Naturwissenschaft

Gregor Christoph Schwartze

Mikrobereichsanalytik an marinen Biomineralisationsprodukten

Copepoden des Südpolarmeeres und der Nordsee

Diplomarbeit

GRIN

BEI GRIN MACHT SICH IHR WISSEN BEZAHLT

- Wir veröffentlichen Ihre Hausarbeit, Bachelor- und Masterarbeit

- Ihr eigenes eBook und Buch - weltweit in allen wichtigen Shops

- Verdienen Sie an jedem Verkauf

Jetzt bei www.GRIN.com hochladen und kostenlos publizieren

GRIN

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek:

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de/ abrufbar.

Dieses Werk sowie alle darin enthaltenen einzelnen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsschutz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlages. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen, Auswertungen durch Datenbanken und für die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronische Systeme. Alle Rechte, auch die des auszugsweisen Nachdrucks, der fotomechanischen Wiedergabe (einschließlich Mikrokopie) sowie der Auswertung durch Datenbanken oder ähnliche Einrichtungen, vorbehalten.

Impressum:

Copyright © 2010 GRIN Verlag
ISBN: 9783640854110

Dieses Buch bei GRIN:

https://www.grin.com/document/168314

Gregor Christoph Schwartze

Mikrobereichsanalytik an marinen Biomineralisations-produkten

Copepoden des Südpolarmeeres und der Nordsee

GRIN Verlag

GRIN - Your knowledge has value

Der GRIN Verlag publiziert seit 1998 wissenschaftliche Arbeiten von Studenten, Hochschullehrern und anderen Akademikern als eBook und gedrucktes Buch. Die Verlagswebsite www.grin.com ist die ideale Plattform zur Veröffentlichung von Hausarbeiten, Abschlussarbeiten, wissenschaftlichen Aufsätzen, Dissertationen und Fachbüchern.

Besuchen Sie uns im Internet:

http://www.grin.com/

http://www.facebook.com/grincom

http://www.twitter.com/grin_com

Institut für Anorganische Chemie

Leibniz Universität Hannover

Diplomarbeit

zur Erlangung des akademischen Grades

Diplom-Chemiker (Dipl.-Chem.)

Mikrobereichsanalytik an marinen Biomineralisationsprodukten

vorgelegt von

Gregor Christoph Czelnik

2010

Diese Diplomarbeit wurde angefertigt an der

Leibniz Universität Hannover

Naturwissenschaftliche Fakultät

Institut für Anorganische Chemie

Arbeitskreis Analytische Chemie

in Kooperation mit dem

Alfred-Wegener-Institut

für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven,

der

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

Zoologisches Institut

Arbeitskreis Funktionelle Morphologie und Biomechanik

und der

Universität Leipzig

Fakultät für Physik und Geowissenschaften

Institut für Experimentelle Physik II

Abteilung Nukleare Festkörperphysik

Erstprüferin: Prof. Dr. rer. nat. Carla Vogt

Zweitprüfer: Prof. Dr. rer. nat. Bernd Hitzmann

Tag der Abgabe: 22. März 2010

Meiner kleinen Familie

Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. Carla Vogt für die Aufnahme in ihren Arbeitskreis und für die Überlassung des überaus interessanten Themengebietes.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Dr. Jan Michels vom Zoologischen Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel für die aktive und kollegiale Zusammenarbeit bedanken. Er hat mir wertvolle und einzigartige Einblicke in den marinen Mikrokosmos verschafft.

Bei Frau Prof. Dr. Sigrid Schiel und Herrn Prof. Dr. Boris Koch vom Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung in Bremerhaven bedanke ich mich für das zur Verfügung stellen vieler Interessanter mariner Proben.

Für die umfangreichen PIXE-Messungen am LIPSION in Leipzig möchte ich Herrn Dr. Jürgen Vogt meinen Dank aussprechen.

Herrn Prof. Dr. Bernd Hitzmann danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferats zu dieser Arbeit.

Dem gesamten Arbeitskreis Analytik der Leibniz Universität Hannover danke ich für die wertvolle Unterstützung, fachlicher wie mentaler Natur. Ich freue mich schon auf die nächsten Jahre mit Euch beim Kochen und Filme gucken.

Zudem möchte ich meiner Familie danken, die mich über die Jahre bemerkenswert unterstützt hat und jederzeit Verständnis dafür gehabt hat, wenn ich studienbedingt nur wenig Zeit für Sie hatte. Meinen Eltern, Rosa und Paul, danke ich für die liebevolle Obhut und die finanzielle Unterstützung Ohne Euch wäre mein Studium nicht möglich gewesen.

Zum Schluss möchte ich meiner eigenen kleinen Familie danken, die mir jederzeit zur Seite stand, auch wenn es mal schwierig wurde. Magnus, danke für deine uneingeschränkte Unterstützung bei allem, was ich tue.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung 4
1 Einleitung 7
2 Copepoden 10
2.1 Morphologie der Gnathobasen von Copepoden 10
2.2 Copepoden-Spezies 12
3 Angewandte Analysenverfahren 17
3.1 Mikroskopie 17
3.1.1 Lichtmikroskopie 17
3.1.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM) 19
3.2 Elementanalytik 25
3.2.1 Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA) 25
3.2.2 Elektronenstrahlmikroanalyse (ESMA) 31
3.2.3 Partikel-/ Protoneninduzierte Röntgenemissionsanalyse (PIXE) 33
3.2.4 Laserablations-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (LA-ICP-MS) 35
3.2.5 Optische Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-OES) 39
3.2.6 Methoden zur Herstellung tablettierter Referenzstandards für die Mikrobereichsanalytik 42
4 Experimenteller Teil und Ergebnisdiskussion 52
4.1 Präparation der mandibularen Gnathobasen 52
4.2 Instrumentelle Parameter 56
4.3 Spezies von Copepoden des Südpolarmeers 57
4.3.1 *Calanoides acutus* 57
4.3.2 *Calanus propinquus* 68
4.3.3 *Heterorhabdus* sp. 71
4.3.4 *Metridia gerlachei* 74
4.3.5 *Rhincalanus gigas* 77
4.4 Spezies von Copepoden der Nordsee 87
4.4.1 *Acartia tonsa* 87
4.4.2 *Centropages* sp. 91
4.4.3 *Temora longicornis* 94
4.5 Herstellung tablettierter Referenzstandards für die Mikrobereichsanalytik 97
4.5.1 Evaporation einer Suspension 99

4.5.2 Kopräzipitation ... 105
4.5.3 Bestimmung der Gehalte der hergestellten Referenzmaterialien mit der ICP-OES ... 108
4.6 LA-ICP-Massenspektrometrie an carbonatischen und copepodischen Proben ... 111
5 Abschlussdiskussion und Ausblick ... 115
6 Literaturverzeichnis ... 117
7 Anhang ... 123
7.1 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen ... 123
7.1.1 Spezies von Copepoden des Südpolarmeers ... 123
7.1.2 Spezies von Copepoden der Nordsee ... 141
7.2 Aufnahmen der PIXE ... 148
7.2.1 *Calanoides acutus*, Weibchen ... 148
7.2.2 *Calanoides acutus*, Männchen ... 149
7.2.3 *Rhincalanus gigas* ... 150
7.3 Aufnahmen und Spektren der EDX (ED-ESMA) ... 151
7.3.1 Spezies von Copepoden des Südpolarmeers ... 151
7.3.2 Spezies von Copepoden der Nordsee ... 187
7.4 Tablettierte Referenzstandards ... 199
7.4.1 Physikalische Eigenschaften ... 199
7.4.2 Elementgehalte ... 200
7.4.3 Verfahrensstandardabweichung, Verfahrensvariationskoeffizient, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32 645 und DIN 38 402.51 ... 207
7.5 Chemikalien und Geräte ... 209
7.5.1 Verwendete Chemikalien ... 209
7.5.2 Verwendete Geräte ... 209
Selbstständigkeitserklärung ... 211

1 Einleitung

Die Biomineralisation ist so alt wie das Leben auf der Erde selbst und die damit verbundene Fähigkeit von Organismen anorganische Materialien auf- bzw. einzubauen, ist seit jeher einem Evolutionsprozess unterworfen. Bis heute ist diese Fähigkeit von Labormethoden nicht erreicht worden. Reaktionen bei denen einzigartig kristallisierte Minerale synthetisiert werden oder die Synthese von Verbundstoffen sind nur zwei Beispiele [1]. Allein das Endoskelett des Menschen, die Exosklette von Diatomeen (Kieselalgen) oder die Mundwerkzeuge einiger Crustaceen (Krebstiere) verdeutlichen die Präzision mit der selbst einfache Organismen in der Lage sind mineralisierte Materialien zu synthetisieren [1-3]. Mithilfe der Bioakkumulation reichern sie kontrolliert anorganische Bestandteile im Körper an. Die Gründe für eine solche Anreicherung sind verschieden, resultieren aber immer in einer Optimierung von Materialeigenschaften gezielter Körperregionen [3]. Härte, mechanische Flexibilität, spezifisches Gewicht, Farbe und Haptik sind nur einige Materialeigenschaften, die hierbei eine immense Rolle spielen. Eine detaillierte Beschreibung von Struktur und Form bis in den Nanometerbereich hinein ist eine Grundvoraussetzung, um die Mechanismen in der Biomineralisation zu verstehen.

Selbst kleine marine Organismen besitzen die Gabe der gezielten Biomineralisation. Dabei bildet die Taxa der Copepoden eine der artenreichsten aquatischen Lebenswelten überhaupt. Heute sind über 10000 Copepodenspezies bekannt, die als Teil des Zooplanktons die Seen und Meere dieser Welt besiedeln [4]. Copepoden spielen innerhalb des marinen Zooplanktons eine entscheidende Rolle, da sie als Primärkonsumenten des Phytoplanktons die Nahrungsgrundlage vieler Meerestiere bilden [5]. Erkenntnisse über die Ernährungsweise der Copepoden innerhalb der pelagischen Nahrungskette können genutzt werden, um deren ökologische Bedeutung für die betreffende Region verstehen zu können [6].

Den Mundwerkzeugen der Copepoden fällt bei der Nahrungsaufnahme eine Schlüsselfunktion zu. Mithilfe der Mundwerkzeuge erzeugen die Copepoden Wasserströmungen, so dass Nahrung gezielt zur Mundöffnung der Tiere gelangt, die dann von den anliegenden Gnathobasen zermahlen oder aufgespießt wird und im Anschluss über die Mundöffnung der Copepoden aufgenommen wird [7]. Die Morphologie der mandibularen Gnathobasen ist dabei von der Nahrungsquelle der Tiere abhängig [8]. Die Gnathobasenmorphologie herbivorer, carnivorer oder omnivorer Copepoden unterscheidet sich dabei beträchtlich. Copepoden, die sich hauptsächlich von Phytoplankton, z.B. harten Diatomeen, ernähren, besitzen andere Gnathobasen als jene die sich nur von tierischen Organismen ernähren [9, 10]. Die mandibularen Gnathobasen der verschiedenen Copepoden unterscheiden sich zudem nicht nur durch ihre Morphologie, sondern auch in der elementaren und chemischen

Zusammensetzung des entsprechenden Biomaterials. Heute ist bekannt, dass in Abhängigkeit zur Nahrungsquelle viele Copepodenspezies gezielt Silizium in Form von Silikaten in den Zähnen ihrer Gnathobasen einlagern, was zu einer Stabilitätserhöhung dieser Bereiche führen soll [11]. Eine solche Silikateinlagerung ist bislang bei keiner anderen Crustaceengruppe bekannt [12]. Wenige Studien konnten bisher zeigen, dass auch andere Elemente (z.B. Kupfer und Zink) akkumuliert werden [13]. So sollen Kupfer und Zink die Einlagerung von Silizium als Kofaktoren beeinflussen [12]. Erhöhte lokale Konzentrationen sollen eine Stabilitätserhöhung der betreffenden Gnathobasen-Partien bewirken, so dass eine Aufnahme von harten Nahrungspartikeln (z.B. Diatomeen) erst ermöglicht wird, ohne dass die Zähne oder die Gnathobase bei der mechanischen Beanspruchung beschädigt werden [9, 13].

Um den Stellenwert solcher Einlagerungen für die Copepoden besser einordnen zu können, muss die Akkumulation solcher Elemente zuerst analytisch nachgewiesen werden. Viele der bereits bekannten Ergebnisse stützen sich auf qualitative Analysen [11-13]. Für ein gezieltes Verständnis der Vorgänge bei der Biomineralisation an den Gnathobasen der Copepoden ist jedoch eine quantitative Elementanalyse unerlässlich. Die Vielfalt der möglichen Analysenmethoden ist jedoch aufgrund der mikrometerskaligen Gnathobasen stark limitiert. Die zu erfüllenden Randbedingungen der eingesetzten Analysentechniken sind vor allem eine hohe laterale Auflösung und eine hohe Empfindlichkeit. Aufgrund der geringen Abmessung der Gnathobasen und den daraus resultierenden niedrigen Gewichten von teils nur wenigen Mikrogramm sind zudem Analysentechniken mit vorherigem nasschemischem Probenaufschluss (z.B. ICP-MS oder GF-AAS) ungeeignet. Zudem arbeiten solche Techniken nicht ortsaufgelöst und nicht zerstörungsfrei, so dass sie keine Rückschlüsse auf die Elementverteilung oder auf Konzentrationsgradienten der betrachteten Elemente innerhalb der Probe erlauben.

In der Vergangenheit wurden die verschiedensten Analysentechniken verwendet, deren Nachweisgrenzen allerdings stark begrenzt waren. Zur Analyse von Copepoden wurde u.a. die Rasterelektronenmikroskopie (REM) verwendet, oftmals in Verbindung mit einer Elektronenstrahlmikroanalyse (ESMA) bzw. einer energiedispersiven Röntgefluoreszenzanalyse (EDX) [12-14]. Zur Mikrobereichsanalyse an Biomineralisationsprodukten mariner Würmer wurde auch die Mikro-Röntgenfluoreszenzanalyse (µRFA) eingesetzt [15]. Die Nachweisgrenzen sind bei der µRFA niedriger als bei der ESMA/EDX, jedoch ist die laterale Auflösung im Vergleich deutlich schlechter. Sogar Röntgenbeugungsexperimente wurden durchgeführt [14, 15], alle jedoch vor dem Hintergrund der vergleichsweise moderaten Nachweisgrenzen.

Als Festkörper-Analysentechniken mit hoher Ortsauflösung und hoher Empfindlichkeit haben sich die Protonen-/ Partikelinduzierte Röntgenemissionsspektroskopie und die Laserablations-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (LA-ICP-MS) bewährt. Sie erreichen Nachweisgrenzen von wenigen µg/g [16-18] und darunter. Solche Techniken wurden bereits für einige Fragestellungen auf dem Gebiet der Biomineralisation eingesetzt. Um genaue quantitative Analysenergebnisse erhalten zu können, die eine hohe Wiederholrate gewährleisten, können tablettierte Referenzstandards hoher Homogenität verwendet werden, die der Probenmatrix spezifisch angepasst wurden [19, 20]. Diese sollen den eingesetzten Analysentechniken als Kalibrationsstandards dienen [21].

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Mikrobereichsanalyse an Gnathobasen und deren Zahnstrukturen von acht ausgewählten Copepodenspezies aus dem Südpolarmeer und der Nordsee. Hierfür sollen verschiedene Analysenmethoden entwickelt und miteinander verglichen werden. Zur Mikrobereichsanalyse an Gnathobasen werden in dieser Arbeit die Licht- und Rasterelektronenmikroskopie, die Elektronenstrahlmikroanalyse mit energiedispersiver Röntgendetektion und die Protonen-/ Partikelinduzierte Röntgenemissionsspektroskopie verwendet. Ferner sollte eine Methode entwickelt werden, um die Gnathobasen mithilfe der Laserablations-Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma untersuchen zu können. Im Anschluss sollen die Realisierbarkeit und die Grenzen dieser Methode in Bezug auf das vorliegende Analysenproblem diskutiert werden.

Zur Kalibrierung der vorgestellten Analysentechniken wurden tablettierte Referenzstandards verwendet. Die Entwicklung einer Herstellungsmethode für solche matrixangepassten, tablettierten Referenzstandards wird hier vorgestellt und angewendet.

2 Copepoden

Copepoden gehören zur Gruppe der Crustaceen (Krustentiere). Sie sind ein Hauptbestandteil des marinen Zooplanktons und bilden damit als Primärkonsumenten des Phytoplanktons einen Grundstein der Nahrungskette des marinen Ökosystems [5]. Das Zooplankton lässt sich in zwei Hauptgruppen einteilen, in die Protozoa (Einzeller) und die Metazoa (Vielzeller). Zu ersterer gehören u.a. Rhizopoda, heterotrophe Flagellaten und Ciliaten, zur zweiten Gruppe Rotatorien, Cladoceren und die hier gezeigten Copepoden [4]. Die Klasse der Copepoden lässt sich in zehn Ordnungen unterteilen. *Platycopioida*, *Calanoida*, *Mormonilloida*, *Poecilostomatoida*, *Siphonostomatoida*, *Misophrioida*, *Cyclopoida*, *Monstrilloida*, Harpacticoida und *Gelyelloida* [22]. Sie unterscheiden sich vor allem durch ihre unterschiedliche Körperform. *Calanoida* besitzen die längsten Antennen innerhalb der Klasse der Copepoden, die sie zur Fortbewegung als auch zur Sinneswahrnehmung verwenden. Ihr Vorderkörper und ihr Abdomen (Hinterleib) lassen sich gut voneinander trennen. Im Gegensatz dazu besitzen beispielsweise *Cyclopoida* und *Harpacticoida* relativ kurze Antennen und teils eine deutliche Körperdreiteilung [4]. Die in dieser Arbeit untersuchten Copepoden gehören der Klasse der *Calanoida* an.

Die Körper der Copepoden sind segmentiert. Neben dem ersten langen Antennenpaar besitzen sie weitere Extremitäten, wie beispielsweise ein verkürztes zweites Antennenpaar, Maxillen oder Maxillipeden. Copepoden bewegen sich hauptsächlich durch Schlagen ihrer Füße und Antennen fort. Ihre Lebensdauer beträgt im Durchschnitt zwischen 6 und 13 Monaten [23].

2.1 Morphologie der Gnathobasen von Copepoden

Die Gnathobasen (von Gnathos = altgriech. Kiefer) gehören zu einer Reihe von paarigen Mandibeln (Ober-/Unterkiefer bei Gliederfüßern) an der ventralen Seite der Copepoden. Sie liegen rechts- und linksseitig der Mundöffnung und dienen den Copepoden als Mundwerkzeuge [24]. Die Mandibeln setzen sich dabei aus verschiedenen Teilen zusammen. Wie in Abbildung 1 dargestellt, bestehen sie aus einer Basis, einem Exopoditen, einem Endopoditen und der bereits erwähnten Gnathobase mit angrenzender Coxa, die direkt am Körper der Tiere anliegt. An der Mundöffnung wird der distale Teil der Gnathobase teilweise vom Labrum überdeckt (vgl. Abb. 2) [25].

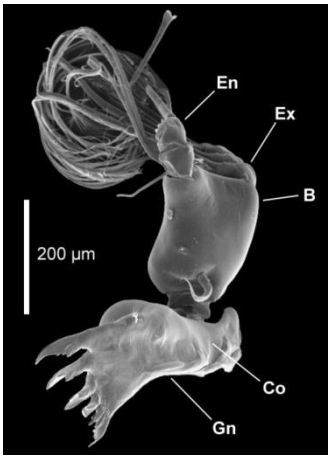

Abb. 1: rechte Mandibel von *Paraeuchaeta Antarctica* von cranial. Endopodit (En), Exopodit (Ex), Basis (B), Coxa (Co), Gnathobase (Gn) [25]

Die Gnathobase selbst geht am proximalen Ende über ein drehbares Gelenk an der Coxa in die Basis über, von der je ein Exopodit und ein Endopodit abgehen (vgl. Abb. 1). Als Exo- und Endopodite werden bei Crustaceen (Krebstieren) allgemein besonders ausgebildete Beinpaare, sog. Spaltbeine, bezeichnet [26]. Am distalen Teil endet die Gnathobase mit einer zahnartigen Struktur. Diese Strukturen werden auch einfach nur Zähne genannt. Wie in dieser Arbeit noch gezeigt wird, sind sie bei jeder Copepoden-Spezies unterschiedlich stark ausgeprägt. Eine unterschiedlich starke Ausprägung zeigt sich aber auch innerhalb einer Spezies zwischen beiden Geschlechtern.

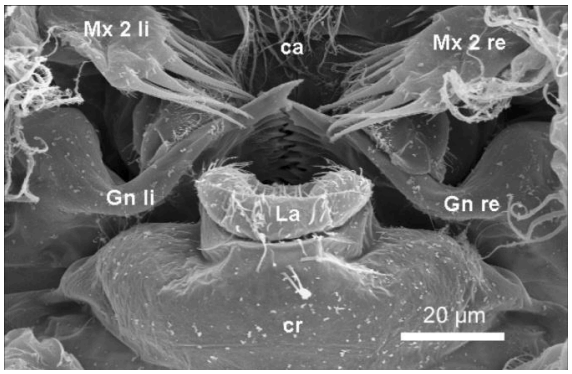

Abb. 2: Ansicht der Mundöffnungsregion auf der Ventralseite von *Microcalanus pygmaeus*. Linke und rechte Gnathobase (Gn li/re), Labrum (La), linke und rechte zweite Maxillen (Mx 2 li/re), caudal (ca), cranial (cr) [25]

Die Zähne der Gnathobasen verlaufen dabei in dorso-ventraler Richtung. Die Gnathobasen selbst besitzen eine craniale und eine caudale Fläche, wobei sie schaufelähnlich aufgebaut sind (vgl. Abb. 2). Wie in Abbildung 3 zu erkennen ist, besitzt jede Copepode eine linke und eine rechte Gnathobase, die sich an ihrem distalen Ende gegenüberstehen.

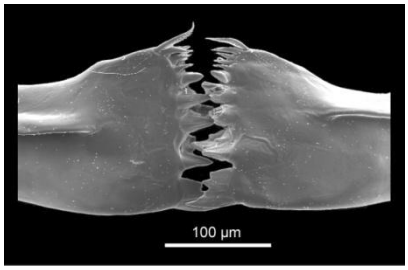

Abb. 3: REM-Aufnahme des Gnathobasen-Paars eines *Rhincalanus gigas*-Weibchens von cranial [25]

Der überwiegende Teil der Copepoden besitzt dabei unterschiedlich stark ausgeprägte Zähne, die sich in systematische Zahngruppen einteilen lassen. So besitzen viele Spezies einen ventralen Zahn, mehrere zentrale und dorsale Zähne. Oft schließt die Zahnreihe mit einer dorsalen Borste ab. Der ventrale Zahn ist typischerweise der verhältnismäßig längste Zahn, der auf einem ausgeprägten Sockel aufbaut [4]. Den dorsalen Zähnen auf der cranialen als auch auf der caudalen Seite vorgelagert befindet sich eine Reihe von kleinen Borsten, die der Ortung von Nahrungspartikeln und Fraßfeinden dienen [27].

Die Copepoden durchlaufen in ihrer Entwicklung verschiedene Metamorphosestadien. Sie unterteilen sich in sechs Naupliusstadien und fünf Copepodidstadien, wobei das Copepodidstadium V, dem adulten Stadium entspricht. Die Zahnstruktur ändert sich innerhalb der Copepodidstadien kaum, unterscheiden sich aber deutlich von denen der Naupliusstadien. Die Napliusstadien werden auch Larvenstadien genannt [24].

2.2 Copepoden-Spezies

Die in dieser Arbeit untersuchten Mandibel-Gnathobasen stammen von Copepodenspezies des Südpolarmeeres und der Nordsee. Im Einzelnen sind dies die antarktischen Spezies *Calanoides acutus*, *Calanus propinquus*, *Heterorhabdus*, *Metridia gerlachei* und *Rhincalanus gigas* und als Nordsee-Arten *Acartia tonsa*, *Centropages* sp. und *Temora longicornis*. Alle Mandibel-Gnathobasen stammen von Copepoden des Copepodidstadiums V (kurz C V, adultes Stadium) und dazu noch von weiblichen Exemplaren. Bei der Copepodenspezies *Calanoides acutus* standen ebenfalls Mandibel-Gnathobasen männlicher Exemplare bereit. Die nachfolgende Tabelle gibt einen kurzen Überblick über die in dieser Arbeit untersuchten Copepodenspezies, ihre Lebensräume, ihr Geschlecht, das Entwicklungsstadium und über ihre spezifische Ernährungsweise.

Tab. 1: Übersicht über die bearbeiteten Copepodenspezies, sowie deren Lebensraum, Geschlecht, Entwicklungsstadium (C V: Copepodidstadium V, adultes Stadium) und Ernährungsweise

Copepodenspezies	Lebensraum	Geschlecht	Entwicklungs-stadium	Ernährungs-weise
Calanoides acutus	Südpolarmeer	Weibchen	C V	herbivor
Calanoides acutus	Südpolarmeer	Männchen	C V	herbivor
Calanus propinquus	Südpolarmeer	Weibchen	C V	omnivor
Heterorhabdus	Südpolarmeer	Weibchen	C V	carnivor
Metridia gerlachei	Südpolarmeer	Weibchen	C V	omnivor
Rhincalanus gigas	Südpolarmeer	Weibchen	C V	omnivor
Acartia tonsa	Nordsee	Weibchen	C V	herbivor
Centropages sp.	Nordsee	Weibchen	C V	herbivor
Temora longicornis	Nordsee	Weibchen	C V	herbivor

Die Probennahmen der in der vorliegenden Arbeit verwendeten antarktischen Copepodenspezies fanden während der Expeditionen ANT XIX/5, ANT XIX/6, ANT XXI/2, ANT XXII/2 und ANT XXII/2 (2002-2005) mit dem Forschungsschiff „Polarstern“ des Alfred-Wegner-Instituts, Bremerhaven ins antarktische Weddellmeer (Südpolarmeer) statt. Das Forschungsschiff umkreiste dabei das Gebiet des Scotia-Bogens nordöstlich der Antarktischen Halbinsel. Die Probennahme der Copepodenspezies der Nordsee fanden im Frühjahr 2009 vor den Küsten Helgolands statt.

Neben den unterschiedlichen Lebensräumen der Copoden-Spezies unterscheiden sie sich vor allem auch in ihrer Ernährungsweise. Es wird zwischen herbivoren, carnivoren und omnivoren Spezies unterschieden. Herbivore Spezies ernähren sich ausschließlich von pflanzlichen Bestandteilen, wie Phytoplankton. Phytoplankton besteht u.a. aus Kieselalgen bzw. Diatomeen (Bacillariophyta), Grünalgen, Goldalgen, Dinoflagellaten und Cyanobakterien (Blaualgen). Herbivore Copepoden nehmen vorwiegend Diatomeen des Phytoplanktons auf. Carnivore

Spezies ernähren sich ausschließlich von Zooplankton. Dies können angefangen bei Protozoa (Einzeller) über kleinere Organismen auch andere Copepoden sein. Omnivore Spezies ernähren sich von Phytoplankton als auch von Zooplankton [24].

Die Ernährungsweise der Copepoden wurde in den verschiedensten Arbeiten näher untersucht. *Calanoides acutus* ernährt sich demnach überwiegend von Phytoplankton und zu einem kleinen Teil auch von Protozoen [28]. Selbst bei kurzzeitigem Entzug von pflanzlicher Nahrungsquelle zeigten Tiere dieser Spezies keine carnivoren Eigenschaften [29].

Auch *Calanus propinquus* (Abb. 4) gehört zu den Copepodenarten, die sich überwiegend von Phytoplankton (z.B. Diatomeen) und Protozoen ernähren [30], wie Ergebnisse von Fraßexperimenten zeigten (Abb. 5). Zum Teil ernähren sie sich aber auch von Metazoen [31]. So frisst *Calanus propinquus* bei Nahrungsreduktion auch kleine Copepodenarten [29].

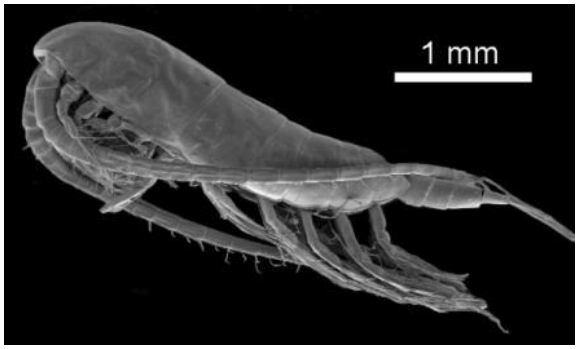

Abb. 4: REM-Aufnahme eines *Calanus propinquus*-Weibchens, Lateralansicht [25]

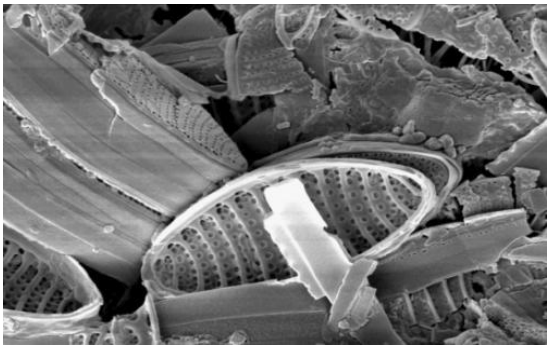

Abb. 5: REM-Aufnahme von Kotballen eines *Calanus propinquus*-Weibchens nach Fraßexperimenten mit Diatomeen [25]

Metridia gerlachei ernährt sich ebenfalls von Phytoplankton, allem voran Diatomeen (Bacillariophyceen) [28]. Bei Fraßexperimenten wurde jedoch herausgefunden, dass *Metridia gerlachei*-Weibchen auch Eier von *Calanoides acutus* gefressen haben [32]. So wurden vermehrt Tiere gefangen, die Teile von Crustaceen verdaut haben [30].

Die Spezies *Rhincalanus gigas* (Abb. 6) ernährt sich ebenfalls omnivor. Tiere dieser Art wurden sowohl mit Teilen von Diatomeen aufgefunden, als auch mit Resten von Crustaceen [30, 33].

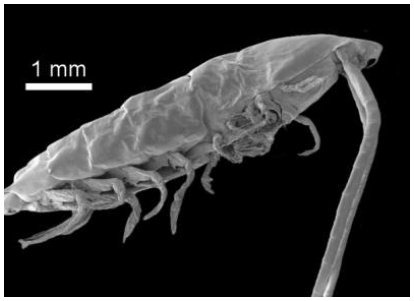

Abb. 6: REM-Aufnahme eines *Rhincalanus gigas*-Weibchens, Lateralansicht [25]

Heterorhabdus ernährt sich ausschließlich carnivor. Es wurde beobachtet, dass Exemplare dieser Art andere Copepoden und Protozoen fraßen [34].

Die in der Nordsee heimischen Copepoden-Spezies *Acartia tonsa*, *Centropages* sp. und *Temora longicornis* ernähren sich herbivor. In allen bislang untersuchten Exemplaren dieser drei Arten

wurden bei Fraßexperimenten und im Magen-Darm-Trakt lediglich Überreste von Diatomeen (Bacillariophyceen) gefunden [35-37].

Im Allgemeinen zeigt sich ein Zusammenhang zwischen der Gnathobasen-Morphologie der Copepoden und der Ernährungsweise der jeweiligen Spezies. So ernähren sich die beiden antarktischen Arten *Clanoides acutus* und *Calanus propinquus* überwiegend von Phytoplankton. Beide Spezies besitzen kurze und kompakte Zähne, die sie zum Zerbrechen der stabilen Diatomeenschalen auch benötigen [9]. Dabei ist unklar, ob die Copepoden die Nahrung zermahlen oder mit ihren spitzen Zähnen punktuell starken Druck ausüben, um diese aufzubrechen [9, 10]. Spezies die sich carnivor ernähren besitzen dem gegenüber eher lange und spitze Zähne. Mit diesen Zähnen können sie tierische Organismen viel effektiver aufspießen und auseinander reißen [25]. Zudem ist die Anzahl der Zähne meist reduziert. So besitzt die Spezies *Heterorhabdus* nur zwei sehr lange und spitze Zähne, die ein Aufspießen ganzer tierischer Organismen, z.B. anderer Copepoden, ermöglichen [38]. Einige carnivore Copepoden-Spezies sind deutlich kleiner als die tierische Beute, die sie fangen. Ihre spitzen Mundwerkzeuge ermöglichen ihnen ein Aufschlitzen dieser Zooplanktonorganismen [39]. Die Morphologie der Gnathobasen und ihrer Zähne von omnivoren Copepoden-Spezies stellt eine Zwischenstufe zwischen denen der herbivoren, die sich ausschließlich von Phytoplankton ernähren, und der carnivoren Spezies, die nur tierische Organismen fressen, dar [10]. Lichtmikroskopische und rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen konnten belegen, dass *Metridia gerlachei* dieser Gruppe der Copepoden zuzuordnen ist, die in cranial-caudaler Richtung dünne lange und spitze Zähne besitzen [40, 41].

Die Einstufung der Copepoden-Spezies nach ihrer Ernährungsweise lässt sich nicht nur klassisch empirisch ermitteln, sondern auch mithilfe des sog. *Edge Index* nach K. Itho auch berechnen. Die anzuwendenden Parameter sind die Anzahl und der Abstand der Zähne, sowie die Höhe des ventralen Zahns [8]. Empirisch und mathematisch ermittelte Ernährungsweisen korrelieren zwar oft, weisen aber zum Teil auch Diskrepanzen auf. So würde *Metridia gerlachei* mathematisch ermittelt den herbivoren Spezies angehören. Es konnte jedoch empirisch gezeigt werden, dass diese Art als omnivor einzustufen ist, da Überreste von Protozoen im Magen-Darm-Trakt dieser Tiere gefunden wurden [25].

Die männlichen Tiere von *Calanoides acutus* weisen, wie Abbildung 7 zeigt, stark reduzierte Gnathobasen und Zähne auf. Mit diesen Gnathobasen ist eine Nahrungsaufnahme nur sehr beschränkt möglich, da eine ausgebildete Zahnstruktur komplett fehlt. Es wird vermutet, dass die Nahrungsaufnahme bei Männchen dieser Art keine Rolle spielt, da sie nur dem Ziel der Fortpflanzung mit den Weibchen dienen [42, 43]. Es wurde eine stark erhöhte Zahl von Chemorezeptoren an den proximalen Abschnitten der ersten Antennen und Mandibeln der Männchen dieser Art gefunden, die nur noch dazu dienen Pheromone der Weibchen in Wasserströmungen wahrzunehmen. Damit wird ein Auffinden von Weibchen zu Fortpflanzungszwecken stark erleichtert [42]. Zudem könnte die Produktion von Eiern mehr Energie von den Weibchen erfordern als die Produktion von Spermatophoren durch die Männchen [25]. Ferner sind die Weibchen auf genügend Nahrung bei der Reproduktion angewiesen, so dass eine Reduktion der Gnathobasen bei den Männchen ein Grund dafür ist, weshalb es zu keiner Nahrungskonkurrenz zwischen den beiden Geschlechtern kommt und den Weibchen somit größere Nahrungsmengen zur Verfügung stehen [44].

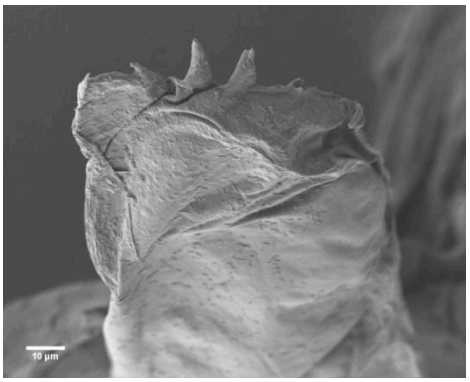

Abb. 7: REM-Aufnahme einer reduzierten rechten Gnathobase eines *Calanoides acutus*-Männchens von cranial

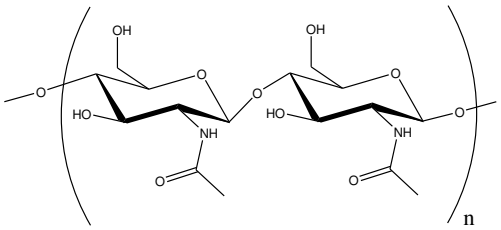

Abb. 8: Strukturformel des Biopolymers Chitin

Die Materialzusammensetzung innerhalb der Mandibel-Gnathobasen ist sehr unterschiedlich. Wie bei den Crustaceen üblich besteht der Panzer aus Chitin, einem Biopolymer (siehe Abb. 8) [24]. Es ist ein farbloses aminozuckerhaltiges Polysaccharid, dessen polymere Kettenlängen stark variieren können und damit auch dessen physikalischen und chemischen Eigenschaften, z.B. Löslichkeit, Zugfestigkeit und Härte.

Die Gnathobase selbst besteht ebenfalls aus Chitin [23]. Die Zähne am distalen Ende der Gnathobase bestehen oft aus mineralisiertem, silikathaltigem Material, was bereits 1954 beobachtet und untersucht wurde [45]. Die Gnathobasen-Zähne sind demnach mineralisierte Gebilde, die sockelartig auf dem Exoskelett aufsitzen. Später wurde diese Erkenntnis untermauert, als festgestellt wurde, dass die Zähne entweder Modifikationen der Chitinoberfläche oder Vorsprüngen aus Chitin entsprächen, die kronenförmig mit

Abb. 9: Lichtmikroskopische Aufnahme einer rechten Gnathobase eines *Rhincalanus gigas*-Weibchens von cranial

Silikat umschlossen wurden [13]. Weiterhin konnte bei Häutungszyklen beobachtet werden, dass neue Zähne unterhalb der alten Zähne gebildet werden, die zuerst im distalen Bereich und später erst im proximalen Teil der Zähne mit opalinem Silikat überzogen werden (vgl. Abb. 9) [12]. Bislang wird davon ausgegangen, dass es zwischen dem Silikat und dem Chitin keine stabilen Verflechtungen gibt, da Brüche (bedingt durch die Probenpräparation) oft zwischen dem Zahnmaterial und dem Chitin zu sehen waren und als mögliche Schwachstellen in der Gnathobasenstruktur interpretiert wurden [25].

Die Stabilität der Gnathobasen spielt nicht nur bei der Probenpräparation eine wichtige Rolle, sondern vielmehr bei der Zerkleinerung von pflanzlichen und/ oder tierischen Organismen für die Ernährung der Copepoden. Gnathobasen carnivorer und herbivorer Copepoden müssen unterschiedliche Stabilitäten aufweisen, da ihre Nahrungsquelle eine andere ist [11]. Herbivore Copepoden, die sich hauptsächlich von Diatomeen ernähren, müssen deren harte mineralische Silikatschale aufbrechen und in der Lage sein diese auch mit ihren Mundwerzeugen zu vermahlen [12]. Dementsprechend muss die Stabilität der Gnathobasen herbivorer Spezies größer sein, als die Stabilität der Diatomeen. Carnivore Copepoden ernähren sich von tierischen Organismen, u.a. auch von Copepoden selbst [26]. Deren Gnathobasen müssen lediglich in der Lage sein den wesentlich weicheren Chitinpanzer der Organismen aufzubrechen.

Eine Möglichkeit der Stabilitätserhöhung von einzelnen Körperpartien ist allgemein die Einlagerung von anorganischem Material (bzw. Elementen) im Körper. Die Einlagerung von Silizium in Form von Silikat wurde bereits erläutert. Die Natur zeigt auf vielfältige Weise, dass auch die Einlagerung anderer Elemente im Körper zur Stabilisierung führen kann. So lagern Insekten verschiedener Taxa u.a. gezielt Mangan und Zink in ihren Mandibeln ein, um harte Algen oder harte Pflanzensamen aufbohren zu können [46-48]. Aber auch die Einlagerung von Magnetit oder Gips in der Radula (Reibzunge) von marinen Gastropoden (Schnecken) wurde bereits nachgewiesen [49]. Als weiteres Beispiel können die Cheliceren (Kieferklauen) von Spinnen genannt werden, in denen bis zu 15 % Zink nachgewiesen wurden [50].

3 Angewandte Analysenverfahren

3.1 Mikroskopie

Die moderne Mikroskopie ermöglichte dem Menschen Objekte oder Strukturen, deren Größe unterhalb des Auflösungsvermögens des menschlichen Auges lag, zu untersuchen. Die Lichtmikroskopie ist dabei die wohl älteste Technik der Mikroskopie. Sie wurde bereits im 16. Jahrhundert entwickelt. Das zu untersuchende Objekt wird dabei durch eine oder mehrere Glaslinsen vergrößert. Das physikalisch maximal mögliche Auflösungsvermögen eines jeden Mikroskops ist von der Wellenlänge des verwendeten Anregungsmediums abhängig. Neben der klassischen Lichtmikroskopie und der Rasterelektronenmikroskopie, die als Anregungsquelle sichtbares Licht bzw. Elektronen verwenden, gibt es eine Vielzahl weiterer Mikroskopietechniken, die auf anderen physikalischen Anregungsmedien beruhen. Beispiele für Anregungsquellen anderer (rasternder) Mikroskope sind u.a. IR- und Röntgenstrahlung (in IR- bzw. Röntgenmikroskopen), fokussierte Lichtstrahlen mittels Laser (bei Laserrastermikroskopen) oder Ionenstrahlen (bei *Focused-Ion-Beam*-Mikroskopen), um nur einige zu nennen.

1986 ging der Nobelpreis für Physik an Ernst Ruska, Gerd Binnig und Heinrich Rohrer für Ihre bahnbrechenden Arbeiten auf dem Gebiet der Elektronenoptik und dem Bau des ersten Transmissionselektronenmikroskops und des ersten Rastertunnelmikroskops in den 30er bzw. 80er Jahren des vergangenen Jahrhunderts. Seither ist die Elektronenmikroskopie aus der Wissenschaft nicht mehr wegzudenken.

Im Folgenden wird auf die verwendeten Methoden der Licht- und der Rasterelektronenmikroskopie eingegangen.

3.1.1 Lichtmikroskopie

Lichtmikroskope sind die ältesten und klassischen Geräte zur vergrößerten Darstellung von kleinen Objekten. Als Erfinder des ersten Lichtmikroskops werden häufig der niederländische Brillenmacher Hans Janssen und sein Sohn Zacharias Janssen genannt, die im Jahr 1590 ein solches Gerät gebaut haben sollen. Das Prinzip der Vergrößerung durch diverse Medien ist aber schon viel länger bekannt. Bereits die Römer der Antike beschrieben Vergrößerungen durch mit Wasser gefüllte Glasschalen.

Es gibt die verschiedensten Gerätetypen von Lichtmikroskopen. Im Folgenden werden die drei verwendeten Gerättypen beschrieben: das Auflichtmikroskop und als Unterarten das Stereomikroskop und das Polarisationsmikroskop.