein weiterer Zusammenhang mit

dem Aufbau der Diatomeenschalen besteht. Dafür spricht auch, dass ähnliche Strukturen bei transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen von Glas nachgewiesen wurden (Holzhüter et al. 2005).

Die Schalen der Kieselalgen zerbrechen beim Schneiden häufig muschelrig. Dies zeigt sich sowohl in den hier untersuchten Proben (Tafel 5, Bild 1, 4; Tafel 8, Bild 1) als auch in vielen Beispielen in der Literatur (z.B. Edgar & Pickett-Heaps 1984, van de Meene & Pickett-Heaps 2002, van de Meene & Pickett-Heaps 2004). Auch Radiolarien, das sind einzellige planktische Protozoen die ebenfalls ein Silikatgerüst besitzen, sowie die Silikatnadeln bestimmter Schwämme brechen muschelrig (Hurd 1983, Holzhüter et al. 2005). Ein besonders interessanter Fall ist das Exoskelett der Seeigel. Es besteht aus monokristallinem Calcit und bricht muschelrig, obwohl anorganische Calcite normalerweise entlang einer bestimmten Achse spaltbar sind. Berman et al. 1988 zeigten, dass dieses abweichende Verhalten bei Seeiegeln auf die Anwesenheit von Proteinen zurückzuführen ist.

Ob Proteine auch beim muscheligen Bruch von Organismen mit Silikatschalen eine wichtige Rolle spielen, lässt sich zunächst nicht aufklären, da auch anorganische Silikate häufig muschelrig brechen. Beispiele hierfür sind Glas und Quarz, also ein amorphes Silikat und eines mit Kristallgitter. Allein anhand dieser Informationen kann also keine Aussage über den Aufbau der Diatomeenschalen gemacht werden.

Bei den Diatomeen kommen jedoch auch Bruchstücke mit anderer Geometrie vor, die sich nicht als muscheliger Bruch klassifizieren lassen. Dabei handelt es sich um Blöcke und sehr dünne Plättchen, die häufig in Form von Schichten auftreten (Tafel 4, Bild 1; Tafel 5, Bild 2-3; Tafel 6, Bild 3-4; Tafel 7 Bild 1, 3-4; Tafel 9, Bild 3-4;). Bei Dawson (1973) zerfiel die Zellwand der Diatomee *Gomphonema parvulum* in 150 – 200 nm große Blöcke. Sie führte das Zerbrechen der Zellwand ebenfalls auf das Schneiden zurück und nahm an, dass die Blöcke nicht die eigentliche Struktur des Silikats widerspiegeln.

Im Vergleich mit den Ergebnissen meiner Untersuchungen lässt sich ähnliches festhalten: Welche Form an Bruchstücken auftritt, hängt offenbar stark von der Schnittrichtung und möglicherweise auch von der Dicke der Zellwand ab. Das Auftreten der verschiedenen Bruchstücke könnte allerdings ein Hinweis auf Anisotropie sein, da bei einem isotropen Material keine Unterschiede im Bruchverhalten auftreten können.

Die Plättchen erwecken häufig den Eindruck sich überlagernder Schichten (Tafel 5, Bild 2-3; Tafel 6, Bild 3-4; Tafel 9, Bild 4). Sie weisen jedoch je nach Lage der Zelle im EPON unterschiedliche Orientierungen auf, es liegt also vermutlich eine starke Abhängigkeit von der Schnittrichtung vor. Daher kann zu diesem Zeitpunkt keine genauere Aussage darüber gemacht werden, ob Schichten oder andere Strukturen innerhalb der Diatomeenschalen zu dieser Bruchform führen.

In den Seitenwänden einiger Zellen liegen außerdem Stapel aus rechteckigen Bruchstücken vor (Tafel 7, Bild 1, 3-4). Bei diesen Stapeln handelt es sich möglicherweise um übereinander liegende Schichten, wobei dann jedoch die Orientierung der Schichten anders ist als erwartet. Dennoch könnte sich eine mechanisch sinnvolle Struktur ergeben, wenn man das gesamte System aus nebeneinander liegenden Stapeln betrachtet: Die Stapel könnten sich bei einer Belastung, die zum Durchbiegen der Zelle führt, ähnlich wie ein Fächer verhalten und somit zu einer höheren Flexibilität und Belastbarkeit beitragen. Die nebeneinander liegenden Stapel könnten dabei wie Schichten wirken und hätten dann auch die erwartete Orientierung. Eine vergleichbare Struktur und Wirkungsweise ist mir von anderen Organismen jedoch nicht bekannt.

Die meisten Zellen weisen eine einheitliche Bruchrichtung auf, es kommt allerdings auch vor, dass es innerhalb einer Zelle unterschiedliche Bruchrichtungen gibt (Tafel 10, Bild 1). Da jedoch die Schnittrichtung für alle Zellen gleich ist, müsste auch die Bruchrichtung immer gleich sein, wenn es sich bei den Diatomeenschalen um amorphes Material handeln würde. Solche

Unterschiede innerhalb einer Zelle deuten darauf hin, dass in den verschiedenen Bereichen der Zelle Materialien mit unterschiedlichen Eigenschaften eingesetzt werden.

In Bild 1 auf Tafel 10 treten Unterschiede in der Bruchrichtung zwischen den Rippen und den Seitenwänden einer Zelle von *F. kerguelensis* auf. Außerdem bestehen Unterschiede zwischen den Rippen in der Mitte und am Rand der Zelle. Demnach müssen in diesen Zellbereichen unterschiedliche Materialien verwendet werden. Bemerkenswert ist, dass die verschiedenen Bruchrichtungen in den Bereichen auftreten, die auch im FE-Modell unterschiedlich stark belastet werden. Das spricht dafür, dass die Diatomeen dazu in der Lage sind, die Materialeigenschaften der Zellwand an die Belastung, die an einer bestimmten Stelle zu erwarten ist, anzupassen. Materialunterschiede sind auch auf Bild 1 in Tafel 5 zu erkennen. Diese Zelle aus der Kultur von *F. kerguelensis* weist in den meisten Bereichen muscheligen Bruch auf, wobei im unteren Bildbereich auch Verbindungen zwischen Bruchstücken auftreten, im oberen Bildbereich kommen jedoch sehr untypische Strukturen vor. In diesem Zellbereich erfolgte kein eindeutiger Bruch wie in den übrigen Zellen, das Material wirkt dadurch deutlich weicher. Wodurch die unterschiedlichen Materialeigenschaften innerhalb einer Zelle zustande kommen, wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht. Möglicherweise bestehen lediglich in der Dichte des Materials Unterschiede, d.h. in Bereichen der Zellwand, in denen hohe Belastungen zu erwarten sind, werden die ausgefällten Silikatkugeln besonders dicht gepackt. Es können allerdings auch unterschiedliche Mengen an anderen Ionen wie Aluminium oder Eisen für die Unterschiede verantwortlich sein, oder die Menge an organischem Material variiert. Letzteres erscheint besonders für die Zelle mit dem weicheren Material wahrscheinlich (Tafel 5, Bild 1). Eventuell wird die Bruchrichtung auch durch Strukturen wie z.B. Fasern beeinflusst, die bei diesen Untersuchungen nicht nachgewiesen wurden.

Es kommt auch vor, dass verschiedene Zellen unterschiedliche Bruchrichtungen aufweisen (Tafel 11, Bild 1). In diesem Fall kann es beim Schneiden zu einer leichten Verschiebung der Bruchstücke einer der Zellen gekommen sein. Dass das Verschieben von einzelnen Bruchstücken möglich ist, sieht man besonders deutlich in Bild 1 auf Tafel 6. Hier wurde das große Bruchstück aus dem EPON herausgehoben, seine Umrisse sind darin aber noch eindeutig zu erkennen. Die Ursache für die unterschiedlichen Bruchrichtungen kann jedoch auch darin liegen, dass die Zellen in verschiedenen Winkeln angeschnitten wurden und aufgrund vorhandener Strukturen unterschiedlich auf das Schneiden reagiert haben.

Einige Zellen weisen im TEM einen Bruch in Form von Schichten auf (Tafel 4, Bild 3-4; Tafel 8, Bild 2-4). Die Schichtdicke liegt dabei mit ca. 200 nm etwa im Bereich der Schichten, die bei der Rasterelektronenmikroskopie bei *T. antarctica* sowie einigen zentralen Zellen deutlich erkennbar waren. Da sie im REM für *F. kerguelensis* jedoch nicht eindeutig nachweisbar waren und in der Sedimentprobe bei der Transmissionselektronenmikroskopie nicht festgestellt werden konnte, bei welchen Arten die Schichtung auftrat, kann nicht mit letzter Sicherheit belegt werden, dass bei der Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie die gleichen Strukturen nachgewiesen wurden.

Das Auftreten von Schichten bei der Transmissionselektronenmikroskopie zeigt aber in jedem Fall, dass es bestimmte Ebenen im Aufbau der Diatomeen gibt, entlang derer das Silikat spaltbar ist. Dies ist jedoch eine Eigenschaft, die isotropes Material nicht hat, d.h. die Diatomeenschalen können nicht ausschließlich aus amorphem Material aufgebaut sein.

Ein ähnliches Verhalten findet man bei Diamant. Er ist spaltbar, wenn er im richtigen Winkel angeschnitten wird (also entlang bestimmter Ebenen) und bricht ansonsten muschelartig (Matthes 1987). Es ist aber natürlich nicht anzunehmen, dass die Struktur der Zellwand von Diatomeenschalen mit dem

Kristallgitter des Diamanten vergleichbar ist. Hier kommt dieses Verhalten vermutlich durch die Grenzflächen, die im REM z. T. gut sichtbar waren, zustande.

Im Zusammenhang mit den Ergebnissen der Rasterelektronenmikroskopie erscheint es nahe liegend, dass sich im Schalenaufbau der Diatomeen sehr dünne Schichten aus organischem Material mit dickeren Silikatschichten abwechseln. Zur Überprüfung dieser Vermutung könnten in weiterführenden Untersuchungen Verfahren wie Rasterkraftmikroskopie oder Hochauflösungs-Transmissionselektronenmikroskopie zum Einsatz kommen.

Insgesamt betrachtet konnte mit der Transmissionselektronenmikroskopie zwar nicht eindeutig nachgewiesen werden, dass die Diatomeen Schichten in ihrem Schalenaufbau aufweisen. Es wurde jedoch gezeigt, dass die Diatomeenschalen entgegen der bisherigen Annahmen (Kamatani 1971, Vrieling et al. 2001) nicht aus amorphem Material bestehen können. Stattdessen treten innerhalb einer Zelle Materialunterschiede auf, die das Bruchbild beeinflussen. Um was für Unterschiede es sich dabei handelt, und ob dabei auch Strukturen wie Schichten oder Fasern eine Rolle spielen, konnte im Rahmen dieser Diplomarbeit nicht geklärt werden. Hier sind weiterführende Untersuchungen mit ergänzenden Methoden wie Rasterkraftmikroskopie oder Hochauflösungs-Transmissionselektronenmikroskopie notwendig.

#### 4.3. Betrachtung der Arten *F. kerguelensis* und *T. antarctica*

Die Untersuchung von *F. kerguelensis* und *T. antarctica* mittels Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie lieferte einige unterschiedliche Ergebnisse für die beiden Diatomeenarten. Ein Hauptgrund hierfür ist, dass die Artbestimmung bei der Transmissionselektronenmikroskopie schwierig war. Daher können keine konkreten Aussagen für das Verhalten von *T. antarctica* beim Schneiden gemacht werden.

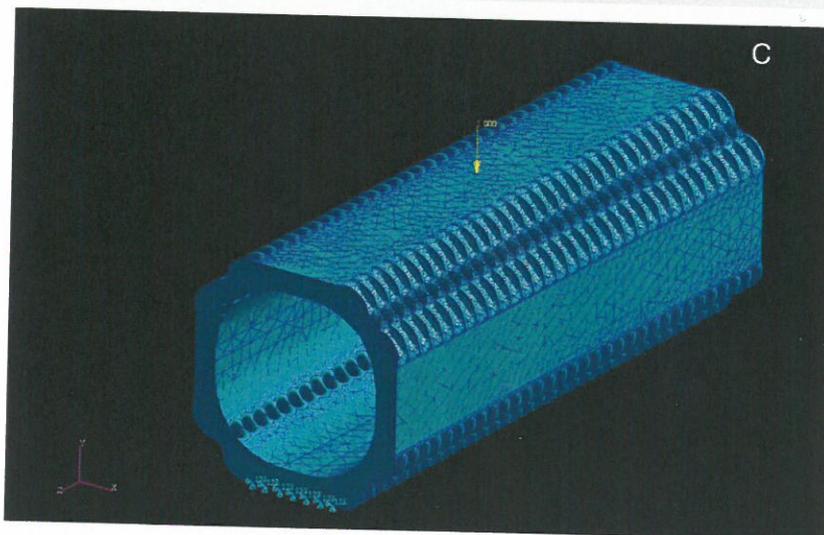
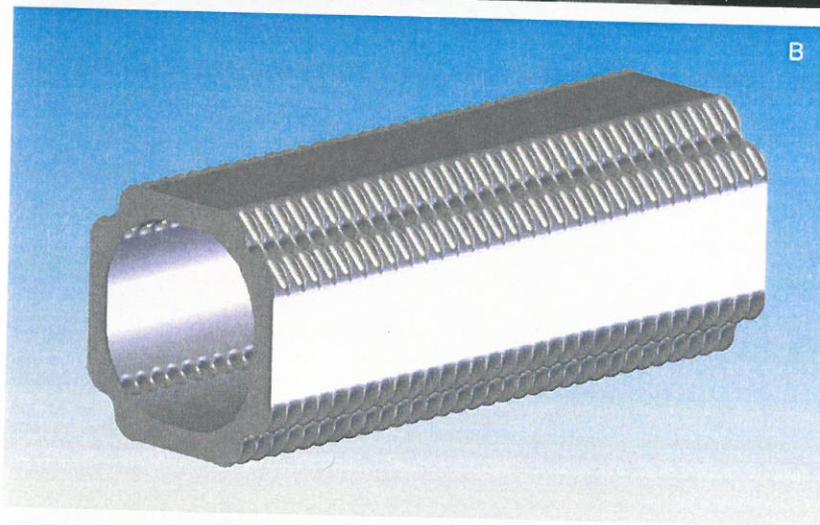
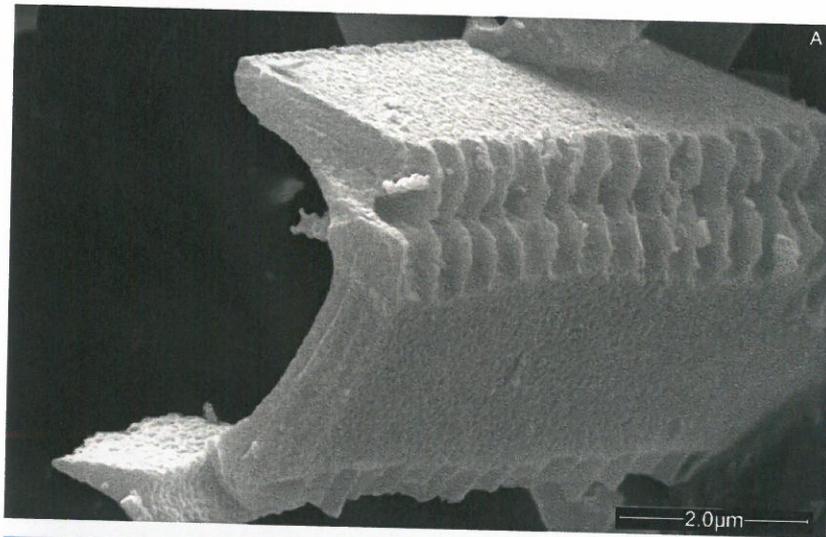
Für diese Art konnten im REM allerdings eindeutig Schichten nachgewiesen werden. Dies führt zu der Annahme, dass die Diatomeenschalen aus Schichten aus amorphem Silikat mit einer Dicke von ca. 200 nm im Wechsel mit sehr dünnen organischen Schichten bestehen.

Zur Unterstützung dieser Annahme wurde in Zusammenarbeit mit Roman Mielke, einem Maschinenbau-Studenten der FH Wismar, ein FE-Modell für *T. antarctica* erstellt, das die Verteilung der Normalspannung bei Ausübung von punktuellen Druck auf die Zelle simuliert. Dazu wurde zunächst auf der Grundlage einer rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme von *T. antarctica* ein Modell eines Stücks der Schale erstellt (Abb. 3 A, B). Anschließend wurde das Modell in tetraederförmige Elemente zerlegt und eine punktuelle, in y-Richtung wirkende Kraft simuliert (Abb. 3 C). Zur Auswertung wurden die Normalspannungen in x-, y- und z-Richtung betrachtet (Abb. 3 D – F). Dabei wurde deutlich, dass die Spannung in y-Richtung auf ein sehr kleines Gebiet verteilt ist. Im Vergleich dazu sind die Spannungen in x- und vor allem in z-Richtung auf deutlich größere Flächen verteilt. Das Modell zeigt also die erwarteten Spannungsverteilungen. Das bedeutet, dass ein Aufbau aus Schichten eine optimale Nutzung des Materials für die Diatomeenschalen bedeuten würde.

Für *F. kerguelensis* wurden sowohl bei der Raster- als auch bei der Transmissionselektronenmikroskopie einige Beobachtungen gemacht, die zeigen, dass innerhalb der Schalen dieser Art unterschiedliche Materialien

verwendet werden. Im REM war dies die Aushöhlung im Bereich der Poren, also in dem Bereich, der dem FE-Modell zufolge den geringsten Belastungen ausgesetzt ist. Bei der Transmissionselektronenmikroskopie wurde anhand von verschiedenen Bruchmustern und Unterschieden der Bruchrichtung innerhalb einer Zelle erneut nachgewiesen, dass die Zellen nicht überall das gleiche Material verwenden. Es wurde also gezeigt, dass die Diatomeenschalen nicht ausschließlich aus amorphem, isotropem Silikat bestehen können. Sie können daher in ihrer mechanischen Festigkeit optimal an ihre Umwelt angepasst sein. Anders ließen sich ihr Erfolg und ihre große ökologische Bedeutung auch nicht erklären.

Es bleibt zu klären, warum im REM keine Schichten für *F. kerguelensis* eindeutig nachgewiesen werden konnten. Ein Vergleich der Schalendicke beider Arten liefert eine mögliche Erklärung: Die Dicke der Schale von *T. antarctica* ist mit ca. 1  $\mu\text{m}$  sehr groß. Wenn beide Arten etwa gleich viele Schichten in ihrem Aufbau aufweisen, bedeutet das, dass die Schichten bei *F. kerguelensis* deutlich dünner sein müssen. Weist diese Art zusätzlich mehr Schichten auf als *T. antarctica*, um einen noch besseren Schutz zu gewähren, so ist möglicherweise die Auflösung des Rasterelektronenmikroskops nicht hoch genug, um sie noch eindeutig nachweisen zu können.



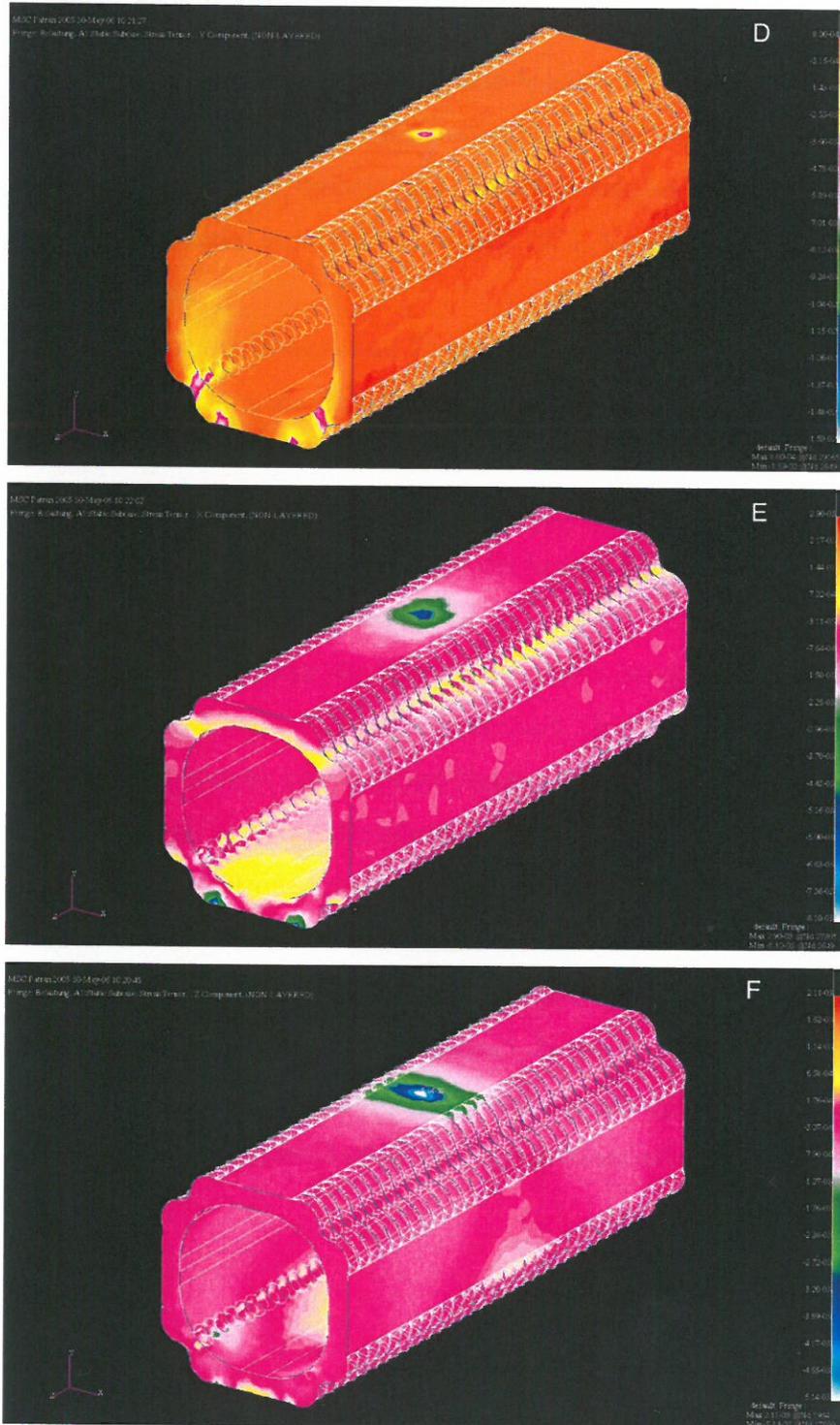


Abb. 3: A. REM-Aufnahme von *T. antarctica* aus der Sedimentprobe; B. Modell von *T. antarctica*; C. In Elemente zerlegtes Modell mit Darstellung der in y-Richtung wirkenden Druckkraft; D. Darstellung der Normalspannung in y-Richtung; E. Darstellung der Normalspannung in x-Richtung; F. Darstellung der Normalspannung in z-Richtung

#### 4.4. Schlussfolgerungen

In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Schalen der Diatomeen Eigenschaften aufweisen, die für isotropes Material untypisch sind. Demnach müssen die bisherigen Annahmen, wonach die Diatomeenschalen ausschließlich aus amorphem Material bestehen (Kamatani 1971, Vrieling et al. 2000), in Frage gestellt werden.

Die Ergebnisse der Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie deuten darauf hin, dass sich die Diatomeenschalen aus Silikatschichten mit einer Dicke von etwa 200 nm und sehr dünnen Schichten aus organischem Material zusammensetzen. Die einzelnen Silikatschichten sind dabei vermutlich amorph, da sich sonst die Ergebnisse der bereits genannten früheren Untersuchungen nicht erklären lassen.

Um den genauen Aufbau der Diatomeenschalen aufzudecken, sind weiterführende Untersuchungen erforderlich. Geeignete Methoden, die dabei zum Einsatz kommen können, sind Hochauflösungs-Transmissionselektronenmikroskopie und Rasterkraftmikroskopie. Mittels der Hochauflösungs-Transmissionselektronenmikroskopie können möglicherweise feinere Strukturen nachgewiesen werden. Auf älteren TEM-Aufnahmen sind z.B. Strukturen aus Schichten und Kugeln in einem Größenbereich von 10 nm zu sehen (Hamm, unpublizierte Ergebnisse), die im Rahmen dieser Arbeit nicht auftraten. Die Rasterkraftmikroskopie sollte es ermöglichen, einen eindeutigen Beweis für Schichten im Aufbau der Diatomeenschalen zu erbringen.

## 5. Zusammenfassung

Die Diatomeenschalen weisen typische Merkmale von Leichtbau (geringer Materialverbrauch bei hoher Stabilität/Festigkeit) auf und sind somit optimal an ihre Umwelt angepasst: Ihre Schale stellt so wenig Ballast wie möglich dar und bietet dennoch einen effektiven Schutz vor Fressfeinden, d.h. vor mechanischen Belastungen.

Bei einer solchen Belastung der Zelle treten innerhalb bestimmter Elemente der Schale einseitig gerichtete Kräfte auf. Da die Diatomeenschalen im allgemeinen sehr gut daran angepasst sind, diversen mechanischen Belastungen standzuhalten (z.B. im Bereich der Raphe), wird erwartet, dass sie auch daran angepasst sind, diese einseitigen Belastungen optimal abzufangen. In diesem Fall müssten die Diatomeenschalen anisotrope Eigenschaften besitzen und Nanostrukturen wie Schichten oder Fasern aufweisen. Das würde jedoch bedeuten, dass die Diatomeen nicht, wie bisher angenommen, aus isotropem Material bestehen können.

Um dies zu überprüfen, wurde eine Sedimentprobe, die hauptsächlich die beiden antarktischen Diatomeenarten *Fragilariopsis kerguelensis* und *Thalassiothrix antarctica* enthielt, im Raster- und Transmissionselektronenmikroskop auf den Aufbau ihrer Schalen hin untersucht. Zum Vergleich wurde an einer Kultur von *F. kerguelensis* Transmissionselektronenmikroskopie durchgeführt.

Sowohl bei der Raster- als auch bei der Transmissionselektronenmikroskopie wurden Beobachtungen gemacht, die zeigen, dass die Diatomeenschalen nicht wie bisher angenommen aus amorphem Material bestehen können. Am REM konnten für *T. antarctica* und einige zentrische Zellen Schichten nachgewiesen werden. Für *F. kerguelensis* konnten solche Schichten nicht eindeutig nachgewiesen werden, eine häufig auftretende Aushöhlung der Zellwand im Bereich der Poren bei dieser Art lieferte jedoch einen Hinweis darauf, dass

innerhalb einer Diatomeenschale unterschiedliche Materialien verwendet werden. Solche Unterschiede könnten durch die Dichte der Kugeln, aus denen die Diatomeenschalen zusammengesetzt sind, oder den Gehalt an anorganischen oder organischen Substanzen zustande kommen.

Bei der Transmissionselektronenmikroskopie traten diverse Formen an unterschiedlichen Bruchstücken auf, die teilweise auch über Auswüchse miteinander verbunden waren. In manchen Zellen erfolgte der Bruch auch in Form von Schichten, die in ihrer Dicke und Orientierung keine Unterschiede zu den Schichten der Rasterelektronenmikroskopie aufweisen. Ob es sich tatsächlich um die gleichen Schichten handelt, konnte jedoch nicht zweifelsfrei geklärt werden. Das Auftreten der verschiedenen Bruchstücke zeigt allerdings, dass die Diatomeenschalen nicht aus isotropem Material bestehen können. Zusätzlich kamen innerhalb mancher Zellen Unterschiede in der Bruchrichtung vor, d.h. diese Bereiche müssen unterschiedliche Materialeigenschaften aufweisen.

Der genaue Aufbau der Diatomeenschalen konnte nicht mit letzter Sicherheit aufgeklärt werden, es ist jedoch wahrscheinlich, dass sie sich aus Schichten aus amorphem Silikat mit einer Dicke von höchstens 200 nm im Wechsel mit sehr dünnen Schichten aus organischem Material zusammensetzen.

Diese Untersuchungen haben gezeigt, dass die Diatomeenschalen nicht nur optisch schöne Formen aufweisen, sondern dass sie offensichtlich auch bis ins kleinste Detail daran angepasst sind, optimalen Schutz vor Fressfeinden zu bieten. Es sind weitere Untersuchungen notwendig, um den genauen Aufbau der Diatomeenschalen aufzuklären und die mechanische Wirkungsweise des Aufbaus zu verstehen.

## 6. Literatur

- Askeland, D. R. (1996). Materialwissenschaften – Grundlagen – Übungen – Lösungen; Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg, 788 S.
- Berman, A., Addadi, L. & Weiner, S. (1988). Interactions of sea-urchin skeleton macromolecules with growing calcite crystals – a study of intracrystalline proteins. *Nature* 331(6156): 546-548
- Cox, E. J. (1999). Variation in patterns of valve morphogenesis between representatives of six biraphid diatom genera (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology* 35: 1297-1312
- Crawford, S. A., Higgins, M. J., Mulvaney, P. & Wetherbee, R. (2001). Nanostructure of the diatom frustule as revealed by atomic force and scanning electron microscopy. *Journal of Phycology* 37: 543-554
- Davidson, A. T., Bramich, D., Marchant, H. J. & McMinn A. (1994). Effects of UV-B irradiation on growth and survival of Antarctic marine diatoms. *Marine Biology* 119: 507-515
- Dawson, P. A. (1973). Observations on the structure of some forms of *Gomphonema parvulum* Kütz. II. The internal organization. *Journal of Phycology* 9: 165-175
- Dzialowski, A. R., Lennon, J. T., O'Brian, W. J. & Smith, V. H. (2003). Predator-induced phenotypic plasticity in the exotic cladoceran *Daphnia lumholtzi*. *Freshwater Biology* 48(9): 1593-1602

- Edgar, L. A. & Pickett-Heaps, J. D. (1984). Valve morphogenesis in the pennate diatom *Navicula cuspidata*. *Journal of Phycology* 20: 47-61
- Flower, R. (1993). Diatom preservation: experiments and observations on dissolution and breakage in modern and fossil material. *Hydrobiologia* 269/270: 473-484
- Fronzel, D. (1962). The Systems of Mineralogy of James Dwight Dana and Edward Salisbury Dana. Vol III: Silica Minerals. John Wiley and Sons, New York, 334 S.
- Gall, M. P., Boyd, P. W., Hall, J., Safi, K. A. & Chang H. (2001). Phytoplankton processes. Part 1: Community structure during the Southern Ocean Iron RElease Experiment (SOIREE). *Deep Sea Research II* 48: 2551-2570
- Hamm, C. E., Merkel, R., Springer, O., Jurkojc, P., Maier, C., Prechtel, K. & Smetacek, V. (2003). Architecture and material properties of diatom shells provide effective mechanical protection. *Nature* 421: 841-843
- Helmcke, J. G. (1961). Electron microscopy and algal structures: Versuch einer Gestaltsanalyse an Diatomeenschalen. *Recent Advances in Botany*: 216-221
- Holzhueter, G., Lakshminarayanan, K. & Gerber, T. (2005). Silica structure in the spicules of the sponge *Suberites domuncula*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 382: 1121- 1126

- Hurd, D. C. (1983). Physical and chemical Properties of siliceous skeletons. pp. 187-244 *in* Silicon geochemistry and biogeochemistry, S. R. Aston (Hrsgb.), Academic Press Inc. (London) LTD, 248 S.
- Janssen, M., Bathke, L., Marquardt, J., Krumbein, W. E. & Rhiel, E. (2001). Changes in the photosynthetic apparatus of diatoms in response to low and high light intensities. *International Microbiology* 4(1): 21-26
- Kaczmarska, I., Ehrmann, J. M. & Bates, S. S. (2001). A review of auxospore structure, ontogeny and diatom phylogeny. pp. 153-168 *in* Proceedings of the 16<sup>th</sup> International Diatom Symposium, A. Economou-Amilli (Hrsgb.), University of Athens, Greece
- Kamatani, A. (1971). Physical and chemical characteristics of biogenous silica. *Marine Biology* 8: 89-95
- Karp-Boss, L. & Jumars, P. A. (1998). Motion of diatoms in steady shear flow. *Limnology and Oceanography* 43(8): 1767-1773
- Kröger, N., Deutzmann, R. & Sumper, M. (1999). Polycationic peptides from diatom biosilica that direct silica nanosphere formation. *Science* 286: 1129 – 1132
- Kröger, N. & Sumper, M. (2004). The molecular basis of diatom biosilica formation. pp. 137-158 *in* Biomineralisation. Progress in biology, molecular biology and application, E. Bäuerlein (Hrsgb.), WILEY-VCH, Weinheim

- Mann, D. G. & Droop, S. J. M. (1996). Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms. *Hydrobiologia* 336: 19-32
- Markham, J. B. & Ryland, J. S. (1987). Function of the gizzard in Bryozoa. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 107: 21-37
- Mattheck, C. (1998). Design in nature. Learning from trees. Springer-Verlag, 276 S.
- Matthes, S. (1987). Mineralogie – Eine Einführung in die spezielle Mineralogie, Petrologie und Lagerstättenkunde. Springer-Verlag, 444 S.
- Mayer, G. (2005). Rigid biological systems as models for synthetic composites. *Science* 310: 1144-1147
- van de Meene, A. M. L. & Pickett-Heaps, J. D. (2002). Valve morphogenesis in the centric diatom *Proboscia alata* Sundstrom. *Journal of Phycology* 38: 351-363
- van de Meene, A. M. L. & Pickett-Heaps, J. D. (2004). Valve morphogenesis in the centric diatom *Rhizosolenia setigera* (Bacillariophyceae, Centrales) and its taxonomic implications. *European Journal of Phycology* 39(1): 93-104
- Michels, J. & Schnack-Schiel, S. B. (2005). Feeding in dominant Antarctic copepods – does the morphology of the mandibular gnathobases relate to diet? *Marine Biology* 146: 483-495

- Milligan, A. J. & Morel, F. M. M. (2002). Proton buffering role for silica in diatoms. *Science* 297: 1848-1850
- Moore, J.K. & Villareal T. A. (1996). Size-ascent relationships in positively buoyant marine diatoms. *Limnology and Oceanography* 41(7): 1514-1520
- Noll, F., Sumper, M. & Hampp, N. (2002). Nanostructure of diatom silica surfaces and of biometric analogues. *Nano Letters* 2(2): 91-95
- Pahlow, M., Riebesell, U. & Wolf-Gladrow, D. (1997). Impact of cell shape and chain formation on nutrient acquisition by marine diatoms. *Limnology and Oceanography* 42(8): 1660-1672
- Perrin, C. & Cuif, J. P. (2001). Ultrastructural controls on diagenetic patterns of scleratinian skeletons: evidence at the scale of colony life-time. *Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Symposium on Fossil Cnidaria and Porifera*, *Bulletin of the Tohoku University Museum* 1: 201-209
- Raven, J. A. (1983). The transport and function of silicon in plants. *Biological Reviews* 58: 179-207

- Rhiel, E., Mörschel, E. & Wehrmeyer, W. (1985). Correlation of pigment deprivation and ultrastructural organization of thylakoid membranes in *Cryptomonas maculata* following nutrient deficiency. *Protoplasma* 129: 62-73
- Round, F. E., Crawford, R. M. & Mann, D. G. (1990). The diatoms. Biology & morphology of the genera. Cambridge University Press, Cambridge, 747 S.
- Smetacek, V. (1999). Diatoms and the ocean carbon cycle. *Protist* 150: 25-32
- Smetacek, V. (2001). A watery arms race. *Nature* 411: 745
- Smetacek, V., Klaas, C., Menden-Deuer, S. & Rynearson T. A. (2002). Mesoscale distribution of dominant diatom species relative to the hydrographical field along the Antarctic Polar Front. *Deep Sea Research II* 49: 3835-3848
- Smetacek, V., Assmy, P. & Henjes, J. (2004). The role of grazing in structuring Southern Ocean pelagic ecosystems and biogeochemical cycles. *Antarctic Science* 16(4): 541-558
- Sosman, R. B. (1965). The phases of silica. Rutgers University Press, New Brunswick, NJ, 388 S.
- Suh, H.-L. & Choi, S.-D. (1998). Comparative morphology of the feeding basket of five species of Euphausia (crustacea, Euphausiacea) in the western North Pacific, with some ecological considerations. *Hydrobiologia* 385: 107-112

- Sullivan, B. K., Miller, C. B., Peterson, W. T. & Soeldner, A. H. (1975). A scanning electron microscope study of the mandibular morphology of boreal copepods. *Marine Biology* 30: 175 – 182
- Tiffany, M. A. & Hernández-Becerril, D. U. (2005). Valve development in the diatom family Asterolampraceae H. L Smith 1872. *Micropaleontology* 51(3): 217-258
- Timmermans, K. R., van der Wagt, B. & de Baar, H. J. W. (2004). Growth rates, half-saturation constants, and silicate, nitrate and phosphate depletion in relation to iron availability of four large, open-ocean diatoms from the Southern Ocean. *Limnology and Oceanography* 49(6): 2141-2151
- Verity, P. G. & Smetacek, V. (1996). Organism life cycles, predation, and the structure of marine pelagic ecosystems. *Marine Ecology Progress Series* 130: 277-293
- Vermeij, G. J. (1993). *A natural history of shells*. Princeton University Press, 207 S.
- Vrieling, E. G., Gieskes, W. W. C. & Beelen, T. P. M. (1999). Silicon deposition in diatoms: control by the pH inside the silicon deposition vesicle. *Journal of Phycology* 35: 548-559

- Vrieling, E. G., Beelen T. P. M., van Santen, R. A. & Gieskes, W. W. C. (2000). Nanoscale uniformity of pore architecture in diatomaceous silica: a combined small and wide angle X-ray scattering study. *Journal of Phycology* 36: 146-159
- Walls, M., Ketola, L.-M., Ohra-Aho, P., Reinikainen, M. & Repka, S. (1997). Phenotypic plasticity of *Daphnia* life history traits: the roles of predation, food level and toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* 38(2): 353 – 364
- Wetherbee, R., Crawford, S. & Mulvaney, P. (2004). The nanostructure and development of diatom biosilica. pp. 177-194 *in* *Biom mineralisation. Progress in Biology, Molecular Biology and Application*, E. Bäuerlein (Hrsgb.), WILEY-VCH, Weinheim