

**Adaptation an niedrige Temperaturen: Lipide in  
Eisdiatomeen**

**Adaptation to low temperatures: lipids in ice diatoms**

---

**Heidi Lehmal**

**Ber. Polarforsch. 317 (1999)  
ISSN 0176 - 5027**

Heidi Lehmal  
Meeresbotanik  
Fachbereich 2 – Biologie  
Universität Bremen  
Postfach 330440  
D-28359 Bremen

Tel.: 0421/2182582  
Fax.: 0421/2182285  
Email: [hlehmal@marbot.uni-bremen.de](mailto:hlehmal@marbot.uni-bremen.de)

Die vorliegende Arbeit ist die inhaltlich unveränderte Fassung einer  
Dissertation, die im Januar 99 dem Fachbereich 2 (Biologie/Chemie)  
der Universität Bremen vorgelegt wurde.

## Inhaltsverzeichnis

<b>Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>Summary</b>	<b>3</b>
<b>1. Einleitung</b>	<b>5</b>
1.1 Diatomeen im antarktischen Eis	5
1.1.1 <i>Entomoneis kufferathii</i> MANGUIN	8
1.1.2 <i>Nitzschia lecointei</i> VAN HEURCK	10
1.1.3 <i>Chaetoceros</i> sp.	12
1.1.4 Vergleich der Lebensbedingungen der untersuchten Arten	13
1.2 Membranen der pflanzlichen Zelle	13
1.2.1 Membranaufbau	15
1.2.2 Membranstruktur und homeoviskose Adaptation	21
1.2.3 Nomenklatur der Fettsäuren	23
1.2.4 Fettsäuresynthese	24
1.2.5 Nomenklatur der Sterole	28
1.2.6 Sterolsynthese	32
1.3 Fragestellung	34
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>37</b>
2.1 Allgemeine Kulturbedingungen	37
2.2 Versuchsparameter und Versuchsaufbau	38
2.3 Probenaufbereitung	40
2.4 Lipidanalysen	43
2.4.1 Probennahme für die Lipidanalysen	43
2.4.2 Fettsäureanalyse	43
2.4.3 Sterolanalyse	44
2.5 Zellaufschluß und Membranisolierung	43
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>49</b>
3.1 Fettsäuren	49
3.2 Sterole	50
3.3 Ökophysiologische Untersuchungen	54
3.3.1 Temperaturversuch mit akklimatisierten Algen (Langzeittemperaturversuch)	54

3.3.2 Lichtintensitätsversuch	62
3.3.3 Wachstumsversuch	65
3.3.4 Temperaturversuch mit kontinuierlichem Temperaturanstieg (Kurzzeittemperaturversuch)	70
3.4 Die Fettsäuren 16:1 und 20:5	73
3.5 Membranfraktionierung	74
3.5.1 Lipide des Gesamtzellextraktes und der Membranfraktion	74
<b>4. Diskussion</b>	<b>77</b>
4.1 Fettsäuren	77
4.2 Sterole	87
4.3 Resümee und Ausblick	94
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>101</b>
<b>Anhang</b>	<b>115</b>
<b>Danksagung</b>	<b>121</b>

## Zusammenfassung

Untersuchungsobjekte dieser Arbeit sind drei Eisdiatomeen, *Entomoneis kufferathii*, *Chaetoceros* sp. und *Nitzschia lecointei*. Im Meereis liegen nicht überall die gleichen abiotischen Verhältnisse vor, so daß sich auch hier unterschiedliche Gemeinschaften ausbilden (HORNER et al. 1992). Zwei sehr unterschiedliche Habitate sind die Eisunterseite und die Salzlaugenkanälchen im Eis. An der Eisunterseite ist die Lichtintensität gering, die Salinität liegt auf Seewasserniveau und die Temperatur bei minus 1,8°C. In den Salzlaugenkanälchen herrscht eine hohe Salinität. Diese kann sich während der Eisschmelze sehr schnell ändern. Temperatur und Lichtintensität fluktuieren seasonal und diurnal.

*E. kufferathii* lebt an der Eisunterseite unter konstanten Bedingungen. *N. lecointei* und *Chaetoceros* sp. wachsen an der Eisunterseite, in den Salzlaugenkanälchen und in der freien Wassersäule. Sie tolerieren schnelle Änderungen der Salinität, Temperatur und Lichtintensität.

Es wurde die Hypothese überprüft, daß Eisdiatomeen, die in der Antarktis unter extremen kalten Bedingungen leben und obere Überlebenstemperaturen von nur 6°C (*E. kufferathii*) oder 10°C (*N. lecointei* und *Chaetoceros* sp.) haben, ihre Membranfluidität nicht an höhere Temperaturen anzupassen können und daher obligat psychrophil sind.

Nach der Theorie der homeoviskosen Adaptation regulieren Organismen ihre Membranfluidität durch Änderung ihrer Lipidbausteine. Wenn die Außentemperatur sinkt, erhöht die Zelle unter anderem den Anteil der ungesättigten Fettsäuren. Das Einfügen einer Doppelbindung erzeugt einen Knick in der Kohlenstoffkette, die Bindungskraft der nicht kovalenten Bindungen zu benachbarten Fettsäuren verringert sich und somit erhöht sich die Membranfluidität.

In allen drei Eisdiatomeen wurden die Fettsäuren 14:0, 16:0, 16:1(n-7), 16:3(n-4), 16:4(n-1), 18:4(n-3) und 20:5(n-3) in Konzentrationen von jeweils mindestens 5% nachgewiesen. Daneben waren die Fettsäuren - 16:1(n-5), 16:2(n-7), 18:0, 18:1(n-9), 18:1(n-7), 18:2(n-6), 18:3(n-3), 20:1(n-7), 20:4(n-6), 20:4(n-3) und 22:6(n-3) vertreten. Gemeinsam stellten sie 10% der Fettsäuren. Eine hohe Konzentration der Fettsäuren 16:1 und 20:5 ist typisch für Diatomeen.

Neben der Zahl der Doppelbindungen haben Einlagerungen von Sterolen einen hohen Einfluß auf die Membranfluidität. In den untersuchten Arten wurden für Diatomeen charakteristische Sterole nachgewiesen, 24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol, Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol in *E. kufferathii* und 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol, Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol in *Chaetoceros sp.* und *N. lecointei*.

Die temperaturbedingten Veränderung in der Lipidzusammensetzung wurden in zwei unabhängigen Testreihen untersucht. Zusätzlich wurden die lichtintensitätsbedingten und wachstumsbedingten Veränderungen kontrolliert.

In der ersten Testserie waren die Algen an unterschiedliche Temperaturen akklimatisiert (*Chaetoceros sp.* und *N. lecointei* -2, +2 und +6°C; *E. kufferathii* -2, 0, und +2°C). Entsprechend der Theorie zur homeoviskosen Anpassung nahm in *E. kufferathii* die Konzentration der mehrfach ungesättigten Fettsäure (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 20:5(n-3) mit zunehmender Temperatur ab und die der gesättigten Fettsäure (saturated fatty acid, SFA) 16:0 zu. Die PUFAs 16:3(n-4) und 16:4(n-1) nahmen zwischen 0 und +2 °C ab. Die Sterole zeigten keinen klaren Trend. In *Chaetoceros sp.* verminderte sich die Konzentration der PUFAs 16:4(n-1), 18:4(n-3) und 20:5(n-3) mit zunehmender Temperatur, und die Fettsäuren 14:0, 16:0 und 16:1(n-7) nahmen tendenziell zu. Auch in *Chaetoceros sp.* zeigten die Sterole keinen eindeutigen Trend. In *N. lecointei* waren keine klaren Relationen zwischen der Temperatur und dem Sättigungsgrad der Fettsäuren zu erkennen. Allerdings nahmen die Sterole mit zunehmender Temperatur ab.

Diese Ergebnisse entsprechen der Theorie der homeoviskosen Adaptation und widersprechen damit der Hypothese, daß Eisdiatomeen nicht in der Lage sind ihre Membranfluidität an steigende Temperaturen anzupassen.

In einer zweiten Testserie zur Temperaturadaptation wurde die Temperatur innerhalb von wenigen Stunden von 0 auf 10°C erhöht und die Veränderung der Lipidzusammensetzung über einen Tag verfolgt. Diese Veränderungen waren sehr gering und widersprechen der Theorie der homeoviskosen Adaptation. In *E. kufferathii* nahm die PUFA 20:5(n-3) mit zunehmender Temperatur zu und die Fettsäuren 14:0, 16:0, und 16:1(n-7) ab. In *Chaetoceros sp.* nahmen die Fettsäuren 14:0 und 16:1(n-7) zu und die Fettsäure 16:0 ab.

Die Fettsäuren in *N. lecointei* änderten sich nicht signifikant. Diese Ergebnisse demonstrieren die komplexen Reaktionen der Lipidkonzentration und –zusammensetzung auf Umweltbedingungen. Um dieser Komplexität auch nur annähernd gerecht zu werden, werden die Rolle der Membranen, die Lipidsynthese, die Regelmechanismen und die Theorie der homeoviskosen Adaptation diskutiert.

### Summary

Research objects of this work are the ice diatoms *Entomoneis kufferathii*, *Chaetoceros* sp. and *Nitzschia lecointei*. In the sea ice different abiotic factors support the formation of diverse assemblages (Horner et al. 1992). Two different habitats are the bottom ice and the ice channels. In the bottom ice the light intensity is low, the salinity is near seawater salinity and temperature is stable at minus 1,8°C. In the ice channels a high salinity dominates during the Antarctic winter. Temperature and light intensity fluctuate seasonally and diurnally.

*E. kufferathii* is abundant only in the bottom ice, while *N. lecointei* and *Chaetoceros* sp. grow in the bottom ice, inside the ice channels, and in the free water column as well. Therefore, *E. kufferathii* prefers constant conditions while *N. lecointei* and *Chaetoceros* sp. tolerate fast changes of salinity, temperature and light intensity.

As working hypothesis we investigated if ice diatoms, which live in the extreme environment of Antarctica and have an upper survival temperature of only 6°C (*Entomoneis kufferathii*) or 10°C (*Nitzschia lecointei* and *Chaetoceros* sp.), are unable to adapt their membrane fluidity to higher temperatures.

According to the theory of homeoviscose adaptation organisms regulate their membrane fluidity by changes of the lipid composition. When the temperature decreases the cells increase the proportion of unsaturated fatty acids. The addition of a double bond produces a bend in the fatty acid, which decreases the interaction between the neighbouring fatty acids and increases the membrane fluidity.

In all three diatoms the fatty acids 14:0, 16:0, 16:1(n-7), 16:3(n-4), 16:4(n-1), 18:4(n-3) and 20:5(n-3) were present in at least 5 %. The other fatty acids -16:1(n-5), 16:2(n-7), 18:0, 18:1(n-9), 18:1(n-7), 18:2(n-6), 18:3(n-3), 20:1(n-7), 20:4(n-6), 20:4(n-3) and 22:6(n-3) - in total amounted to about 10%. A high concentration of the fatty acids 16:1 and 20:5 is typical for ice diatoms.

The sterols in *E. kufferathii* are 24-ethylcholesta-5,22-dien-3β-ol, cholest-5-en-3β-ol and 24-ethylcholest-5-en-3β-ol. The sterols in *Chaetoceros* sp. and *N.*

*lecointei* are 24-methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol, cholest-5-en-3 $\beta$ -ol and 24-ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol. The sterols and fatty acids are characteristic for diatoms.

The effect of temperature on the lipid composition were investigated in two independent test series. In addition the effect of light intensity and cell age were investigated.

In the first series the algae were acclimatised to different temperatures. *E. kufferathii* was cultivated at -2, 0, and +2°C. As expected, based on the theory of homeoviscose adaptation, the polyunsaturated fatty acid (PUFA) 20:5(n-3) decreases and the saturated fatty acid (SFA) 16:0 increases with increasing temperature. The PUFAs 16:3(n-4) and 16:4(n-1) decrease between 0 and +2°C. The sterols show no clear trend. In *Chaetoceros* sp. the PUFAs 16:4(n-1), 18:4(n-3) and 20:5(n-3) decrease with increasing temperature (-2, +2 and +6°C). For the SFA 14:0 and 16:0 and the monounsaturated fatty acid (MUFA) 16:1(n-7) an increasing tendency was observed. The sterols again show no clear trend. In *N. lecointei* no clear relation between the temperature and the amount of fatty acids was detected. However, the sterols decrease with increasing temperature.

These results are in accordance with the theory of homeoviscose adaptation and contradict the hypothesis that ice diatoms are not able to adapt their membrane fluidity to higher temperatures.

In a second series the temperature was increased from 0 to 10°C. There were only slight changes in the lipid concentrations when the temperature increased from 0°C (6:00) to 10°C (12:30) and remained constant at 10°C over the rest of the day. These changes contradict the theory of homeoviscose adaptation. In *E. kufferathii* the PUFA 20:5(n-3) increases and the fatty acids 14:0, 16:0, and 16:1(n-7) decrease. In *Chaetoceros* sp. the fatty acids 14:0 and 16:1(n-7) increase and the fatty acid 16:0 decreases. The fatty acids in *N. lecointei* did not change significantly.

This results demonstrate how complex the effect of environment conditions on the lipid concentration is. Because of this complexity it is necessary to discuss the role of membranes, the lipid synthesis, the mechanism of regulation and the theory of homeoviscose adaptation.

## 1. Einleitung

### 1.1 Diatomeen im Antarktischen Eis

Die Packeisdecke der Antarktis besitzt im März ihre maximale ( $19 \cdot 10^6 \text{ km}^2$ ) und im September ihre minimale Ausdehnung ( $4 \cdot 10^6 \text{ km}^2$ ) mit einer durchschnittlichen Dicke von 0,5-1,5 m (EICKEN 1995). Das Meereis der Antarktis besteht größtenteils aus körnigem Eis, das sich aus millimetergroßen Eisnadeln oder Eisplättchen bildet, die unter Einfluß von Wind und Wellen in den obersten Metern des offenen Ozeans entstehen. Sobald die Eiskristalle eine kritische Größe überschreiten, schwimmen sie an die Oberfläche und bilden einen Eisbrei, der sich langsam verfestigt (EICKEN 1995, Weissenberger 1992). Da die Eisplättchen eine raue Oberfläche besitzen, bieten sie Einzellern die Möglichkeit, sich an ihrer Oberfläche anzuheften (DIECKMANN und KIPFSTUHL 1995). Bei dieser in der Antarktis üblichen Art der Eisbildung wird die Gefrierwärme effektiv über das Wasser an die Atmosphäre abgegeben, und die Eiswachstumsraten sind relativ hoch. Im Laufe dieser Konsolidierung bilden sich Eisplatten mit hochgezogenen Rändern aus. Dieses sogenannte Pfannkucheneis wird dann durch Überschieben und Aufpressen immer dicker bis zum Entstehen großer Schollen oder einer geschlossenen Eisdecke (EICKEN 1995). Nach einer Überschiebung ändern sich die Verhältnisse in den Schollen. In der zu oberst liegenden Scholle wird es kälter und heller, in der unteren wärmer und dunkler und der Salzgehalt sinkt. Zum Teil können die Änderungen so gravierend sein, daß ein Teil der am und im Eis lebenden Organismen diesen Wechsel nicht überlebt (SPINDLER 1995).

Die Organismen sind aufgrund ihrer unterschiedlichen ökologischen Ansprüche nicht gleichmäßig im Eis verteilt. Die ungleichmäßige Verteilung hat abiotische (Temperatur, Salzgehalt, Lichtintensität und Nährstoffangebot) und biotische (Fraßdruck und Konkurrenz) Ursachen. Unterschiede treten klein- und großräumig oder saisonal auf. Im Eis sind pennale Diatomeen häufiger vertreten als centrale (BARTSCH 1989). Ebenso sind im Pelagial nahe der Eisgrenze die Bacillariaceae (*Fragilariopsis*, *Cylindrotheaca* und *Nitzschia*) häufig. Die Abundanz der Bacillariaceae beträgt zwischen 42 und 88% der im Eis lebenden Algen (KANG und FRYXELL 1992).

Lichtintensitäts- und Temperaturanstieg sowie der Rückgang der Eisbedeckung stehen in enger Beziehung zueinander, treten aber zeitlich verzögert auf (Abb. 1). Die Lichtintensität ist während des antarktischen Winters sehr gering. An der Eisoberfläche ist die Photonen-Flux-Rate höher als an der Wasseroberfläche. Sie nimmt mit zunehmender Eistiefe ab und wird erheblich reduziert, wenn das Eis mit einer Schneedecke überzogen ist oder viele Diatomeen im Eis leben.

Die Temperatur nimmt mit steigender Tiefe zu. Im Eis baut sich ein Gradient zwischen Lufttemperatur ( $-40^{\circ}\text{C}$  bis  $5^{\circ}\text{C}$ ) und Wassertemperatur ( $\sim -1,8^{\circ}\text{C}$ ) auf.

Die Salinität des Eises (gefrorenes Süßwasser und die eingeschlossenen Solekanälchen) hängt von seinem Alter und der Gefriergeschwindigkeit ab. Junges Eis, das sich bei Lufttemperaturen von  $-30$  bis  $-40^{\circ}\text{C}$  schnell gebildet hat, kann eine Salinität von 20 PSU aufweisen (TARDENT 1993). Mit dem Altern des Eises wandern die Sole, bedingt durch ihr höheres spezifisches Gewicht, immer weiter durch das Eis.

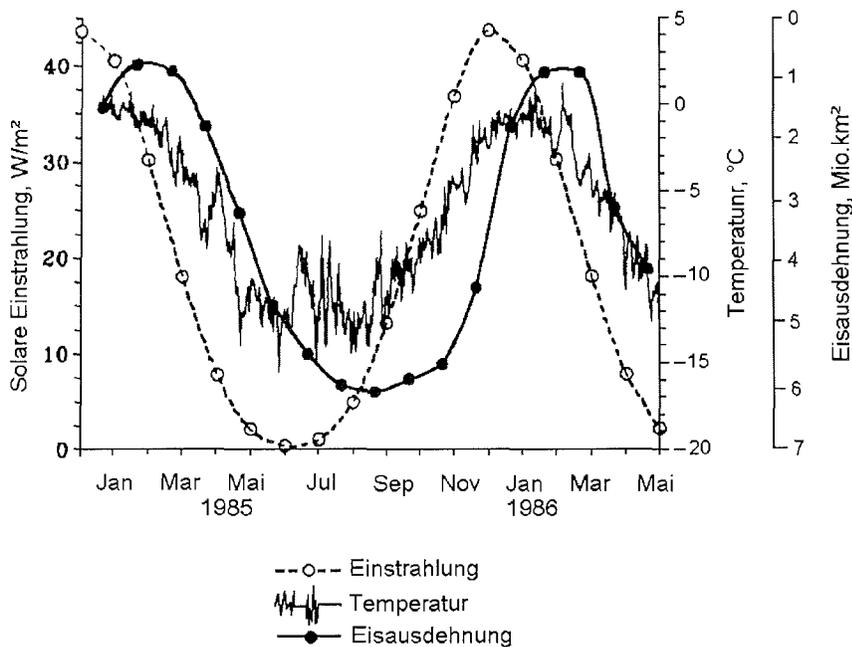


Abb. 1: Solare Einstrahlung, Temperatur und Eisausdehnung im zentralen Weddelmeer im Jahresgang (EICKEN 1995)

Da die Besiedlungsdichte von Algen in den Solekanälchen sehr hoch ist, sollte man annehmen, daß das Nährstoffangebot stark reduziert ist. Messungen haben allerdings ergeben, daß die Versorgung mit Nitrat und Phosphat ausreichend ist, da offenbar ein Austausch mit dem umgebenden Wasser stattfindet. Eine Wachstumslimitierung könnte bei Diatomeen durch Silikatmangel hervorgerufen werden (SPINDLER und DIECKMANN 1991).

Obwohl bereits vor fast 150 Jahren im antarktischen Eis Organismen entdeckt wurden (EHRENBERG 1853), fanden ökologische und physiologische Untersuchungen erst seit Mitte dieses Jahrhunderts statt. Entsprechend der vertikalen Verteilung der Organismen wurden verschiedene Eishabitate beschrieben (BARTSCH 1989; SPINDLER und DIECKMANN 1991). Von HORNER et al. (1988) wurden diese Beobachtungen zusammengefaßt und verschiedene Gesellschaften definiert.

Durch Schmelzen oder Überfluten entstehen auf der Eisoberseite Pools. Die in ihnen lebenden Organismen können ins Eis eindringen. Die Oberflächengesellschaften, bestehend aus Poolgesellschaft- und Infiltrationsgesellschaft, sind dem Wetter besonders stark ausgesetzt. Die Gesellschaften im Zentrum des Eises bestehen zum einen aus der Bändergesellschaft - einer ehemaligen Bodengesellschaft einer Eisscholle, die sich unter eine andere Eisscholle geschoben hat - und zum anderen aus der Laugenkanalgesellschaft. Letztere lebt in den Salzlaugentaschen und -kanälchen, die sich während des Gefrierprozesses bilden, sowie in Spalten und Rissen. Interstitial-, Plättcheneis- und Untereisgesellschaft bilden die Bodengesellschaften. In ihnen leben die Organismen zwischen Eiskristallen, nicht verfestigten Eisplättchen oder in Organismenmatten und -vorhängen, die locker an der Eisunterseite angeheftet sind (Abb. 2).

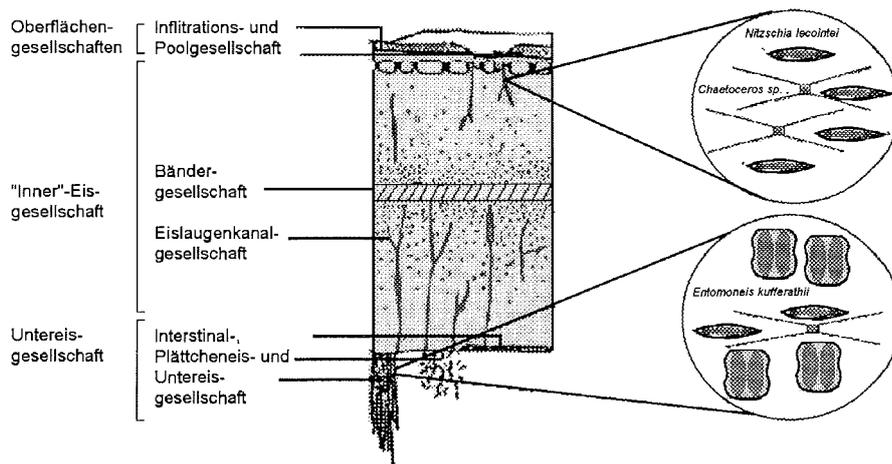


Abb. 2: Schematische Darstellung der verschiedenen Eisalngengesellschaften (modifiziert nach BARTSCH 1989 und HORNER et al. 1988) und das Vorkommen der untersuchten Diatomeen innerhalb des Eises. *Chaetoceros sp.* und *N. lecointei* treten in der gesamten Eissäule auf, während *E. kufferathii* nur an der Eisunterseite gedeiht.

Alle im und am Eis lebenden Diatomeen werden als Eisdiatomeen bezeichnet, auch wenn sie, wie *N. lecointei* und *Chaetoceros sp.*, ein Teil ihres Lebens in der freien Wassersäule verbringen.

### 1.1.1 *Entomoneis kufferathii* MANGUIN

Abteilung: Heterokontophyta

Klasse: Bacillariophyceae

Ordnung: Bacillariales

Familie: Entomoneidaceae

Gattung: Entomoneis

In dieser Arbeit wird die Systematik von HASLE und SYVERTSEN (1996) verwendet. Traditionell wurden die Diatomeen in zwei Ordnungen aufgeteilt, die *Pennales* und die *Centrales*. ROUND et al. (1990) schlugen vor, die *Pennales* in solche mit und ohne Raphe zu unterteilen und diese Einteilung auf Klassenebene vorzunehmen. HASLE und SYVERTSEN (1996) behielten die Unterteilung der *Pennales* bei, allerdings auf der Ordnungsebene (Anhang, Tabelle 18).

*Entomoneis* ist in der Literatur auch unter dem Synonym *Amphiprora* zu finden. Die Namensänderung ist auf Reimer zurückzuführen (PATRICK und REIMER, 1975).

Auf der Schalenoberfläche sitzt ein S-förmig geschwungener Kiel, der die Raphe trägt. Dieser Kiel senkt sich in der Schalenmitte fast bis auf das Schalenniveau herab, und von der Schalenmitte läuft er in zwei ausladenden Bögen bis zu den Schalenpolen. In der Gürtelbandansicht, der üblichen Ansicht unter dem Mikroskop, sieht man den Kiel als zwei Höcker in unterschiedlichen Ebenen. Die zahlreichen Gürtelbänder sind ein weiteres Bestimmungsmerkmal (ROUND 1990; HASLE und SYVERTSEN 1996).

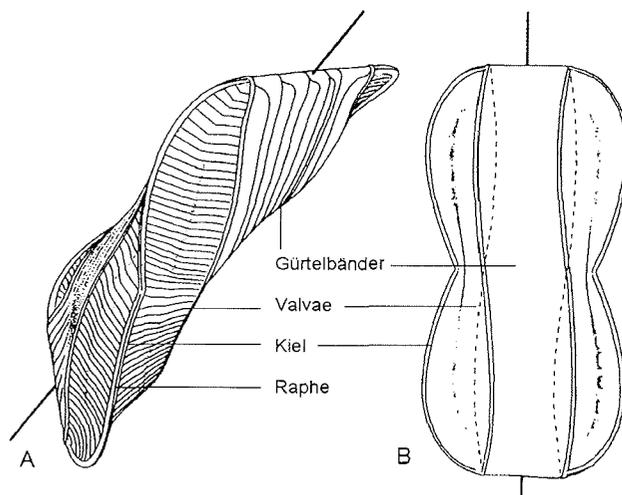


Abb. 3: Entomoneis (A) in einer dreidimensionalen Darstellung, welche die Drehung des Frustulum um die Apikalachse verdeutlicht und (B) die unter dem Mikroskop übliche Gürtelbandansicht (modifiziert nach ROUND et al., 1990)

Die Gattung *Entomoneis* besteht aus etwa 100 Arten, von denen die meisten im Meerwasser leben. Sie ist an europäischen Meeresküsten weit verbreitet.

*E. kufferathii* ist eine typische Vertreterin der Boden- und Untereisgesellschaft im antarktischen Meereis (HORNER et al. 1992, BARTSCH 1989). Als dominante Art der Untereisgesellschaft bildet sie lange Zellketten (GROSSI et al. 1984, BARTSCH 1989) oder besiedelt in der Bodengesellschaft die vertikal ausgerichteten Laugenkanälchen mit einer Zelldichte bis zu  $3 \cdot 10^8$  Zellen (McCONVILLE UND WETHERBEE 1983). In geringen Abundanzen ist die Art im freien Wasser in der Nähe des Eisrandes und der Eissäule zu finden (GROSSI UND SULLIVAN 1985). Die Art übersommert wahrscheinlich auf dem Schelfboden oder im „Resteis“ (GARRISON et al. 1993; SCHAREK 1991).

*E. kufferathii* ist als Vertreterin der Untereisgesellschaft geringen Schwankungen der Temperatur (-1,8°C) und der Salinität (34 PSU) und hohen Schwankungen der Lichtintensität ausgesetzt. Die Lichtintensität ändert sich mit der Eisdicke, der Schneebedeckung und im Jahresgang.

*E. kufferathii*-Zellen wurden 1986 im Rahmen des „Winter Weddell Sea Project“ (WWSP) aus Packeisproben isoliert, die Wissenschaftler des Forschungsschiffes „Polarstern“ während der Antarktisexpedition ANT V2/3 genommen hatten.

Seit dieser Zeit ist die Alge in der Meeresbotanik der Universität Bremen in Kultur. An ihr wurden im Rahmen von Diplom- und Doktorarbeiten ökophysiologische Untersuchungen durchgeführt. Die Anpassung der Photosynthese, der Respiration, des Wachstums, der Fettsäurezusammensetzung, des DMSP- und des Prolingehaltes an sich ändernde Umweltfaktoren (z.B. Salzgehalt, Temperatur, Lichtintensität oder -rhythmus) wurde ebenso untersucht wie die Bildung von Sauerstoffradikalen und der Oxidationsschutz. Eine Liste der durchgeführten Untersuchungen findet sich im Anhang (Tabelle 19).

### **1.1.2 *Nitzschia lecointei* VAN HEURCK**

Abteilung: Heterokontophyta

Klasse: Bacillariophyceae

Ordnung: Bacillarialesales

Familie: Bacillariaceae

Gattung: *Nitzschia*

Die Organismen der Familie der Bacillariaceae besitzen langgestreckte, bilateral symmetrische Schalen. Die Valvarseiten zeigen jeweils eine auf einem Kiel sitzende Raphe, die seitlich der Apikalebene verläuft. Ein zentraler Nodus ist vorhanden. *Nitzschia lecointei* ist zwischen 27 und 112 µm lang und 2,5 bis 5 µm breit (MEDLIN UND HASLE 1990). Wird die Alge über einige Jahre in Kultur gehalten, so reduziert sich ihre Länge, und die Breite nimmt zu. WANZEK (1994) bestimmte, nachdem die Algen 5 Jahre kultiviert wurden, ihre Länge mit 21 - 39 µm, die Breite mit 5 - 8,5 µm.



Abb. 4: *Nitzschia lecointei* in der Valvaransicht (MEDLIN UND HASLE 1990)

Die Verbreitung von *N. lecointei* erstreckt sich von den ozeanischen Bereichen über die eisbedeckten Seegebiete bis hin zum Meereis (KREBS 1983; GERSONDE 1984; KLÖSER 1990; MEDLIN und HASLE 1990; KANG UND FRYXELL 1991; EL-SAYED UND FRYXELL 1993). Untersuchungen von KANG UND FRYXELL (1992) zeigen ein zirkumpolares Vorkommen im Südpolarmeer. In ozeanischen Bereichen wird der Organismus jedoch nur selten abundant (KANG UND FRYXELL 1993). FRYXELL (1989) fand die Alge als Aufwuchs auf Zellketten von *Thalassiosira gravida* und ging von einer Symbiose der beiden Organismen aus.

*N. lecointei* ist sowohl im küstennahen "fast-ice" (WATANABE 1988; MEDLIN und HASLE 1990) als auch im Packeis zu finden (GARRISON et al. 1993, GARRISON und THOMSEN 1993). Von vielen Autoren wird sie als mäßig häufige Art beschrieben. Im Packeis beträgt der Anteil der Art weniger als 0,5% (GARRISON UND BUCK 1985). Im küstennahen "fast-ice" wird *N. lecointei* zu einer dominanten Art der Bodengesellschaft (Abundanz 25-75%), wobei die Zellzahlen durch starkes Wachstum im Frühjahr und Herbst ansteigen (WATANABE et al. 1990). Dabei bildet sie an der Eisunterseite dichte Matten (WATANABE 1988). Im Frühjahr ist die Art auch innerhalb der Eissäule und in der Infiltrationsgesellschaft in hoher Anzahl zu finden (WATANABE et al. 1990).

*N. lecointei* besiedelt die unterschiedlichsten Lebensräume im Südpolarmeer. Dies setzt eine hohe Anpassungsfähigkeit an die wechselnden Umweltbedingungen voraus. Im freien Wasser und als Vertreterin der Bodengesellschaft ist *N. lecointei* stabilen Temperaturverhältnissen und saisonalen Schwankungen der Lichtverhältnisse ausgesetzt. Innerhalb der Eissäule wirken zusätzlich saisonale Temperaturveränderungen und Nährstofflimitationen auf den Organismus ein. Als Vertreter der Infiltrationsgesellschaft muß sich die Alge an hohe Lichtintensitäten anpassen.

Die untersuchte *Nitzschia lecointei* stammt aus Eisbohrkernen, die 1988 in der Weddell See während der Antarktisexpedition ANT VII/4 (EPOS leg 3) gezogen wurden.

In der Meeresbotanik der Universität Bremen wurden auch an dieser Art ökophysiologische Untersuchungen zu der Photosynthese, der Respiration, dem Wachstums, der Fettsäurezusammensetzung, dem DMSP- und Prolingehalt durchgeführt. Außerdem wurde die Wirkung von Stickstoffmangel auf die Bildung von Aminosäuren untersucht (siehe Anhang, Tabelle 20).

### 1.1.3 *Chaetoceros* sp.

Abteilung: Heterokontophyta

Klasse: Bacillariophyceae

Ordnung: Biddulphiales

Familie: Chaetocerotaceae

Gattung: *Chaetoceros*

*Chaetoceros* sp. ist eine nicht näher bestimmte kleinzellige Alge. Oftmals werden die kleinzelligen antarktischen Vertreter dieser Gattung als *Chaetoceros neogracile* (NOTHNAGEL 1995) oder als *Chaetoceros* „Typ A“ (NÖTHIG 1988; BARTSCH 1989; KLÖSER 1990 und SCHAREK 1991) bezeichnet.

Als Lebensraum dienen *Chaetoceros* sp. das Pelagial, die Plättcheneisschicht und das Eis in seiner gesamten Dicke (SCHAREK 1991; GARRISON et al. 1986; BARTSCH 1989).

Besonders in den oberen Bereichen der Eissäule ist *Chaetoceros* sp. hohen Salzkonzentrationen und tiefen Temperaturen ausgesetzt. Im Pelagial ist die Salzkonzentration konstant, und die Temperatur sinkt nicht unter  $-2^{\circ}\text{C}$ . *Chaetoceros* sp. muß Fähigkeiten ausgebildet haben, um sich diesen schwankenden Umweltbedingungen anzupassen.

*Chaetoceros* sp. wurde gemeinsam mit *E. kufferathii* 1986 im Rahmen des „Winter Weddell Sea Project“ (WWSP) aus Packeisproben isoliert. In der Meeresbotanik wurden mit ihr folgende Analysen durchgeführt: Photosynthese, Wachstum, Respiration, Fettsäurezusammensetzung, Prolin- und Glutamatgehalt (siehe Anhang, Tabelle 21).

### 1.1.4 Vergleich der Lebensbedingungen der untersuchten Arten

Während *Entomoneis kufferathii* nur in der Bodeneisgesellschaft lebt, erstreckt sich der Lebensraum von *Nitzschia lecoincei* und *Chaetoceros* sp. über alle Bereiche des Meereises und das Pelagial.

Die beiden letztgenannten Arten müssen dementsprechend in der Lage sein, sich sowohl den sehr hohen Salinitäten in den Solekanälchen als auch dem plötzlichen Absinken der Salinität während der Eisschmelze anzupassen. Weitere Streßfaktoren stellen die niedrigen Temperaturen in den oberen Schichten des Eises und die wechselnden Lichtbedingungen dar. Im Pelagial sind die Salinität und die Temperatur stabil, aber die Algen sind hier einem höheren Fraßdruck ausgesetzt.

In der Bodeneisgesellschaft, wo alle drei Arten vorkommen, herrschen niedrige Lichtintensitäten aber sowohl die Temperatur als auch die Salinität sind stabil. Das bedeutet, daß *E. kufferathii* im Vergleich zu den beiden anderen Arten in konstanten Bedingungen lebt.

Bisher wurde die Entwicklung der Diatomeenpopulationen der Antarktis noch nicht untersucht. Zwar gibt es zahlreiche Untersuchungen über Besiedlungsdichten und Zusammensetzungen, vor allem im antarktischen Sommer (siehe oben), aber über die Mortalitätsraten während der Eisschmelze ist nichts bekannt. Wir wissen also nicht, welche und wie viele Individuen die Veränderungen der Salinität und der Temperatur überleben. Es ist nicht einmal möglich, einen Zeitrahmen für diese Veränderungen anzugeben. Zwar kennen wir die Eisausdehnung im Jahresgang, aber kleinräumig dürfen wir nicht unbedingt von einem kontinuierlichen Schmelzprozeß ausgehen. Immer wieder brechen größere Eisstücke ab, an deren Bruchkanten sich die abiotischen Faktoren schlagartig ändern.

### 1.2 Membranen der pflanzlichen Zelle

Biologische Membranen sind aus Lipiden und Proteinen aufgebaut. Sie trennen die einzelnen Zellkompartimente und die Zelle von der Umwelt und sorgen für einen geregelten Austausch. Sie stellen eine Diffusionsbarriere für viele Stoffe dar. Dies ist die Voraussetzung für die Bildung, die Aufrechterhaltung und den geregelten Abbau von transmembranen Gradienten, die für metabolische Substanzen und die Energieproduktion akquiriert werden (WILLIAMS 1998). Pflanzen-

zellen enthalten eine Vielzahl interner Kompartimente. Jedes dieser Kompartimente ist von einer Membran umgeben. Ebenso unterschiedlich wie die Funktion der einzelnen Kompartimente sind auch ihre Membranen.

Das Plasmalemma, die äußerste Membran, sorgt für das Ionenmilieu im Zellinneren. Es ist mit 10nm die dickste Membran und hat zugleich die höchste Dichte (siehe unten Abschnitt 2.5) und einen hohen Glykoproteinanteil (STRASBURGER et al. 1991). Daneben enthält diese Membran einen hohen Anteil an Oligosacchariden, die meist an Proteine, aber auch an Lipide gekoppelt sind (SENGBUSCH 1998). Verglichen mit anderen Membranen ist der Sterolgehalt der Plasmamembran bezogen auf den Protein- oder Phospholipidgehalt hoch (HARTMANN 1998).

Die Thylakoidmembran der höheren Pflanzen weist einen besonders hohen Anteil an Galaktolipiden (~75%) (MGDG und DGDG) und mehrfach ungesättigten Fettsäuren auf, allerdings keine Sterole. Damit ist die Thylakoidmembran verglichen mit anderen Membranen sehr fluid, was essentiell für die photosynthetischen Prozesse ist (Havaux 1998, TARDY und HAVAUX 1997). Es wird angenommen, daß MGDG für den Energietransfer zwischen den unterschiedlichen Chlorophyll-Protein-Komplexen und für die Aktivität der ATP-Synthetase notwendig ist. DGDG scheint für die photosynthetische Sauerstoffevolution wichtig zu sein. Die Hüllmembran der Chloroplasten enthält geringe Mengen Sterol (HARTMANN 1998).

Die Vakuole ist von dem Tonoplasten umgeben. Auf dessen Innen- und Außen-seite sind Partikel in der Größenordnung von 85 Å Durchmesser erkennbar. Der Tonoplast der CAM-Pflanze *Kalanchoë daigremontiana* regelt seine Fluidität über den Proteingehalt, d.h. bei einer Temperaturveränderung verändert sich der Sättigungsgrad der Fettsäuren nicht (SCHOMBURG und KLUGE 1994).

Der Zellkern ist von einer inneren und einer äußeren Membran umgeben. Im Bereich der Kernporen bilden diese ein Kontinuum. Darüber hinaus besteht ein fließender Übergang zwischen der äußeren, an das Cytosol grenzenden Membran, der Kernhülle und dem Endoplasmatischen Retikulum (ER). Das ER ist ein umfangreiches interzelluläres Membransystem. Die dem Cytosol zugewandte Seite der Membran trägt häufig Ribosomen (rauhes ER). Die Membranstapel des Golgi-Apparates weisen eine deutliche Polarität auf, die durch

eine Reihe von Parametern gemessen werden kann. Es spricht einiges dafür, daß es einen Fluß von Zisternen durch den Golgi-Apparat gibt, so daß man von einem Reifungsprozeß der Membranen und der Vesikelinhalte sprechen kann (STRASBURGER 1991). Tonoplast, ER und Mitochondrienmembran enthalten Sterole, wenn auch in geringeren Mengen als das Plasmalemma (HARTMANN 1998).

### 1.2.1 Membranaufbau

Die Lipiddoppelschicht einer Membran besteht aus Lipiden mit jeweils einer nach innen gerichteten hydrophoben und einer nach außen gerichteten hydrophilen Einheit (Tabelle 1 und Abb. 5-13). Die Lipidmatrix der Doppelschicht wird nicht durch starke konvergente Bindungen sondern durch Van der Waals-Kräfte, elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen zusammengehalten (STRYER 1990).

Tabelle 1: Hydrophobe und hydrophile Komponenten der Membranlipide (STRYER 1990)

Membranlipid	hydrophobe Einheit	hydrophile Einheit	Abbildung
Phosphoglyceride	Fettsäureketten	phosphorlierter Alkohol	5, 6, 7, 9 und 13
Sphingomyelin	Fettsäureketten und Kohlenwasserstoffkette von Sphingosin	Phosphorylcholin	8
Glykolipid	wie bei Sphingomyelin	ein oder mehrere Zuckerreste	10, 11 und 12
Cholesterin	Gesamtmolekül außer der OH-Gruppe	OH-Gruppe am C-3	15

Membranen lassen sich in Bereiche unterschiedlicher Fluidität einteilen. Am fluidesten ist das Zentrum der Membran; hier befinden sich die hydrophoben Enden der Kohlenwasserstoffketten. Der Cholesterinbereich, der sich etwa bis zum 10. C-Atom der Wasserstoffketten erstreckt, ist ebenso hydrophob jedoch weniger fluid als das Membranzentrum. Der hydrophile Bereich der Phospholipidgruppen weist die geringste Fluidität auf (ALBERTS et al. 1989).

Die Fluidität der einzelnen Membranbereiche hängt von den jeweiligen Kopfgruppen und Fettsäuren ab. Vergleicht man den Einfluß von Phosphatidylcholin (Abb. 5) und Phosphatidylethanolamin (Abb. 6), so setzt Phosphatidylethanolamin die Fluidität der Membran herab, denn die Aminosäure ihrer Kopfgruppe kann Wasserstoffbindungen zu benachbarten Phosphatgruppen ausbilden.

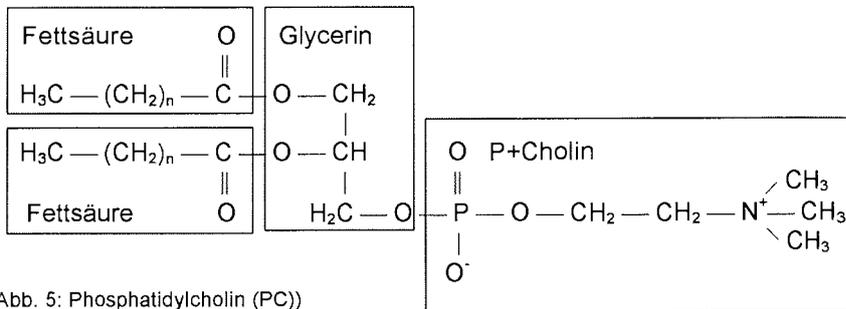


Abb. 5: Phosphatidylcholin (PC)  
Trivialname: Lecithin

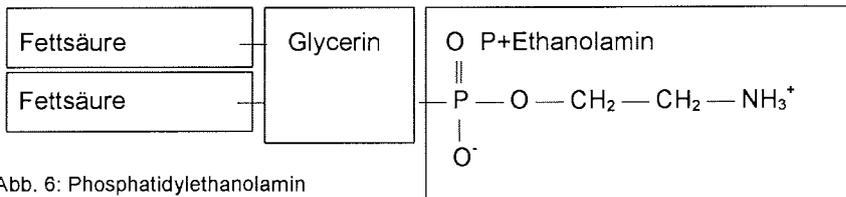


Abb. 6: Phosphatidylethanolamin (PE)

Phosphatidylinositol (Abb. 7) ist neben Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin ein in der Plasmamembran häufig vertretenes Glycerolipid. Es kann wie in der hier dargestellten Form vorliegen oder mit ein bis zwei weiteren Phosphatgruppen verknüpft sein. Bei der Freisetzung von Ca<sup>+</sup>-Ionen aus dem Cytoplasma hat das von dem Lipid freigesetzte 1,4,5-Inosit-Phosphat eine zentrale Rolle als second messenger (ALBERTS et al. 1989).

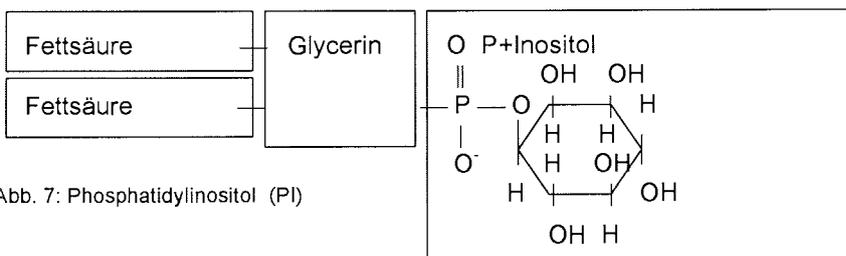


Abb. 7: Phosphatidylinositol (PI)

Die Lipide der Plasmamembran bestehen aus den genannten Glycerolipiden, Sphingomyelin und Sterol. Sphingomyelin (Abb. 8) ist im Gegensatz zu allen anderen Membranphosphatlipiden kein Derivat des Glycerins (Streyer 1990). Im Zusammenwirken mit PC sorgt ein steigender Anteil von Sphingomyelin für eine höhere Membranfluidität.

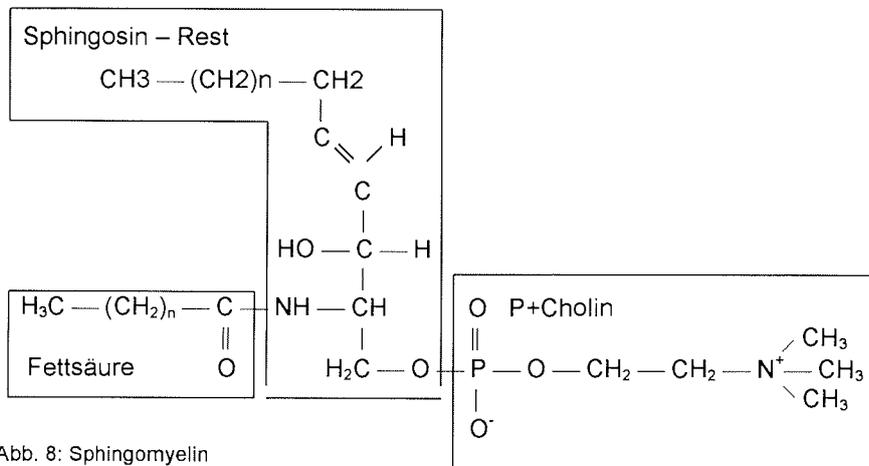


Abb. 8: Sphingomyelin

Neben PC und PE sind in der Mitochondrienmembran zwei weitere Phospholipide - Phosphatidylserin (Abb. 9) und Diphosphatidylglycerin - vertreten (HELDT 1996). PC erhöht auch hier die Fluidität der Membran.

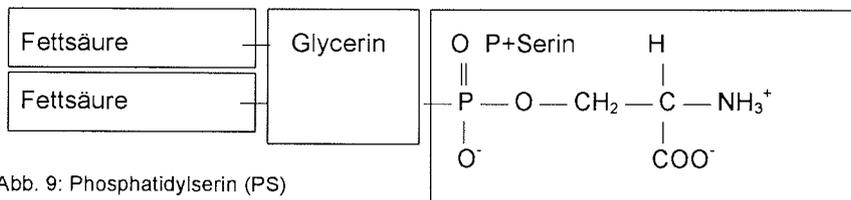


Abb. 9: Phosphatidylserin (PS)

Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) und Digalactosyldiacylglycerol (DGDG), zwei zuckerhaltige Derivate des Glycerins, sind Hauptbestandteile der Thylakoidmembran (SELSTAM 1990). Die zweite Zuckereinheit im DGDG-Molekül macht die Kopfgruppe besonders sperrig. Sie nimmt mehr Raum ein als die Fettsäurereste. Bei MGDG kehrt sich dieses Bild um: hier nimmt die Kopfgruppe weniger Raum ein als die Fettsäuren (WILLIAMS 1998). Deshalb bildet MGDG in Wasser eine *reversed hexagonal phase* (siehe S. 21) aus (SELSTAM

1990, WILLIAMS 1998). In einer pflanzlichen Zelle sind 70-80% der Membranen Thylakoidmembranen. Da Phosphat oftmals einen limitierenden Faktor darstellt, war es sicherlich für die Evolution der Pflanzen von Vorteil, daß sie bei der Synthese des überwiegenden Teiles ihrer Membranlipide von der Phosphatversorgung unabhängig waren (HELDT 1996).

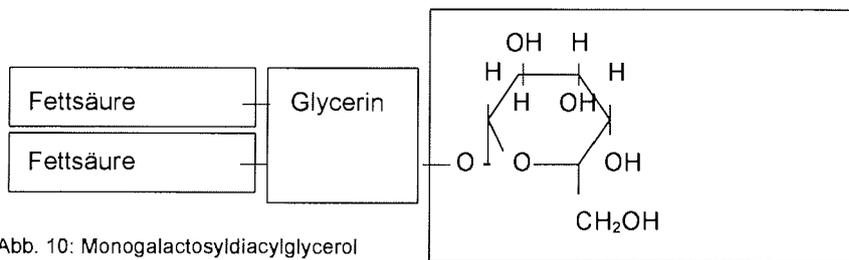


Abb. 10: Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG)

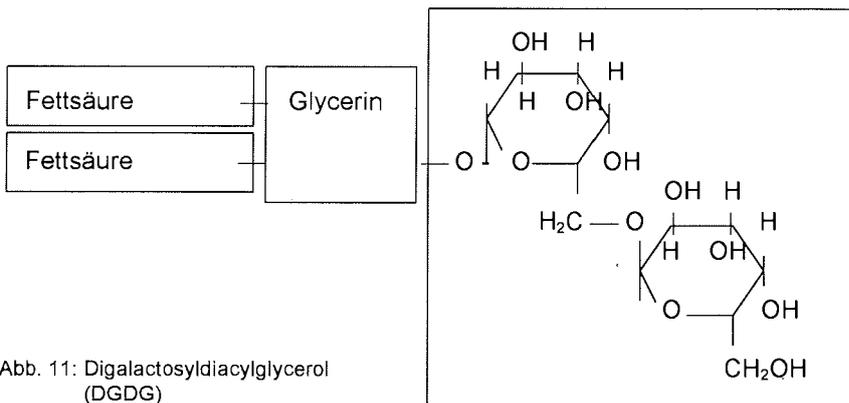


Abb. 11: Digalactosyldiacylglycerol (DGDG)

Sulphoquinovosyldiacylglycerol (Abb. 12) ist ein weiteres Glykolipid und ebenfalls nur in der Thylakoidmembran vorzufinden.

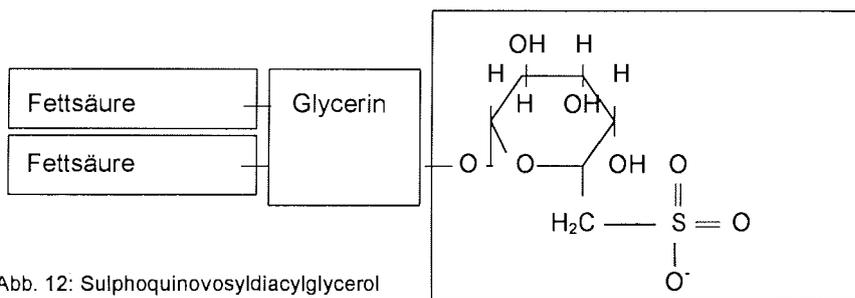


Abb. 12: Sulphoquinovosyldiacylglycerol (SQDG)

Neben den Glykolipiden sind in der Thylakoidmembran die Phospholipide PC, PI und Phosphatidylglycerol (Abb. 13) vorhanden.

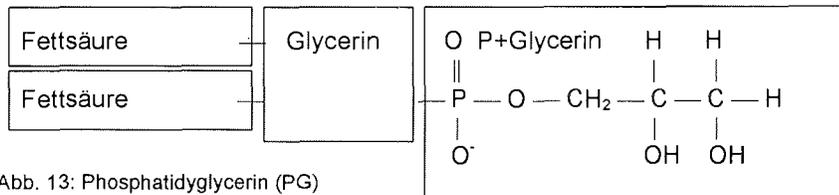


Abb. 13: Phosphatidylglycerin (PG)

Bereits geringe Veränderungen der umweltbedingten physiochemischen Faktoren haben einen direkten und starken Einfluß auf das molekulare Milieu der Membranen, und dies wiederum kann weitreichende Effekte auf die Membranfunktionen haben. Unter normalen Konditionen befinden sich zelluläre Membranen in der lamellaren, flüssig-kristallinen Phase. In diesem Zustand ist die Membran voll funktionsfähig. Mit den Umweltbedingungen verändern sich die molekulare Organisation der Membran, deren Ordnungsgrad sowie die Bewegungsraten der Moleküle. Die Fettsäureketten der Phospho-, und Glykolipide werden dichter oder weniger dicht gepackt. An einem Ende dieses Spektrums wechseln die Membranen von der flüssig-kristallinen Phase in die Gel-Phase. Hierfür können tiefe Temperaturen oder hoher Druck verantwortlich sein. Lipide in der Gel-Phase sind stark geordnet, und die Membran ist generell nicht funktionsfähig. Die Membranfunktionen sind allerdings schon erheblich gestört bevor der Phasenübergang von der flüssig-kristallinen zur Gel-Phase erfolgt. Am anderen Ende des Spektrums wechseln die Membranen von der flüssig-kristallinen Phase in die *reversed hexagonal phase*. Hierfür können entsprechend hohe Temperaturen oder niedriger Druck verantwortlich sein. Der Ordnungsgrad der Lipide ist stark herabgesetzt. Die lamellare Anordnung der Lipide wird aufgehoben. Die Lipide orientieren sich *reversed hexagonal*, d.h. es bilden sich Zylinder aus Phospholipiden, wobei die polaren Kopfgruppen nach innen und die Fettsäuren nach außen zeigen. Beim Phasenübergang von der kristallinen zur hexagonalen Phase wird die Fähigkeit der Membranen zur Kompartimentierung aufgehoben: der Zelltod tritt ein (WILLIAM 1998).

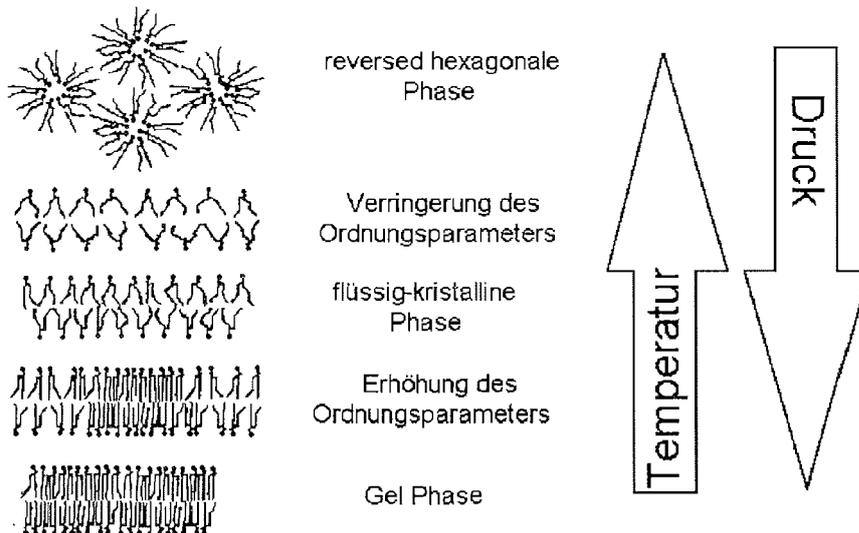


Abb.15: Unterschiedliche Phasen der Membranen. Änderungen der Temperatur oder des Drucks beeinflussen biologische Membranen. Auch andere physiochemische Faktoren (pH, Salinität, Ionenkonzentration und Wasserangebot) können die Membran beeinflussen. Unter normalen Umständen liegen biologische Membranen in der flüssig-kristallinen Phase vor (WILLIAMS 1998).

Die Aufrechterhaltung der flüssig-kristallinen Phase auch bei veränderten Umweltbedingungen ist somit lebensnotwendig für die Zellen aller Organismen (WILLIAMS 1998). Die Zelle regelt die Membranfluidität durch Veränderungen der folgenden Parameter:

- *Cholesterin-Lipid-Verhältnis:* die Zunahme der Cholesterinkonzentration bewirkt eine erhöhte Rigidität der Membran. Es kommt zu einer Erhöhung der Viskosität und des Ordnungsparameters des gesamten Bilayers. Allerdings bewirkt Cholesterin unterhalb des Phasenübergangs von der flüssig kristallinen zur Gel Phase das Gegenteil, nämlich eine Zunahme der Fluidität verbunden mit einer Abnahme des Ordnungsparameters.
- *Verhältnis zwischen ungesättigten und gesättigten Fettsäuren:* das Einfügen einer cis-Doppelbindung in eine vollständig gesättigte Acylkette impliziert eine Erhöhung ihres Volumens und führt somit zu einer Reduktion der Viskosität im Zentrum des Bilayers. Weitere Doppelbindungen haben einen weitaus geringeren Effekt.

- *Phosphatidylcholin-Sphingomyelin-Verhältnis*: der Gesamtgehalt der beiden Komponenten bleibt konstant, nur ihr relatives Verhältnis ändert sich. Bei einer Zunahme des Sphingomyelins erhöht sich die Viskosität, bei einer Zunahme von Phosphatidylcholin die Fluidität.
- *Phosphatidylethanolamin*: da die erste Aminosäure der Kopfgruppe von Phosphatidylethanolamin Wasserstoffbindungen zu benachbarten Phosphatgruppen bildet, wird die Viskosität bei einer Zunahme des Phosphatidylethanolamin-Phosphatidylcholin-Verhältnisses größer.
- *Proteingehalt*: der Effekt der Proteine auf die Viskosität kann mit dem des Cholesterins verglichen werden, denn beide erhöhen den Ordnungsparameter der Lipide und haben den gegenteiligen Effekt unterhalb der Phasenübergangstemperatur (ENGELKE 1990).
- *Verhältnis von Monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) zu Digalactosyldiacylglycerol (DGDG)*: diese Galaktolipide treten vor allem in Thylakoidmembranen auf und sorgen für die hohe Fluidität dieser Membran (SELSTAM 1990).

### 1.2.2 Membranstruktur und homeoviskose Adaptation

In allen Membranen kann die Membranfluidität durch Veränderung der Fettsäuren oder der Sterole beeinflusst werden, während die „Grundfluidität“ durch die Kopfgruppen der Lipide bestimmt ist. Beispielsweise sind Thylakoidmembranen hauptsächlich aus MGDG und DGDG aufgebaut. Ihre Fluidität ist somit höher als die der Plasmamembran.

An Membranen findet eine Vielzahl metabolischer Prozesse statt. So sind alle Proteine der Photosynthese membrangebunden. Die Aufrechterhaltung des physikalischen Zustands einer Membran, der sich in ihrer Viskosität und Fluidität manifestiert, hängt von dem Sättigungsgrad der Membran ab und ist ein Mechanismus zur Adaptation. Aus dieser Sicht kann die Membran als ein Makrosystem (Gesamtmembran) angesehen werden, das für die gesamte Umwelt (Zelle) verantwortlich ist. Alternativ kann die Membran angesehen werden als eine Einheit interaktiver Untersysteme, bestehend aus verschiedenen Lipidklassen mit speziellen Fettsäuren und Proteinkomplexen, welche sich in ihren Interaktionen mit ihrer Mikroumwelt unterscheiden (Los 1997). In dieser Untersuchung, in der die Fettsäuren und Sterole der gesamten Zelle oder Membranfraktion unter-

sucht wurden, können ebenso wie in den Untersuchungen von Los (1997) nur Aussagen zu dem Makrosystem gemacht werden.

Die Aufrechterhaltung der flüssig-kristallinen Membranphase wurde als homeophasische Adaptation bezeichnet (McELHANEY 1984). Das Konzept der homeoviskosen Adaptation (SINENSKY 1974) besagt, daß die Zellen die Membranordnung bzw. Membranfluidität auf ein genaues Maß einstellen und halten. Die Theorien der homeophasischen und der homeoviskosen Adaptation besagen, daß Änderungen in der Membranzusammensetzung notwendig sind, um die wichtigen physikalischen Proportionen der Membran aufrecht zu erhalten. Beide Modelle erscheinen sehr sinnvoll, führen allerdings zu keiner vollständigen Erklärung der Unterschiede, die in temperatur-akklimatisierten Spezies gefunden wurden. Besonders Membranen aus Organismen, die der Kälte ausgesetzt waren, zeigen ein hohes Verhältnis von Phosphatidylethanolamin zu Phosphatidylcholin (PE/PC) und eine Zunahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren der Phospholipide (HAZEL und WILLIAMS 1990). Diese Veränderungen in der Lipidkomposition der Membran stimmen nicht immer überein mit der Regulierung der Membranordnung (LEE 1991; HAZEL 1995). Zum Beispiel können PE-Moleküle intermolekulare Wasserstoffbrücken ausbilden, was eine Zunahme der Membranordnung bewirkt. Eine Zunahme von PE bei abnehmender Temperatur paßt nicht in das Modell der homeoviskosen Adaptation. Auch die Monoene und Diene (Fettsäuren mit einer oder zwei Doppelbindungen) sind effektvoller in der Veränderung der Membranfluidität als mehrfach ungesättigte Fettsäuren (HOLTE et al. 1995). Folglich ist anzunehmen, daß während der Akklimatisation an veränderte Umweltbedingungen neben der Membranordnung, einer wichtigen physikalischen Eigenschaft, auch andere Eigenschaften aufrecht erhalten werden müssen. Es ist möglich, daß diese anderen Eigenschaften ebenso wichtig sind wie die Membranordnung. So stellt sich die Frage, welche Eigenschaften der Membran neben der Membranordnung durch Veränderungen der Membranzusammensetzung beeinflußt werden. Welches sind ihre physikalischen Eigenschaften? (WILLIAMS 1998).

Die Neigung einer Membran hexagonale Phasen zu formen, ist eine Eigenschaft, die das Fusionspotential der Membran einrichtet und die Aktivität vieler Enzyme reguliert. Sie wird unter einer großen Variation von umweltbedingten Verhältnissen verteidigt. Diese Verteidigung wird erreicht durch die Verschiebungen in der

Relation zwischen Lipiden, die hexagonale bzw. lamellare Phasen formen (SELSTAM 1990, WILLIAMS 1998).

Die genaue Struktur des lipidbestimmten Funktionsbereichs (Domänen) einer bestimmten Membran könnte der Schlüssel für zahlreiche Zellfunktionen sein, z.B. für die Bildung von Vesikeln und die Regulation von Enzymen. Da die Idee der lipidbestimmten Funktionsbereiche relativ neu ist, stehen die Untersuchungen der physiologischen Funktionen, die eine Beteiligung benötigen, noch aus. Es ist noch nicht erforscht, wie diese Strukturen durch Veränderungen der physiochemischen Umwelt beeinflusst werden. Bisher ist lediglich bekannt, daß lipidbestimmte Funktionsbereiche stark beeinflusst werden durch den Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren und an Cholesterol. Eine befriedigende Erklärung für die Akkumulation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Membran von kälteakklimatisierten Spezies ist bisher nicht möglich. Auch die Rolle des Cholesterol in diesem Prozeß ist noch nicht erforscht. Vielleicht liegt die Erklärung für beides in der Erhaltung der Struktur der lipidbestimmender Funktionsbereiche der Membran. Die Beteiligung von Membrandomänen an wichtigen Zellfunktionen und die komplexen Strukturen der Membrandomänen legen nahe, daß irgendeine Form der Anpassung in diesen Strukturen stattfindet, wenn die Zellen wechselnden physiochemischen Umweltbedingungen ausgesetzt sind (WILLIAMS 1998).

### **1.2.3 Nomenklatur der Fettsäuren**

Da in dieser Arbeit die umweltbedingten Veränderungen der Fettsäuren und Sterole untersucht wurden, befassen sich die nächsten Abschnitte mit deren Nomenklatur und Synthese.

Fettsäuren tragen systematische und triviale Namen oder werden wie folgt abgekürzt: X:Y (n-Z). Der systematische Name wird vom betreffenden Kohlenwasserstoff unter Beifügung des Zusatzes -säure abgeleitet. Zum Beispiel bezeichnet man die gesättigte C18-Fettsäure als Octadecansäure, da der entsprechende Kohlenwasserstoff das Octadecan ist. In der Abkürzung gibt X die Anzahl der Kohlenstoffatome an, Y die Anzahl der Doppelbindungen und Z die Position der ersten Doppelbindung vom Methylende der Kohlenstoffkette aus gezählt.

Der Kohlenstoff der Methylgruppe wird  $\omega$ -Kohlenstoff genannt. Die Position der Doppelbindung wird auch durch das Symbol  $\Delta$  mit einer hochgestellten Indexziffer angegeben. In diesem Fall wird allerdings vom Carboxylende gezählt. (Heldt 1996).

### 1.2.4 Fettsäuresynthese

Die Synthese eines Moleküls wird durch zahlreiche Faktoren gesteuert. Bei Proteinen muß der genetische Code vorhanden sein und abgelesen werden. Die Grundbaustoffe, die Zwischenprodukte und die zur Synthese notwendigen Enzyme müssen verfügbar sein, d.h. sie müssen sich zur richtigen Zeit am richtigen Ort befinden. Ein Regelmechanismus zum Ein- und Ausschalten der Synthese muß existieren.

Die Synthese der Phospho- oder Glykolygeride erfolgt in mehreren Schritten in unterschiedlichen Zellkompartimenten. Ausgangsprodukt für die Fettsäuresynthese ist Acetyl-CoA. In Chloroplasten - dem Ort der Fettsäuresynthese - wird es hauptsächlich aus Acetat unter ATP-Verbrauch und in Mitochondrien aus Pyruvat unter Reduktion der Pyruvatdehydrogenase gebildet (Abb.15).

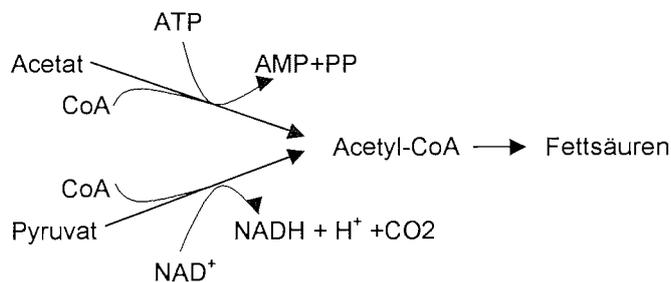


Abb. 15: Beide Bildungswege des Acetyl-CoA (HELDT 1996)

Das Acetyl-CoA wird durch die Acetyl-CoA-Carboxylase unter ATP-Verbrauch zu Malonyl-CoA carboxyliert (Abb. 16). In einem nachfolgenden Schritt wird CoA durch das Acylcarrierprotein (ACP) ausgetauscht. Die  $\beta$ -Ketoacyl-ACP-Synthase III katalysiert die Kondensation von Acetyl-CoA mit dem Malonyl-ACP. Durch die Freisetzung von CO<sub>2</sub> ist diese Reaktion irreversibel. Das gebildete Acetoacetat bleibt als Thioester an ACP gebunden und wird unter NADPH-Verbrauch zu  $\beta$ -D-Hydroxyacyl-ACP reduziert. Nach einer Wasserabspaltung wird die entstandene Kohlenstoffdoppelbindung durch NADPH zu Acyl-ACP reduziert. Nach

Ablauf der gezeigten Reaktionsfolge wiederholt sich diese ab der Kondensation von Acetyl-CoA mit Malonyl-ACP, mit dem einzigen Unterschied, daß nun Acyl-ACP mit Malonyl-ACP kondensiert wird. Das Produkt ist eine um jeweils zwei Kohlenstoffatome verlängerte Fettsäure. Durch diese Multienzymprozesse entstehen gesättigte Fettsäuren mit 16-C-Atomen (HELDT 1996, STRYER 1990, FALBE und REGNITZ 1995).

Die Acetyl-CoA-Carboxylase ist als Startenzym der Fettsäuresynthese eine wichtige Regulationsstelle. Ihre Reaktion wird als geschwindigkeitsbestimmender Schritt der Fettsäuresynthese angesehen. Es gibt eine eukaryotische und eine prokaryotische Form der Acetyl-CoA-Carboxylase. Die eukaryotische Form besteht aus einem multifunktionalen Enzymkomplex und ist im Cytoplasma lokalisiert. Die prokaryotische Form ist ein Multienzymkomplex mit den drei Untereinheiten Biotin-Carboxylase, Biotin-Carboxylcarrier-Protein und Carboxyl-Transferase. Sie sitzt im Stroma der Plastiden und hat große Ähnlichkeit mit den Acetyl-CoA-Carboxylasen in Bakterien; daher bezeichnet man sie als prokaryotische Form der Acetyl-CoA-Carboxylase. Es sei aber betont, daß sowohl die eukaryotische als auch die prokaryotische Form im Kern codiert wird. Lediglich ein Protein des prokaryotischen Enzyms wird möglicherweise im Plastiden codiert (HELDT 1996).

Die Fettsäure 16:0 wird entweder durch eine weitere  $\beta$ -Ketoacyl-ACP-Synthase zu einer C18-Fettsäure verlängert und dann auch meist mit einer Doppelbindung versehen oder direkt auf Glycerin-3-Phosphat übertragen.

Bei der plastidären Lipidsynthese werden die Acylreste direkt vom Acyl-ACP auf Glycerin-3-Phosphat übertragen. Bei der Acylierung in Position C-1 wird meist ein 18:1-, seltener ein 16:0- und nur in Ausnahmen ein 18:0-Acylrest übertragen. In Position C-2 wird stets ein 16:0-Acylrest übertragen. Da man diese Spezifität auch bei Cyanobakterien beobachtet, bezeichnet man die Glycerolipidsynthese der Plastiden auch als prokaryotischen Weg (HELDT 1996).

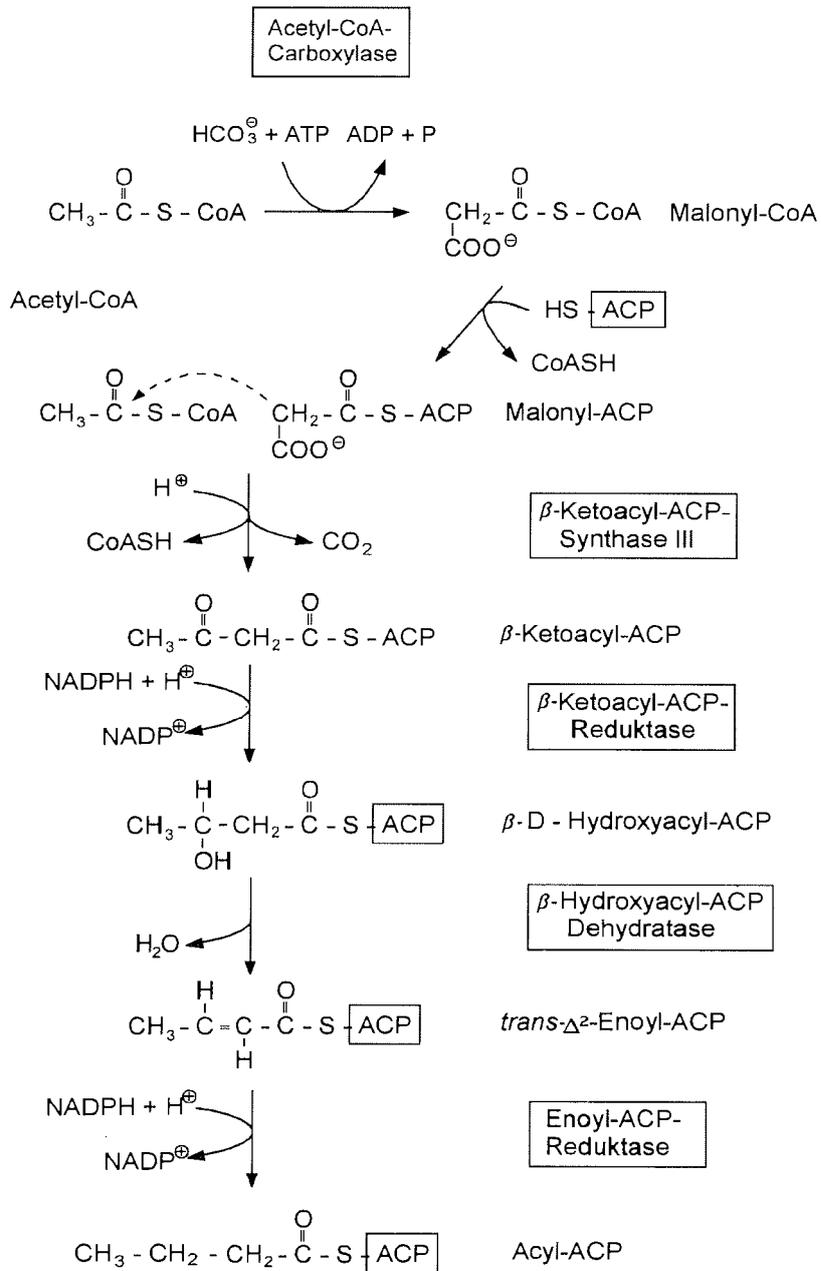


Abb. 16: Reaktionssequenz für die Synthese von Fettsäuren: Aktivierung, Kondensation, Reduktion, Abspaltung von Wasser und abermalige Reduktion verlängern die Fettsäuren um zwei C-Atome (HELDT 1996).

Für die Glycerolipidsynthese an der ER-Membran wird das im Chloroplasten gebildete Acyl-ACP durch Acyl-ACP-Thioesterasen hydrolytisch in freie Fettsäuren und ACP gespalten. Die freigesetzten Fettsäuren verlassen den Plastiden und werden an der äußeren Hüllmembran durch eine Acyl-CoA-Synthase unter ATP-Verbrauch zu Acyl-CoA umgesetzt. An der ER-Membran wird nun der Acylrest von Acyl-CoA auf das Glycerin-3-Phosphat übertragen. Auch hier wird in C1-Position ein 18:1-, 16:0- oder 18:0-Acylrest übertragen, in C2-Position jedoch stets ein C<sub>18</sub>-Acylrest unterschiedlichen Desaturasegrades. Man spricht von einem eukaryotischen Weg (HELDT 1996) (Abb. 17).



Abb. 17: Erste Produkte des prokaryotischen (A) und des eukaryotischen (B) Weges der Glycerolipidsynthese

Die Elongasen und Desaturasen reagieren spezifisch auf Fettsäuren der C1- und C2-Position und auf die verschiedenen Kopfgruppen der Lipide. Die Glycerolipide sind unterschiedlich in den Zellkompartimenten verteilt, somit unterscheidet sich auch die Lipidsynthese der einzelnen Kompartimente (HELDT 1996, ARAO et al. 1994). Auch in den weiteren Produkten lassen sich der prokaryotische und der eukaryotische Weg verfolgen:

Tabelle 2: Eukaryotischer und prokaryotischer Syntheseweg der Glycerolipide in Spinat, Tabak, Weizen, Gurke und *Phaeodactylum tricorutum* (ARAO et al. 1994)

	PC	PG	MGDG, DGDG, SQDG
16:3-Pflanzen (Spinat und Tabak)	eukaryotisch	prokaryotisch	eukaryotisch prokaryotisch
18:3-Pflanzen (Weizen und Gurke)	eukaryotisch	prokaryotisch	eukaryotisch
Diatomeen <i>P. tricorutum</i>	eukaryotisch prokaryotisch	prokaryotisch	prokaryotisch

Nur in Ausnahmefällen sind in einem Glycerolipid zwei identische Fettsäuren vertreten. Diese Unterschiede in Länge und Sättigungsgrad der C1- und C2-Fettsäuren haben ebenfalls einen Einfluß auf die Membranfluidität. Je homogener die unterschiedlichen Fettsäuren in der Membran vorliegen, je seltener also identische Fettsäuren direkt nebeneinander liegen, desto fluidier ist eine Membran. Der Sättigungsgrad der C2-Fettsäuren hat einen wichtigeren Einfluß auf die Membranfluidität und die Temperatur des Phasenübergangs als der Sättigungsgrad der C1-Fettsäuren (DAVIS et al. 1981).

### 1.2.5 Nomenklatur der Sterole

Es bestehen einige Unterschiede zwischen tierischen und pflanzlichen Sterolen. In tierischen Zellen wird nur ein Sterol (Cholesterin) synthetisiert, während in pflanzlichen Zellen viele unterschiedliche Phytosterole gebildet werden. Diese haben eine besondere Bedeutung für die Membran, denn Verästelungen der Seitenkette erhöhen die Fluidität.

Die Struktur des Cholestanols stellt die Grundstruktur aller beschriebenen Sterole dar. Es handelt sich um einen C<sub>27</sub>-Körper mit einer Seitenkette am C17-Atom. Die einzelnen Ringe werden mit A, B, C und D bezeichnet und die C-Atome entgegen dem Uhrzeigersinn durchnummeriert (Abb. 18).

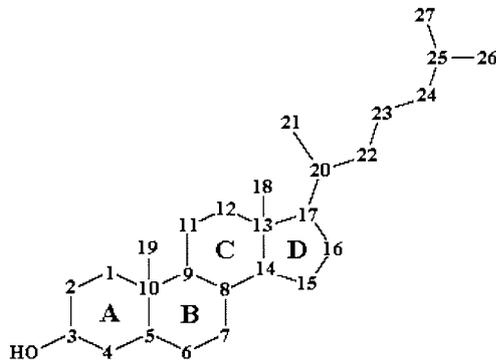


Abb. 18: Grundgerüst der Sterole mit Numerierung der C-Atome und Ringbezeichnung

Am C10-Atom ist die C19-Methylgruppe und am C13-Atom die C18-Methylgruppe angelagert. Diese beiden Methylgruppen liegen definitionsgemäß über der Ebene, die durch die vier Ringe gebildet wird. Die räumliche Stellung der vier Ringe des Grundgerüsts zueinander kann für die Sterole fast immer mit

$5\alpha$ ,  $8\beta$ ,  $9\alpha$ ,  $10\beta$ ,  $13\beta$ ,  $14\alpha$  und  $17\alpha$  angegeben werden, wobei ein Substituent, der über der Bildebene liegt, als  $\beta$ -orientiert und ein darunterliegender als  $\alpha$ -orientiert bezeichnet wird (Abb. 19).

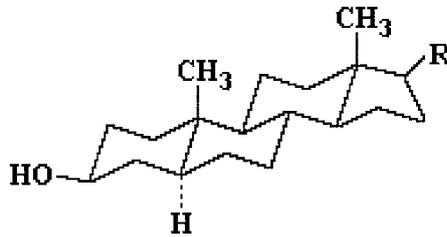


Abb. 19: Sterolchemie der Ringverknüpfungen im Sterolgerüst (mit R ist die Seitenkette bezeichnet)

Ein Wasserstoffatom, das am C5 Atom sitzt, kann  $\alpha$ - oder  $\beta$ -orientiert sein. Ist es  $\alpha$  verknüpft, wie bei pflanzlichen Sterolen üblich, so sind die Ringe A und B in *trans*-Konformation verknüpft. Eine Konformationsänderung am C5-Atom ruft eine Krümmung des Sterols hervor. Diese Umwandlung in eine *cis*-Konformation findet bei der bakteriellen Umwandlung im Darm von Säugetieren statt. Sterole mit *cis*-Konformation dienen häufig zum Nachweis fäkaler Abwässer menschlicher Ansiedlungen. In der Meeresforschung dienen Sterole mit *cis*-Konformation als Marker für marine Säuger (HANKE 1995).

Die Nomenklatur der Sterole folgt hier im wesentlichen den IUPAC-Nomenklaturregeln, wobei die dem Grundgerüst (Cholestanol) zugefügten oder fehlenden Substituenten sowie ungesättigten Bindungen angegeben werden. Die gegenüber der Grundstruktur fehlenden Kohlenstoffatome werden mit der Vorsilbe "Nor-" unter Angabe der Position benannt. Zusätzlich eingefügte Gruppen werden ebenfalls mit Angabe des substituierten Atoms benannt.

Ein weiteres chirales Zentrum entsteht am C24-Atom durch die Einfügung eines Substituenten an dieser Stelle (Abb. 20). Die durch unterschiedliche Konfiguration am C24-Atom entstehenden Diastereomerenpaare lassen sich entweder durch zeitaufwendige, gaschromatographische Techniken (MAXWELL et al. 1980) oder anhand eines NMR-Spektrums, das die unterschiedlichen Schmelzpunkte und optischen Rotationen berücksichtigt, trennen. Folgen die drei Substituenten am C24-Atom bei abnehmender Priorität dem Uhrzeigersinn, so wird dies als R-Konfiguration bezeichnet (*rectus*, lat. = rechts). Orientieren sie sich entgegen

dem Uhrzeigersinn, spricht man von einer S-Konfiguration (sinister, lat. = links). Zu bemerken ist hierbei, daß die unterschiedlichen Algengruppen entweder die 24R- oder 24S-Konfiguration synthetisieren (GoAD 1985). Die an das C24-Atom substituierten C-Atome werden entweder mit C28 und C29 oder mit C24<sup>1</sup> und C24<sup>2</sup> bezeichnet (HARTMANN 1998).

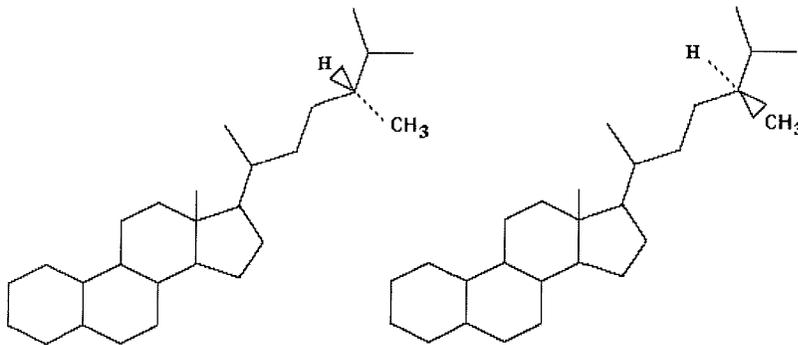


Abb 20: R und S Konfiguration bei Sterolen

Die Schwierigkeiten bei der Identifizierung der Diastereomerenpaare haben Auswirkungen auf die verwendete Bezeichnung der Sterole. In der Sterolliteratur werden gerne die Trivialnamen verwendet. Leider ist diese Verwendung häufig nicht korrekt, da eine Überprüfung der Stereochemie nicht stattfand, die Trivialnamen aber eine bestimmte Konfiguration benennen. Zum Beispiel wird 24-Ethylcholesta-5,22E-dien-3 $\beta$ -ol oftmals als Stigmasterol bezeichnet, obwohl es sich auch um Poriferasterol handeln könnte. Stigmasterol unterscheidet sich von Poriferasterol nur durch die Stereochemie, Stigmasterol ist S und Poriferasterol R orientiert (Tabelle 3). Auch wenn die Lesbarkeit dieser Arbeit beeinträchtigt wird, werden bei den eigenen Untersuchungen die wissenschaftlichen Namen und bei Literaturangaben die jeweils verwendeten Bezeichnungen angeführt. Nur in Tabelle 17 werden ausschließlich die wissenschaftlichen Namen verwendet.

Tabelle 3: Wissenschaftliche Bezeichnungen und Trivialnamen wichtiger Sterole

Wissenschaftlicher Name	Trivialname
24-Norcholesta-5,22 <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	Norcholestadienol
27-Nor-24-methylcholesta 5,22 <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	24 <i>S</i> Occelasterol
Cholesta-5,22 <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	22-Dehydrocholesterol,
Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol	Cholesterol, (Cholesterin)
24-Methylcholesta-5,22 <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	24 <i>S</i> Brassicasterol,
	24 <i>R</i> Crinosterol
24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol	Chalinasterol,
	24 Methylenecholesterol
24-Ethylcholesta-5,22 <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	24 <i>S</i> Stigmasterol,
	24 <i>R</i> Poriferasterol
24-Ethylcholesta-5-en-3 $\beta$ -ol	24 <i>R</i> $\beta$ -Sitosterol,
	24 <i>S</i> Clionasterol = $\gamma$ -Sitosterol
24-Ethylcholesta-5,24(28) <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	20 <i>R</i> Fucosterol,
	20 <i>S</i> Sargasterol
24-Ethylcholesta-5,24(28) <i>Z</i> -dien-3 $\beta$ -ol	(24 <i>Z</i> ) Avenasterol,
	Isofucosterol
24-Propylcholesta-5,24(28) <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	24- <i>n</i> -Propylidencholesterol
24-Propylcholesta-5,24(28) <i>Z</i> -dien-3 $\beta$ -ol	24- <i>n</i> -Propylidencholesterol
4-Methyl-24ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol	
Cholestan	Cholestan
5 $\beta$ -Cholestan-3 $\beta$ -ol	Coprostanol
5 $\alpha$ -Cholestan-3 $\beta$ -ol	Cholestanol
Cholestan-5,24-dien-3 $\beta$ -ol	Desmosterol
24-Methylcholest-22-en-3 $\beta$ -ol	
24-Methylcholesta-5,7,22 <i>E</i> -trien-3 $\beta$ -ol	24 <i>S</i> Ergosterol
24-Methylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol	24 <i>R</i> Campesterol,
	24 <i>S</i> 22-Dihydrobrassicasterol
24-Ethylcholesta-5,7,22 <i>E</i> -trien-3 $\beta$ -ol	Corbisterol
24-Ethylcholesta-5,22 <i>E</i> -dien-3 $\beta$ -ol	24 <i>S</i> Stigmasterol
	24 <i>R</i> Poriferasterol
4 $\alpha$ -23, 24-Trimethylcholest-22 <i>E</i> -en-3 $\beta$ -ol	24 <i>R</i> Dinosterol
4 $\alpha$ -23, 24-Trimethylcholestan-3 $\beta$ -ol	Dinostanol

### 1.2.6 Sterolsynthese

Die Sterolsynthese findet im Cytoplasma am Endoplasmatischen Retikulum statt (LICHTENTHALER 1998). Die ersten Schritte zur Sterolesynthese bis hin zum Squalen verlaufen entweder über den seit langem bekannten Mevalon- oder über den 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat-Syntheseweg (DOXP-Syntheseweg). Beim Mevalonsyntheseweg werden aus Acetyl-CoA über Mevalonsäure und 3-Iso-pentenylpyrophosphat (IPP) Squalen gebildet.

Ausgangsstoffe des DOXP-Synthesewegs sind Pyruvat und D-glyceraldehyde-3-phosphat (GAP). Pyruvat wird decarboxyliert und bildet mit GAP 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat. Durch C-C-Umlagerungen wird 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat in IPP überführt. 2-C-Methyl-D-erythrose-4-phosphat und 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat sind potentielle Intermediate (SCHWENDER et al. 1997, LICHTENTHALER 1998). Im Plastiden erfolgt die Synthese von Squalen über den 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat-Syntheseweg, im Cytoplasma über den Mevalonsyntheseweg. Neben Sterolen werden aus IPP auch Phytol,  $\beta$ -Carotene, Lutein und Plastoquinone gebildet. Während die weitere Synthese der Sterole im Cytoplasma stattfindet, werden Phytol,  $\beta$ -Carotene, Lutein und Plastoquinone im Plastiden synthetisiert. Entsprechend stammt das Squalen zur Sterolsynthese hauptsächlich aus dem Mevalonsyntheseweg (LICHTENTHALER 1993; LICHTENTHALER 1998).

Squalen wird nach vorheriger Oxidation zum Squalenepoxid in photosynthetischen Pflanzen zu Cycloartenol (4,4,14 $\alpha$ -Trimethyl-9 $\beta$ ,19-cyclocholesta-24-en-3 $\beta$ -ol) zyklisiert. In tierischen Zellen dient Lanosterol (4,4,14 $\alpha$ -Trimethylcholesta-8,24-dien-3 $\beta$ -ol) als Zwischenprodukt (THIELE 1979, HANKE 1995).

Zur Bildung von C<sub>27</sub>-Sterolen werden von Cycloartenol oder Lanosterol je eine Methylgruppe vom C4- und eine vom C14-Atom durch oxidative Decarboxylierung enzymatisch abgespalten. Zur Reduktion der ungesättigten Seitenkette wird genauso wie zur Reduktion der Fettsäuren NADPH genutzt (THIELE 1979). Die Seitenkette der marinen Sterole entstehen durch Bioalkylierungen mit S-Adenosylmethionin (SAM) aus den C<sub>27</sub>-Vorgängern. So wird 24-Methylcholesta-5,22E-dien-3 $\beta$ -ol aus Cholesta-5,24-dien-3 $\beta$ -ol durch enzymatische Methylierung mit SAM synthetisiert und durch weitere Methylierung zu einem C<sub>29</sub>-Sterol oder C<sub>30</sub>-Sterol umgesetzt (DJERASSI, 1981). Hierbei ist auch eine Ethylierung mit

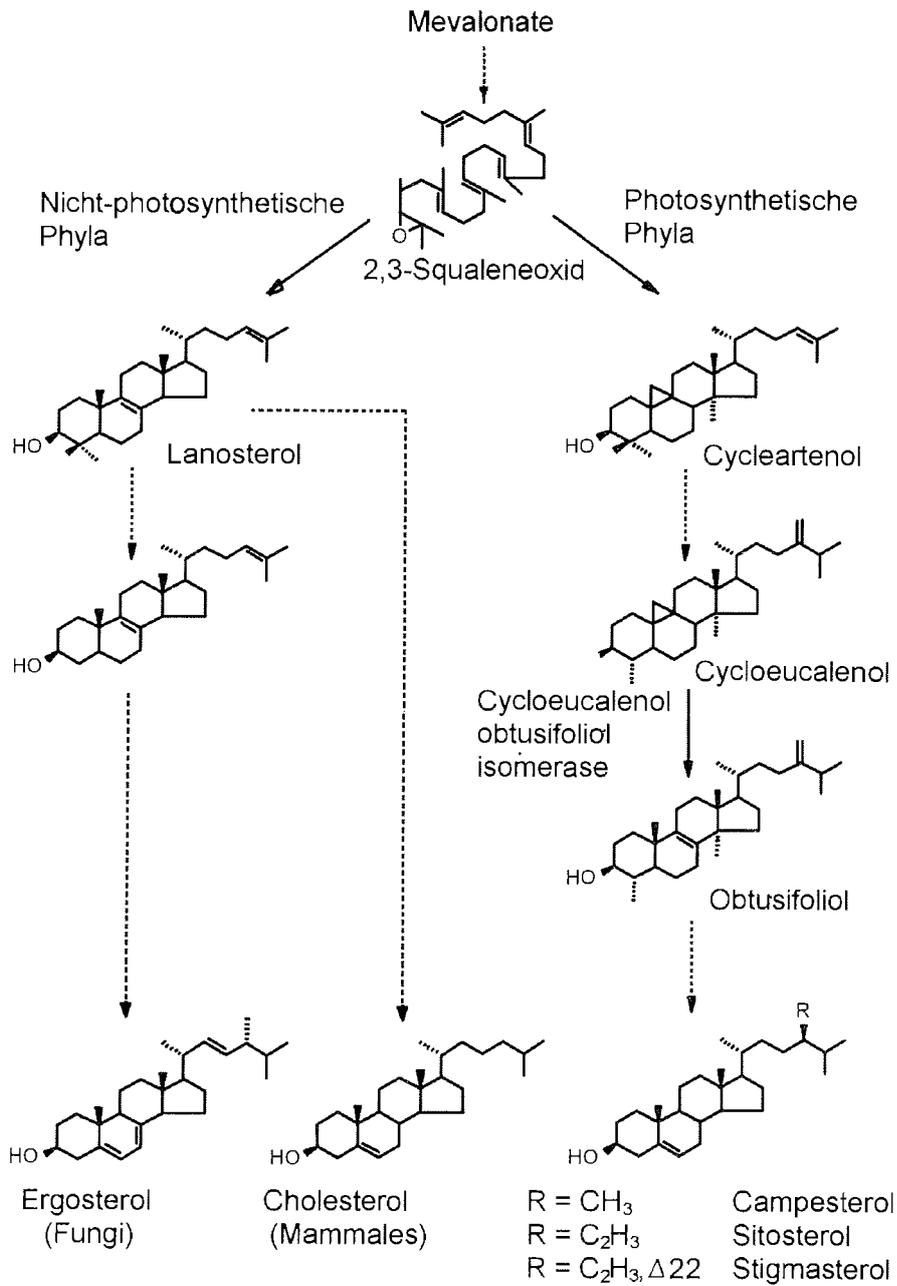


Abb. 21: Verschiedene Sterolbiosynthesewege in Organismen. In höheren Pflanzen wird 2,3-Squalenoxid cyclisiert um Cycloartenol, ein 9β,19-Cyclopropylsterol. Die Öffnung des Cyclopropanrings wird durch Cycloeucalenol-Obtusifoliol-Isomerase katalysiert. In

S-Adenosylethionin (SAE) nicht ausgeschlossen (ROHMER et al. 1980). In Invertebraten, die keine Sterole synthetisieren können, ist eine Dealkylierung von C28 und C29-Sterolen beobachtet worden (GOAD 1978). Insgesamt benötigt die pflanzliche Zelle zur Bildung von Sterolen etwa 30 enzymatische Reaktionen, die alle membrangebunden sind. Die meisten dieser enzymatischen Reaktionen finden am Endoplasmatischen Retikulum statt. Nur die letzten Schritte finden evtl. direkt an der Plasmamembran statt (Abb. 21, HARTMANN 1998).

### 1.3 Fragestellung

Für viele Organismen stellen Temperaturen um den Gefrierpunkt Extremsituationen dar. Um bei diesen Temperaturen zu überleben, müssen die meisten Organismen ihren Metabolismus erheblich umstellen, was nur wenigen kälteresistenten Arten möglich ist. Ganz anders stellt sich die Situation für Eisdiatomeen dar. Bereits wenige Grade über dem Gefrierpunkt (5-10°C) bedeuten für die untersuchten Eisdiatomeen (*E. kufferathii*, *Chaetoceros* sp. und *N. lecointei*) die obere Überlebenstemperatur. Damit betrachten wir die Fähigkeit zur Temperaturadaptation aus einer ungewöhnlichen Perspektive.

Als eine mögliche Ursache der obligaten Psychrophilie wird die Unfähigkeit zur Regulierung der Membranfluidität diskutiert. Um die Hypothese, daß Eisdiatomeen nicht in der Lage sind, ihre Membranfluidität an höhere Temperaturen anzupassen, zu untermauern oder zu widerlegen, wurden zwei für die Fluidität wichtige Bestandteile der Membran untersucht, die Fettsäuren und die Sterole.

In Temperaturversuchen wurden die lang- und kurzfristigen Veränderungen analysiert. In den Langzeitversuchen wurden die Algen zunächst an unterschiedliche Temperaturen akklimatisiert, um festzustellen, ob sie überhaupt eine Veränderung der Lipidzusammensetzung in Abhängigkeit zur Temperatur zeigen. Da die Lipidzusammensetzung nicht nur von der Temperatur sondern auch von der Wachstumsphase der Algen abhängig ist und diese beiden Faktoren nicht entkoppelt werden können, wurde das Wachstum in die Untersuchung mit einbezogen. Ein weiterer wichtiger Umweltparameter, der die Lipidsynthese beeinflusst und in der Natur gekoppelt mit der Temperatur auftritt, ist die Lichtintensität. Auch ihr Einfluß wurde untersucht. Um der Möglichkeit einer metabolischen Umstellung nachzugehen, wurde ein Kurzzeitexperiment durchgeführt, in dem die Temperatur im Laufe eines Tages von 0 auf 10°C

erhöht wurde. Da eine Veränderung der Lipide sowohl in Speicher- als auch in Membranlipiden stattfinden kann, wurden Membranen isoliert und ihre Lipide analysiert.

Die Veränderung der Membranzusammensetzung beeinflusst nicht nur ihre Fluidität sondern alle membrangebundenen Funktionen. Eine ausschließliche Betrachtung der Anpassung der Membranfluidität als Reaktion auf eine Temperaturerhöhung wäre eine Reduktion der vielfältigen Funktionen einer Membran. Ziel dieser Arbeit ist es daher festzustellen, ob eine homeoviskose Adaptation bei Eisdiatomeen stattfindet, und gegebenenfalls, ihr Zusammenwirken mit den anderen Membranfunktionen zu diskutieren.



## 2. Material und Methoden

### 2.1 Allgemeine Kulturbedingungen

Alle drei Algen wurden in einem synthetischen Meerwassermedium (Wimex ©), angereichert mit Nitrat, Phosphat, Silikat, Spurenelementen und Vitaminen, bei 34 PSU kultiviert (Anhang, Tabelle 22). Das Medium von *E. kufferathii* wurde mit 5 mM Glycylglycin gepuffert, jenes von *N. lecointei* und *Chaetoceros* sp. mit 5 mM HEPES gepuffert. Beide Medien wurden bei 0°C auf einen pH-Wert von 7,8 eingestellt und sterilfiltriert.

Die Kultivierungsröhren fassen 300 mL (Ø 3 cm und 40 cm Höhe) oder 600 mL (Ø 4,5 cm und 40 cm Höhe) Algensuspension. Bei kontinuierlicher Belüftung von unten mit gefilterter Raumluft (Porengröße 0,2 µm) wurde der Gasdruck mit Schlauchklemmen so eingestellt, daß es weder zu einer Sedimentation der Organismen noch zu einer Schädigung der Zellen kommen konnte (Abb. 21).

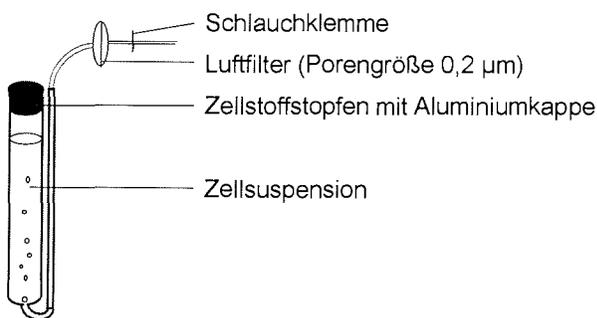


Abb. 21: Kulturgefäß

Das Umsetzen der Stammkulturen fand wöchentlich statt, indem die Zellen zentrifugiert, bis zu dreimal mit Medium gespült und in neue Kultivierungsröhren überführt wurden. *E. kufferathii* wurde bei 300 g und *N. lecointei* bei 1600 g 5 min zentrifugiert. Wegen seiner Schwebefortsätze bildet *Chaetoceros* sp. erst bei 3200 g und 10 min ein schönes Pellet.

Die Stammkulturen wurden bei 0°C gehalten. Die Beleuchtung mit einem Licht-Dunkelwechsel von 18:6 Stunden erfolgte durch Tageslicht-Leuchtstoffröhren (Lumilux Daylight, L36 W/11, Fa.Osram). Die Lichtintensität (70 µmol Protonen·

$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ) wurde mit einem Quantum-Radiometer (Licor-185 B,  $4\pi$ -sphärischer Quantensensor Li 193 SB, Fa. Li-COR, USA) bestimmt.

## 2.2 Versuchsparameter und Versuchsaufbau

Während bei Freilanduntersuchungen die Veränderungen der Untersuchungsparameter von der Natur vorgegeben werden und sich niemals nur ein Parameter ändert, bietet das Laborexperiment den Vorteil der definierten Veränderung einer oder mehrerer Faktoren.

Temperatur, Lichtintensität und Lichtrhythmus variierten je nach Versuchsansatz (Tabelle 4), während die anderen Faktoren konstant gehalten wurden. In dieser Arbeit führten folgende Überlegungen zu den in Tabelle 4 aufgeführten Untersuchungen:

- Temperatur: Das untersuchte Temperaturspektrum sollte möglichst groß sein und das gesamte natürliche Spektrum umfassen. Der untere Wert ( $-2^\circ\text{C}$ ) wird durch die Gefriertemperatur des Mediums bestimmt. Um die Temperatur noch weiter zu senken, müßte die Salinität erhöht werden. Der obere Wert ist durch die Überlebenstemperatur der Algen bestimmt. Daher wurden die Versuche des ersten Experiments (Langzeittemperaturversuch mit akklimatisierten Algen) bei  $-2^\circ\text{C}$ ,  $+2^\circ\text{C}$  und  $+6^\circ\text{C}$  (*N. lecoincei* und *Chaetoceros* sp.) bzw. bei  $-2^\circ\text{C}$ ,  $0^\circ\text{C}$  und  $+2^\circ\text{C}$  (*E. kufferathii*) durchgeführt. Die Temperaturen hätten durch eine behutsamere Akklimatisation noch weiter nach oben verschoben werden können (WANZEK 1994).
- Temperaturänderung: Während des Temperaturversuchs mit kontinuierlichem Temperaturanstieg (Kurzzeittemperaturversuch) fand eine Erhöhung von  $0^\circ\text{C}$  auf  $10^\circ\text{C}$  innerhalb von 6 Stunden statt. Dabei wurden die langfristigen Überlebenstemperaturen von *E. kufferathii* überschritten, um einen möglichst großen Temperaturunterschied zu erreichen. Vorversuche und Beobachtungen während des Versuchs ergaben, daß *E. kufferathii* diese Temperaturen kurzfristig überlebte.

Drei Gründe sprechen dafür, diesen Versuch als Kurzzeitversuch zu bezeichnen: (1) Im Vergleich zu dem Temperaturversuch mit akklimatisierten Algen ist dieser Versuch kurz. (2) Die Temperatur wird kontinuierlich erhöht, d.h. die Algen müssen sich ständig an neue Bedingungen anpassen und (3)

ein Umbau der überwiegenden Menge an Membranlipiden findet nicht in Sekundenschnelle statt.

- **Lichtintensität:** Wegen der Vergleichbarkeit der Ergebnisse sollte die Beleuchtungsstärke für die drei untersuchten Arten identisch sein. Diese Vergleichbarkeit ist allerdings nicht unbedingt gegeben, da die Algen unterschiedliche Anpassungen an Stark- und Schwachlicht zeigen. Bei den Temperaturversuchsreihen wurde daher mit einer mittleren Lichtintensität von  $70 \mu\text{mol Photonen} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  gearbeitet. Bei den Lichtintensitätsversuchen wurde die Intensität erheblich reduziert, um einen evtl. Zusammenhang zwischen der Primärproduktion der Lipide und der Photosynthese, welche die Reduktionsäquivalente stellt, zu überprüfen.
- **Versuchsdauer:** Auch wenn alle abiotischen Faktoren (Temperatur, Lichtintensität, Lichtrhythmus, Salinität, Nährstoffversorgung) konstant gehalten werden, verändert sich die Lipidzusammensetzung eines Organismus im Verlauf des Alterungsprozesses. Daher wurden die Temperaturversuche und die Lichtintensitätsversuche über die drei Phasen (lag, log und stationäre Phase) einer Batch-Kultur durchgeführt. Die täglichen Probenahmen der Ganzzellextrakte erfolgte um 10<sup>00</sup> Uhr. Dadurch konnte die wachstumsbedingten Veränderung der Lipidzusammensetzung verfolgt werden, ohne das sich tageszeitliche Schwankungen ausgewirkt hätten. Die Membranproben konnten nicht täglich genommen werden, da die Aufbereitung zeit- und materialintensiv ist. Daher wurde je eine Probe in der lag, log und stationären Phase, also am 1., 5. und 9. Tag genommen. Bei einem weiteren Versuch wurden die tageszeitlichen Schwankungen der Lipidzusammensetzung und die kurzfristige Anpassung an eine Temperaturerhöhung untersucht.
- **Akklimatisation:** Bei dem Langzeittemperaturversuch und bei dem Lichtintensitätsversuch wurden die Algen mindestens 14 Tage vor Versuchsbeginn unter den beschriebenen Versuchsbedingungen gehalten (Tabelle 4). Nach dieser Zeit waren die Algen an die Temperatur bzw. Lichtbedingungen akklimatisiert, d.h. ihr gesamter Stoffwechsel (z.B. Ionenkonzentration, Photosyntheserate und Proteingehalt) hat sich an die entsprechenden Umweltbedingungen angepaßt. Auch die Membranzusammensetzung hat sich an die jeweiligen äußeren Einflüsse angepaßt. Diese Anpassung kann allerdings nur in dem genetisch festgelegten Rahmen geschehen.

- Bezugsgrößen: Neben den Fettsäuren und Sterolen wurde die Zellzahl täglich bestimmt. Sie wurde mit Hilfe einer *Neubauer*-Zählkammer (*Neubauer improved*) ermittelt. Anhand der Zellzahl wurden die Wachstumskinetiken erstellt und der Fettsäure- bzw. Sterolgehalt pro Zelle errechnet. Für die Membranfluidität sind die prozentualen Anteile der verschiedenen Fettsäuren und Sterole allerdings wichtiger.
- Probenumfang: Fettsäuren und Sterole der ganzen Zellen sowie von Membranen wurden untersucht. Da die Isolation der Membranen zeit- und materialaufwendig ist, wurde sie in größeren zeitlichen Abständen der Versuchsreihe durchgeführt. In Verbindung mit zahlreichen Fettsäure- und Sterolanalysen der Ganzzellextrakte ließ dieses Verfahren Rückschlüsse auf Membranveränderungen zu. Insgesamt wurden 480 Proben analysiert (400 Ganzzellextrakte und 80 Membranfraktionen).

### 2.3 Probenaufbereitung

Die an die jeweiligen Versuchsbedingungen akklimatisierten Algen werden mit einer definierten Zellzahl in frisches Medium überführt (Versuchsvorbereitungstag = Tag 0) (Abb. 22). Im Temperaturversuch mit akklimatisierten Algen werden täglich 2 Ganzzell-Fettsäure und 2 -Sterolproben (siehe Abschnitt 2.4.1) sowie eine Zählprobe genommen. Am ersten, fünften und neunten Tag wird eine größere (2 · 150ml) Menge der Zellsuspension entnommen und eine Membranisolierung (siehe Abschnitt 2.5) wird durchgeführt. Ganz ähnlich sieht das Probennahmeschema im Lichtversuch aus. Einziger Unterschied ist die geringere Probenanzahl der Ganzzellproben. Die Probenahmen der Ganzzellextrakte erfolgten bei diesem Versuch ebenso wie die Membranisolierung am ersten, fünften und neunten Tag. Im Kurzeittemperaturversuch wurden jede Stunde bzw. alle 3,5 Stunden Ganzzellproben genommen, d.h. vor der Temperaturerhöhung wurde eine und während der Temperaturerhöhung wurden vier und danach noch drei Proben genommen.

Ganzzellextrakte und isolierte Membranen werden in Dichlormethan/Methanol gelöst und ihre Fettsäuren (siehe Abschnitt 2.4.2) bzw. Sterole (siehe Abschnitt 2.4.3) analysiert.

Tabelle 4: Kultivierungsbedingungen bei den beiden Temperaturversuchen, sowie dem Licht- und dem Wachstumsversuch. Anhand der vier Untersuchungsansätze wurden die durch Temperatur, Lichtintensität, Wachstum und Tageszeit bedingten Veränderungen der Lipidzusammensetzung gemessen. Die temperaturbedingten Veränderungen der Lipidzusammensetzung wurden nach einer Temperaturakklimatisierung und während einer Temperaturerhöhung untersucht.

	<b>Temperaturversuch mit akklimatisierten Algen (Langzeittemperaturversuch)</b>
Temperatur	<i>E. kufferathii</i> -2°C, 0°C und +2°C <i>N. lecointei</i> und <i>Chaetoceros sp</i> -2°C, +2°C und +6°C
Lichtintensität	70 $\mu\text{mol Protonen} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Lichtrhythmus	12L:12D
Probennahme	9 Tage, täglich um 10 <sup>00</sup> , Ganzzellextrakte 1., 5. und 9. Tag für die Membranisolierung
	<b>Lichtintensitätsversuch</b>
Temperatur	0°C
Lichtintensität	7, 16, 34 und 70 $\mu\text{mol Protonen} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Lichtrhythmus	12L:12D
Probennahme	Am 1., 5. und 9. Tag, jeweils um 10 <sup>00</sup> Ganzzellextrakte
	<b>Wachstumsversuch</b>
Temperatur	<i>E. kufferathii</i> -2°C, 0°C und +2°C <i>N. lecointei</i> und <i>Chaetoceros sp</i> -2°C, +2°C und +6°C
Lichtintensität	70 $\mu\text{mol Protonen} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Lichtrhythmus	12L:12D
Probennahme	9 Tage, täglich 10 <sup>00</sup> Ganzzellextrakte 1., 5. und 9. Tag für die Membranisolierung
	<b>Kurzzeittemperaturversuch</b>
Temperatur	0°C, gefolgt von einer Erhöhung auf 10 °C zwischen 6 <sup>00</sup> und 9 <sup>00</sup> am nächsten Tag
Lichtintensität	70 $\mu\text{mol Protonen} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$
Lichtrhythmus	18L:6D
Probennahme	Am 5. Tag um 6 <sup>00</sup> , 9 <sup>00</sup> , 12 <sup>30</sup> , 16 <sup>00</sup> , 19 <sup>30</sup> , 23 <sup>00</sup> und am 6.Tag um 6 <sup>00</sup> , 7 <sup>00</sup> , 8 <sup>00</sup> , 9 <sup>00</sup> , 12 <sup>30</sup> , 16 <sup>00</sup> , 19 <sup>30</sup> , 23 <sup>00</sup> Ganzzellextrakte

An die Versuchsbedingungen angepaßte Kulturen (siehe Tabelle 4) werden am Tag der Versuchsvorbereitung (Tag 0) mit einer definierten Zellzahl in frisches Medium überführt.

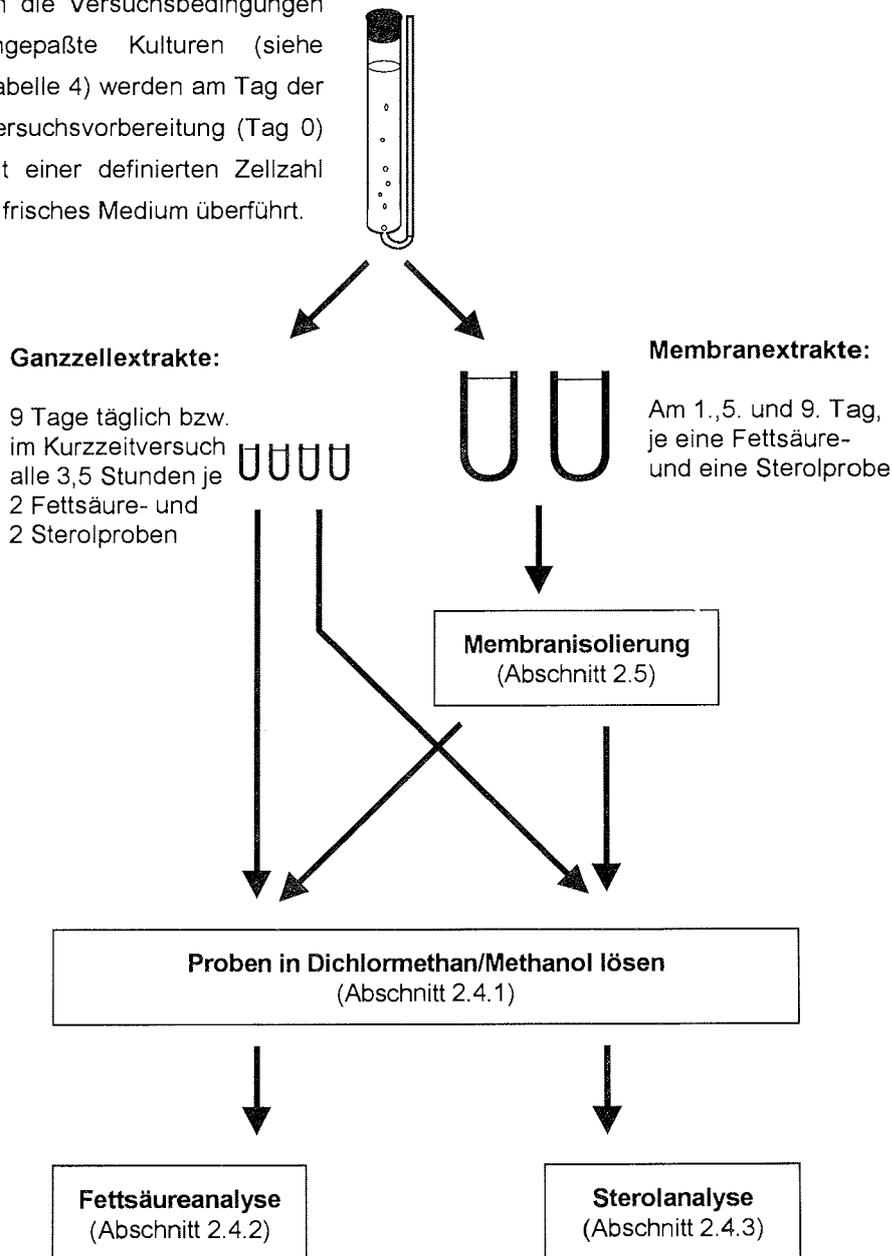


Abb. 22: Verlaufsschema der Probenaufbereitung - von der Probennahme bis zur Lipidanalyse am GC. Bei einem Teil der Proben wurden vor der Lipidanalyse die Membranen isoliert.

## 2.4 Lipidanalysen

### 2.4.1 Probennahme für die Lipidanalysen

Bei jeder Probennahme wurden 4 \* 20 mL Algensuspension zentrifugiert. Um Lipidkontaminationen zu vermeiden, wurde in lipidfreien 10 mL Kulturröhrchen in zwei Schritten jeweils 10 mL Algensuspension zentrifugiert und der Überstand verworfen. *E. kufferathii* wurde bei 300 g und *N. lecointei* bei 1600 g je 5 min zentrifugiert, *Chaetoceros sp.* bei 3200 g für 10 min. Zum Pellet wurden ca. 5 mL Dichlormethan/Methanol 2/1(v/v) hinzugefügt. Das Gemisch wurde mit Stickstoff begast, mit einem Schraubdeckel mit Teflondichtung verschlossen und bei -80°C gelagert.

### 2.4.2 Fettsäureanalyse

Einen Tag vor der gaschromatographischen Messung wurden den Proben je 25 µL des internen Standards Nonadecanmethylester (19:0; 1 µg/µL) zugefügt. Die Proben wurden eingedampft, anschließend mit 1 mL 3%iger Schwefelsäure in Methanol und 250 µl *n*-Hexan gelöst und bei 80°C für 4h umgeestert. Dieser und alle weiteren Arbeitsschritte erfolgten unter Stickstoffatmosphäre.

Nach dem Abkühlen der Probe wurden 4 mL H<sub>2</sub>O zugegeben und dreimal mit je 5 mL *n*-Hexan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden im Spitzkolben eingengt und je nach erwarteter Lipidmenge in 50 - 250 µL *n*-Hexan aufgenommen. Zur Analyse im GC wurde von diesem Gemisch 1 µL eingesetzt.

Zur Analyse wurden ein Chrompack CP 9000 Gaschromatograph oder ein Carlo Erba HRGC 5300 Gaschromatograph verwendet.

Mit der in Tabelle 5 beschriebenen Konfiguration können lange (22C-Atome), aber keine sehr langen (30C-Atome und mehr) Fettsäuren gemessen werden. Diese sehr langen Fettsäuren wurden erst in den letzten Jahren nachgewiesen. Vor ihrer Entdeckung wurde angenommen, daß Fettsäuren höchstens 22C-Atome aufweisen können. Über ihre Funktion in der Zelle bzw. Membran ist bisher wenig bekannt (Conte 1993).

Tabelle 5: Konfiguration der Gaschromatographen Chrompack CP 9000 und Carlo Erba HRGC 5300

	Chrompack CP 9000	Carlo Erba HRGC 5300
Säule	30 m · 0,25 mm Innendurchmesser, (Flüssigphase: DB-FFAP, Filmdicke: 0,25µm)	
Temperaturprogramm	160°C (4°C · min <sup>-1</sup> ; 240°C für 15 min)	165°C (4°C · min <sup>-1</sup> ; 240°C für 15 min)
Trägergas	Helium; Vordruck: 95 kPa	Helium; Vordruck: 150 kPa
Trägergasstrom	2 mL · min <sup>-1</sup> (gemessen bei Raumtemperatur)	
Detektor	FID (Betriebstemperatur: 280°C) Wasserstoff: 50 kPa, Luft: 100 kPa	
Injektor	Split/Splitness; Temperatur: 280°C Splitrate: 1:25 (gemessen bei Raumtemperatur) Splitstrom: 30 mL · min <sup>-1</sup> (gemessen bei Raumtemperatur)	

### 2.4.3 Sterolanalyse

Die Proben wurden unter Stickstoffatmosphäre eingedampft und mit 100 µL N,O-Bis-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid (BSTFA, Macherey-Nagel, Germany) 2 Stunden bei 60°C zu TMS-sterolen derivatisiert. Das überschüssige BSTFA wurde eingedampft und die Probe in 20 - 100 µL *n*-Hexan gelöst.

Die Identifikation der Sterole wurde am GC/MS (GC/MS; HP 5890 II Gaschromatograph, direkt gekoppelt mit VG AutoSpec Massenspektrometer) und die quantitative Bestimmung am GC (Chrompack CP 9001) durchgeführt.

Tabelle 6: Konfiguration der Gaschromatographen Chrompack CP 9001 und des HP5890

	Chrompack CP 9001	HP 5890 II
Säule	30 m · 0,25 mm Innendurchmesser, (Stationäre Phase: HP5-MS, Filmdicke: 0,25µm)	
Temperaturprogramm	55°C für 1,6 min, 55°C - 200°C; 20°C · min <sup>-1</sup> 200°C - 325°C; 6°C · min <sup>-1</sup> 325°C für 15 min	
Trägergas	Helium; Vordruck: 125 kPa	Helium; Vordruck: 125 kPa
Trägergasstrom	2 mL · min <sup>-1</sup> (gemessen bei Raumtemperatur)	
Detektor	FID (Betriebstemperatur: 280°C) Wasserstoff: 50 kPa, Luft: 100 kPa	
Injektor	Splitless; Temperatur: 280°C Splitstrom: 20 mL Helium · min <sup>-1</sup>	

## 2.5 Zellaufschluß und Membranisolierung

Der Zellaufschluß fand bei 0°C und die anschließende Membranisolierung bei 4°C statt. Für den Zellaufschluß wurden 150 mL Algensuspension zentrifugiert. Die Zentrifugationsdauer betrug für *E. kufferathii* 5 min bei 300 g, für *N. lecointei* 5 min bei 1600 g und für *Chaetoceros sp.* 10 min bei 3200 g. Der Überstand wurde verworfen und die Algen in 50 mL Protoplastenisolationsmedium nach SULLIVAN (1978) (Tabelle 23) resuspendiert. Nach einer Einwirkzeit von 1,5 Stunden wurden die Algen 5 min bei 3200 g zentrifugiert und in 50 mL Aufschlußpuffer (Tabelle 24) resuspendiert.

Nach einer Stunde wurden die Zellen im Wechsel je zweimal mit Ultraturrax und Ultraschall zerkleinert. Die Behandlungszeit betrug für *E. kufferathii* 30 s mit dem Ultraturrax und 30 s im Ultraschallbad, für *N. lecointei* 3 min mit dem Ultraturrax und 5 min im Ultraschallbad, für *Chaetoceros sp.* 30 s mit dem Ultraturrax und 2 min im Ultraschallbad.

Durch die fünf-minütige Zentrifugation bei 4000 g sedimentierten die Schalen und größere Organellen. Der Überstand wurde überführt und bei 40000g 70 min zentrifugiert. Im Pellet, welches zur Membranisolierung auf den Saccharosegradienten überführt wurde, sind die Membranen und kleinere Organellen enthalten.

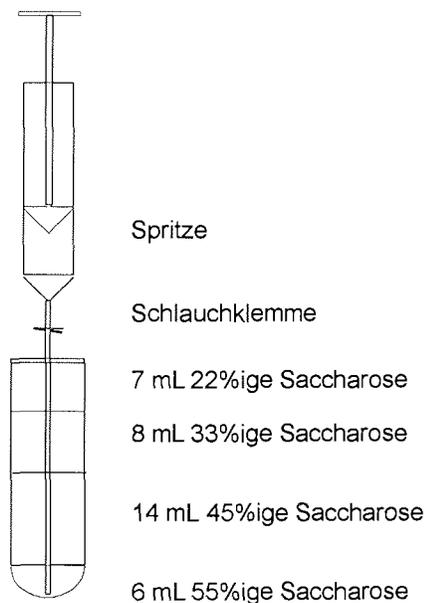


Abb. 23: Herstellung eines Saccharosegradienten

Bei der Schichtung des Saccharosegradienten wurde zunächst die 22%ige Saccharose eingefüllt und der Reihe nach die hochprozentigeren Lösungen unter die anderen geschichtet, wobei der dünne Silikonschlauch immer in der Lösung blieb und ebenso wie das Zentrifugenröhrchen mit einem Stativ gehalten wurde (Abb. 23).

Die Dichtegradientenzentrifugation (100 000 g, 130 min, 4°C) wurde in einer Ultrazentrifuge (Kontron) mit einem Ausschwingrotor (Beckmann, SW-27) in Zentrifugenröhrchen aus Polyclear (Schubert, Best.-Nr. 7052, 25 × 89 mm, 38,5 mL) durchgeführt.

Aufgrund ihres spezifischen Gewichts (Tabelle 7, Abb. 24) sammelten sich zwischen der 33- und der 45%igen Saccharoselösung vor allem die Plasmamembranen. Diese Bande wurde in ein mit Aufschlußpuffer gefülltes Zentrifugenröhrchen (Nalgene, 25 × 89 mm, 26,3 mL) überführt. Im Festwinkelrotor (Kontron, TFT-70.38) wurde die Pelletierung bei 4°C und 100 000 g 80 min durchgeführt. Das Pellet wurde in ca. 5 mL Dichlormethan/Methanol 2/1(v/v) gelöst, mit flüssigem Stickstoff überschichtet und bis zu seiner gaschromatographischen Bestimmung bei -80°C gelagert.

Tabelle 7: Spezifisches Gewicht unterschiedlicher pflanzlicher Membranen (Daten aus LARSSON et al. 1987)

	Spezifisches Gewicht
Plasmamembran	1,14-1,17g cm <sup>-3</sup>
Golgi-Membran	1,12-1,15g cm <sup>-3</sup>
Endoplasmatisches Retikulum (rauhes)	1,15-1,17g cm <sup>-3</sup>
Thylakoidmembran	1,16-1,18g cm <sup>-3</sup>
Mitochondrien-Membran	1,18-1,20g cm <sup>-3</sup>

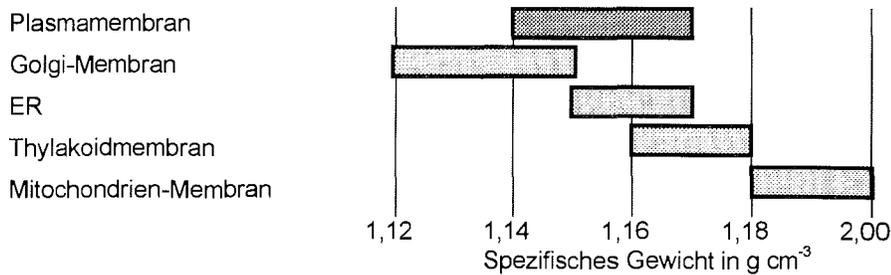


Abb. 24: Grafische Darstellung des spezifischen Gewichts von unterschiedlichen pflanzlichen Membranen (Daten aus LARSSON et al. 1987)

Eine weitere Methode zur Isolierung von Membranen, insbesondere der Plasmamembran, stellt das Dextran-Polyethylenglykol-zwei-Phasen-System dar. Im zwei Phasensystem werden nicht wie bei der Dichtegradientenzentrifugation die Unterschiede im spezifischen Gewichts der Membranen, sondern ihre unterschiedlichen Oberflächeneigenschaften genutzt.

Das zwei Phasensystem ermöglicht, durch die Isolierung der Plasmamembran mit einem hohen Reinheitsgrad, die Membranfluiditätsmessung an pflanzlichen Plasmamembranen.

Die Membranfluiditätsmessungen konnten leider nicht durchgeführt werden, da eine reine Plasmamembran nicht isoliert werden konnte. Dies scheiterte an der Ausgangsmenge des Zellmaterials. Bei anderen Versuchen mit photosynthetischen Organismen wurden mindestens 50g Frischmaterial zur Plasmamembranisolierung verwendet (SURJUS und DURAND 1996, MATHIEU et al. 1995, FARADAY et al. 1996, LARSSON et al. 1987). Die Meßmethode zur Membranfluiditätsmessung mittels Pyren oder DHP erfordert eine reines Plasmalemma, ohne Chlorophyllverunreinigungen. Chlorophyll absorbiert Licht genau in der Wellenlänge, in der sowohl das Pyrendimer als auch DHP emittieren.



### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Fettsäuren

Die Fettsäurezusammensetzung wurde durch Retentionszeitenvergleich mit einem Fettsäurestandard identifiziert. Der Standard enthält 25 Fettsäuren und 5 Fettalkohole (Tabelle 25). In den drei untersuchten Diatomeenarten wurden folgende 18 Fettsäuren nachgewiesen:

Tabelle 8: Die wissenschaftliche Bezeichnung, Abkürzungen und Trivialnamen der Fettsäuren in den drei untersuchten Diatomeen.

Wissenschaftlicher Name	Abkürzung	Trivialname
Tetradecansäure	14:0	Myristinsäure
Hexadecansäure	16:0	Palmitinsäure
<i>cis</i> -9-Hexadecensäure	16:1(n-7)	Palmitoleinsäure
<i>cis</i> -11-Hexadecensäure	16:1(n-5)	
<i>all-cis</i> -7,10-Hexadecadiensäure	16:2(n-7)	
<i>all-cis</i> -7,10,13-Hexadecatriensäure	16:2(n-4)	
<i>all-cis</i> -6,9,12,15-Hexadecatetraensäure	16:4(n-1)	
Octadecansäure	18:0	Sterinsäure
<i>cis</i> -9-Octadecensäure	18:1(n-9)	Ölsäure
<i>cis</i> -11-Octadecensäure	18:1(n-7)	Ölsäure
<i>all-cis</i> -9,12-Octadecadiensäure	18:2(n-6)	Linolsäure
<i>all-cis</i> -9,12,15-Octadecatriensäure	18:3(n-3)	Linolensäure
<i>all-cis</i> -6,9,12,15-Octadecatetraensäure	18:4(n-3)	
<i>cis</i> -13-Eicosensäure	20:1(n-7)	
<i>all-cis</i> -5,8,11,14-Eicosatetraensäure	20:4(n-6)	Arachidonsäure
<i>all-cis</i> -8,11,14,17-Eicosatetraensäure	20:4(n-3)	
<i>all-cis</i> -5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure	20:5(n-3)	
<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure	22:6(n-3)	Docosahexaensäure

Die beiden Fettsäuren 16:1(n-7) und 20:5(n-3) sind nicht nur für antarktische Diatomeen sondern für Diatomeen aller Regionen typisch. In *E. kufferathii* beträgt die durchschnittliche Konzentration der Fettsäure 16:1(n-7) 15 %, die der Fettsäure 20:5(n-3) 35 % der Gesamtfettsäuremenge. Für *N. lecontei* lauten die

entsprechenden Zahlen 25 % und 30 % und für *Chaetoceros* sp. 40 % und 15 %. Des Weiteren sind die Fettsäuren 14:0, 16:0, 16:3, 16:4(n-1) und 18:4(n-3) mit häufig mehr als 5 % vertreten (Abb. 25). Die restlichen Fettsäuren betragen meist unter 5 % und werden in den folgenden Graphiken nicht einzeln dargestellt.

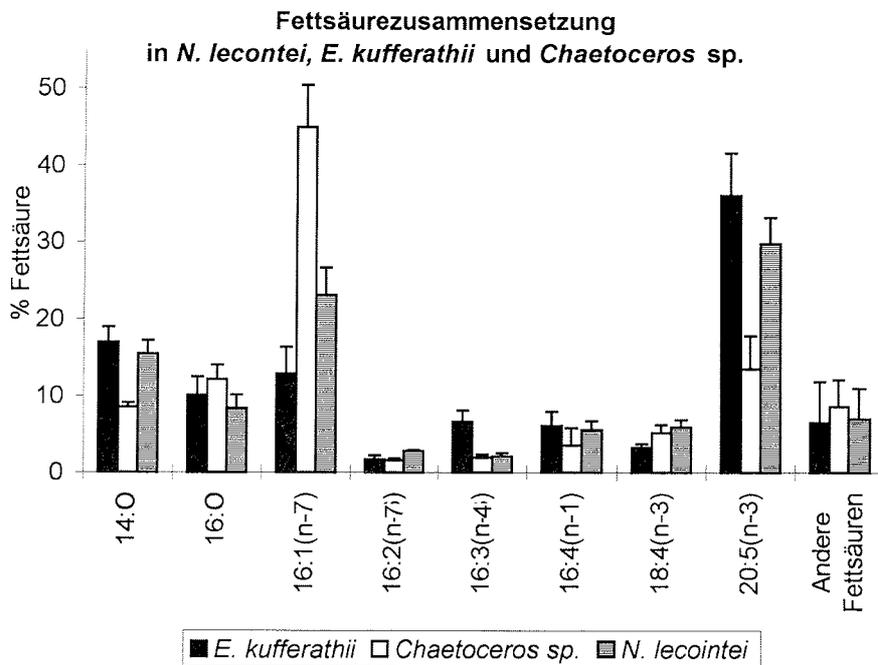


Abb. 25: Fettsäureverteilung in den untersuchten Diatomeen (n = 27)

### 3.2 Sterole

In *E. kufferathii* sind die Sterole Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol vorhanden (Abb. 26). 24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol stellt in *E. kufferathii* mit etwa 80% das dominierende Sterol dar. *N. lecontei* und *Chaetoceros* sp. enthalten die Sterole Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol (Abb. 26). Hier dominiert das Sterol 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol.

Die derivatisierten Sterole wurden massenspektrometrisch bestimmt und anschließend anhand ihrer Retentionszeiten gaschromatographisch quantifiziert.

Die Retentionszeiten sind jedoch u.a. abhängig von der Säulenphase und dem Temperaturprogramm, so daß ein direkter Vergleich mit den Daten anderer Autoren problematisch ist. Da sich die Retentionszeiten verschieben können, sind sie relativ zum TMS-Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol angegeben. Wird die Retentionszeit von TMS-Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol mit 1,000 angegeben, so beträgt sie für TMS-24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol 1,034, für TMS-24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol 1,051, für TMS-24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol 1,029 und für TMS-24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol 1,052 (HANKE 1995).

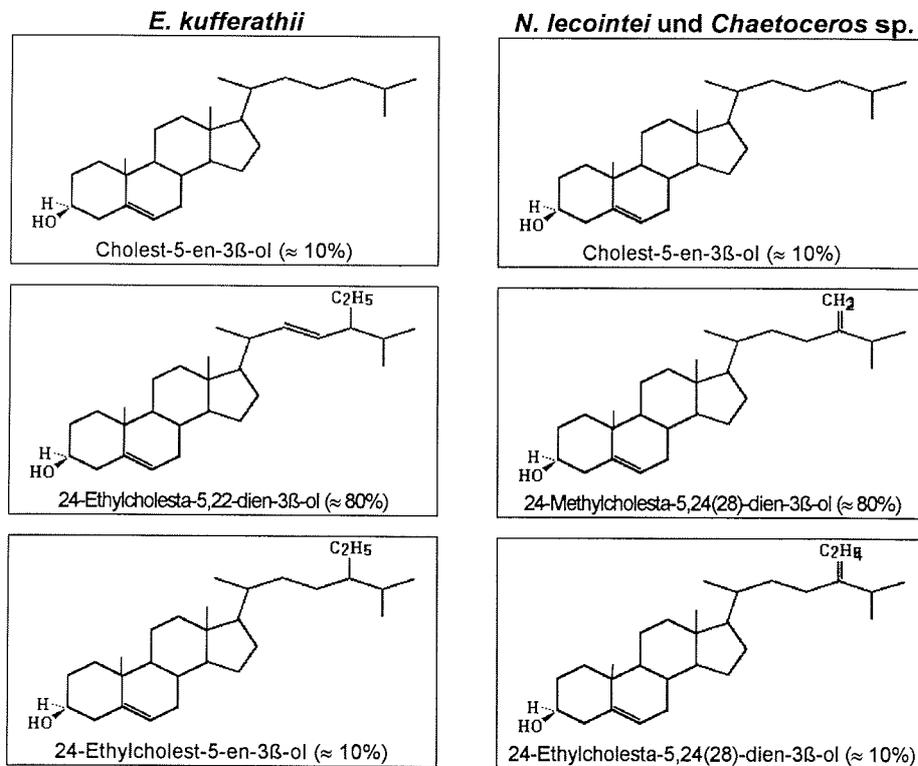


Abb. 26: Skelettmodelle der Sterole Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol, 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol und ihr Vorkommen in den Eisdiatomeen *E. kufferathii*, *N. lecointei* und *Chaetoceros* sp.

Bei der massenspektrometrischen Bestimmung der Sterole entstehen durch die Fraktionierung der Trimethylsilylsterole Bruchstücke des Grundgerüsts, der Seitenkette und der Trimethylsilylgruppe mit charakteristischen Massen [m/z].

Auch die Anteile dieser Bruchstücke stehen in charakteristischen Verhältnissen zueinander.

Durch die Trimethylsilylierung tritt im Spektrum der silylierten Sterole  $m/z$  73 als intensives Fragment auf. Hierbei handelt es sich um eine einfache Abspaltung der Trimethylsilylgruppe  $(\text{CH}_3)_3\text{Si}^+$  ( $12+1\cdot 3$ ) $3+28=73$ . Das Signal  $m/z$  75 charakterisiert die Abspaltung von  $(\text{CH}_3)_2\text{SiO}^+\text{H}$ . Wird das gesamte Trimethylsilanol  $(\text{CH}_3)_3\text{SiOH}$  abgespalten, so führt dies zur Bildung des Fragments  $M^+-90$ .

Ein typisches Fragment für Sterole mit einer Doppelbindung am fünften C-Atom ist  $m/z$  129. Während sich Ring A öffnet, bleiben Ring B, C und D unverändert bestehen. Durch die Öffnung entsteht ein Fragment  $(\text{CH}_3)_3\text{SiO}^+$  mit drei weiteren C-Atomen, welche mit zwei Doppelbindungen und einer Einfachbindung verknüpft sind und somit nur 4 H-Atome haben.

Die Fragmente  $m/z$  255 und  $m/z$  213 sind weitere typische Fragmente für Sterole mit einer Doppelbindung im Grundgerüst. Ist das Grundgerüst gesättigt, entsteht das Fragment  $m/z$  257, ist es doppelt ungesättigt, das Fragment  $m/z$  253. TMS-24-Ethylcholsta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol ist eindeutig als Sterol mit einer Doppelbindung im Grundgerüst analysiert worden und weist trotzdem einen Peak bei  $m/z$  257 auf. Wenn allerdings der D-Ring abgespalten wird, so erscheint das für einfache Doppelbindungen typische Fragment  $m/z$  213.

Die bisher erwähnten Spektrenmerkmale beschreiben den Bau des Grundgerüsts. Für die Beschreibung der Seitenkette ist das Moleküllion sehr wichtig, da es bei gleichbleibendem Grundgerüst die Größe der Seitenkette angibt. Nimmt die Länge der Seitenkette um ein Kohlenstoffatom und zwei Protonen zu, so erhöht sich die Massezahl um 14. Der Unterschied im Sättigungsgrad macht sich mit 2 Masseeinheiten pro Doppelbindung bemerkbar.

Typisch für eine Doppelbindung am C-Atom 24 ist die Spaltung der Seitenkette zwischen den C-Atomen 22 und 23. Sie erzeugt einen starken Peak der Masse 386.

Tabelle 9: Fragmentierung der Trimethylsilylsterole (Finnigan MS 1020, 70eV Elektronenstoßionisation, 70°C Ionenquelltemperatur) (HANKE 1995)

Trimethylsilylsterole	Charakteristische Massen [m/z] (relative Intensität [%]) und ihre Entstehung	
Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol	458(40) 443(15) 368(70) 353(50) 329(100) 301(10) 255(20) 129(50)	Massepeak (M <sup>+</sup> ) M <sup>+</sup> - 15 (CH <sub>3</sub> ) M <sup>+</sup> - 90 (Trimethylsilanol) M <sup>+</sup> - 15 - 90 M <sup>+</sup> - 129 Grundgerüst TMS + 3 C-Atome des A-Rings
24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol	484(95) 469(15) 394(95) 379(40) 355(60) 255(80) 213(25)	Massepeak (M <sup>+</sup> ) M <sup>+</sup> - 15 (CH <sub>3</sub> ) M <sup>+</sup> - 90 (Trimethylsilanol) M <sup>+</sup> - 15 - 90 M <sup>+</sup> - 129 Grundgerüst Grundgerüst ohne Ring D
24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol	486(60) 471(20) 396(90) 381(50) 357(100) 329(10) 303(10) 275(15) 255(20) 129(65)	Massepeak (M <sup>+</sup> ) M <sup>+</sup> - 15 (CH <sub>3</sub> ) M <sup>+</sup> - 90 (Trimethylsilanol) M <sup>+</sup> - 15 - 90 M <sup>+</sup> - 129 Grundgerüst TMS + 3 C-Atome des A-Rings
24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol	470(30) 455(25) 386(70) 381(50) 366(40) 343(65) 296(50) 281(30) 257(20) 213(30) 129(100)	Massepeak (M <sup>+</sup> ) M <sup>+</sup> - 15 (CH <sub>3</sub> ) Spaltung C22/C23 M <sup>+</sup> - 90 (Verschiebung des Peaks) Spaltung C22/C23 - 90 Grundgerüst Grundgerüst ohne Ring D TMS + 3 C-Atome des A-Rings
24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol	484(15) 469(10) 386(100) 371(15) 355(25) 296(70) 281(20) 257(25) 213(15) 129(50)	Massepeak (M <sup>+</sup> ) M <sup>+</sup> - 15 (CH <sub>3</sub> ) Spaltung C22/C23 M <sup>+</sup> - 129 Spaltung C22/23 - 90 Grundgerüst Grundgerüst ohne Ring D TMS + 3 C-Atome des A-Rings

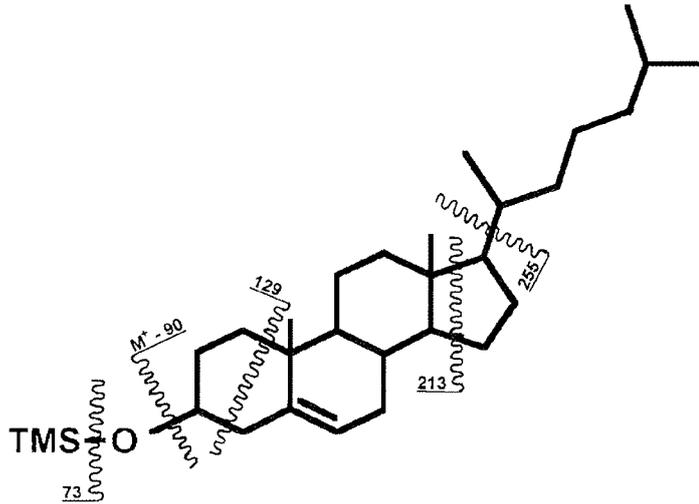


Abb. 27: Skelettmodelle von Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol. Einige der typischen Bruchstellen in der MS-Analyse dieses Moleküls sind durch Schlangenlinien dargestellt.

### 3.3 Ökophysiologische Untersuchungen

#### 3.3.1 Temperaturversuch mit akklimatisierten Algen (Langzeittemperaturversuch)

In diesem Temperaturversuch wurden die Algen zunächst 14 Tage an die Temperatur akklimatisiert. Über den gesamten Wachstumszyklus (lag, log und stationäre Phase (9 Tage)) erfolgte die Probenahme täglich. *E. kufferathii* wurde bei  $-2^{\circ}\text{C}$ ,  $0^{\circ}\text{C}$ , und  $+2^{\circ}\text{C}$  kultiviert. Für *N. lecointei* und *Chaetoceros* sp. lauten die entsprechenden Werte  $-2^{\circ}\text{C}$ ,  $+2^{\circ}\text{C}$  und  $+6^{\circ}\text{C}$ . Bei einer Temperatur von  $6^{\circ}\text{C}$  überlebte *E. kufferathii* die Akklimatisationszeit nicht. Die gewählten Temperaturen entsprechen nicht ganz den natürlichen Temperaturspektren der untersuchten Arten. Der untere Temperaturbereich ( $< -2^{\circ}\text{C}$ ) wurde in der Untersuchungsreihe nicht berücksichtigt, da er eine gleichzeitige Veränderung der Salinität erfordert hätte.

Bei *E. kufferathii* findet innerhalb dieses geringen Temperaturspektrums mit steigender Temperatur eine Abnahme der mehrfach ungesättigten Fettsäure 20:5(n-3) statt. Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren 16:3(n-4) und 16:4(n-1) nehmen zwischen  $0^{\circ}\text{C}$  und  $+2^{\circ}\text{C}$  ab. Die gesättigte Fettsäure 16:0 nimmt mit steigenden Temperaturen zu. Bei den Sterolen ist kein klarer Trend zu erkennen (Abb. 28 und 29, Tabelle 10).

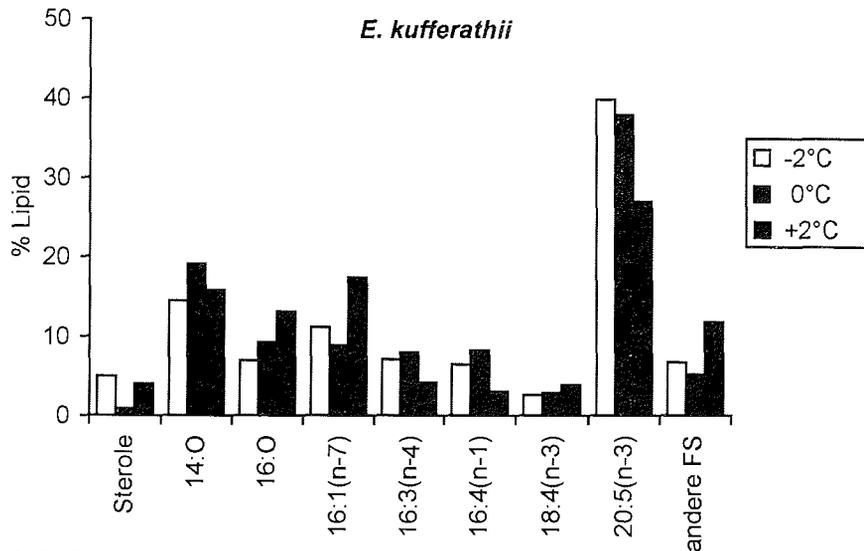


Abb. 28: Temperaturbedingte Verschiebung der prozentualen Lipidzusammensetzung in *E. kufferathii*. Dargestellt sind die Mittelwerte von je 9 Proben, die innerhalb eines Wachstumszyklus genommen wurden.

Sowohl der Sterolgehalt, als auch die prozentuale Verteilung der verschiedenen Sterole schwankt erheblich. Besonders auffällig sind die niedrigen Gehalte bei 0°C mit einem hohen Anteil 24-Ethylcholest-5-en-3β-ol (Abb. 29 und Tabelle 10).

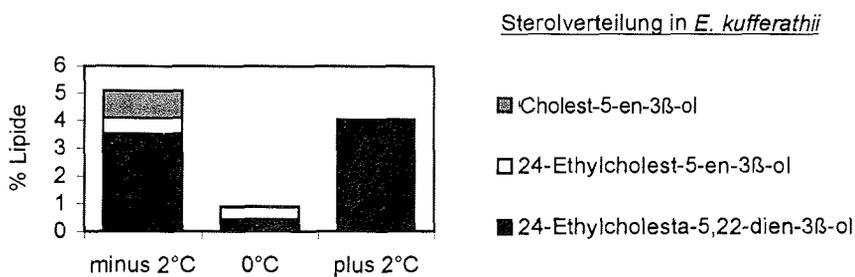


Abb. 29: Temperaturbedingte Verschiebung des Sterolgehaltes in *E. kufferathii*. Dargestellt sind die Mittelwerte von je 9 Proben, die innerhalb eines Wachstumszyklus genommen wurden.

Tabelle 10: Sterolverteilung in *E. kufferathii* nach der Akklimatisation bei  $-2^{\circ}\text{C}$ ,  $0^{\circ}\text{C}$  und  $+2^{\circ}\text{C}$ . Gesamtsterolmenge = 100 %.

	$-2^{\circ}\text{C}$	$0^{\circ}\text{C}$	$+2^{\circ}\text{C}$
Cholest-5-en- $3\beta$ -ol	20 %	1 %	2 %
24-Ethylcholesta-5,22-dien- $3\beta$ -ol	70 %	49 %	96 %
24-Ethylcholest-5-en- $3\beta$ -ol	10 %	50 %	2 %

Mit der Temperatur ändert sich auch der Lipidgehalt pro Zelle. Er liegt in der  $-2^{\circ}\text{C}$ - bei  $14,8 \text{ pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$ , in der  $+2^{\circ}\text{C}$ -Kultur bei  $18,2 \text{ pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$  und in der  $0^{\circ}\text{C}$ -Kultur mit  $4,1 \text{ pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$  deutlich darunter. Die  $0^{\circ}\text{C}$ -Kultur zeichnet sich somit durch einen niedrigen Sterol- und Fettsäuregehalt aus.

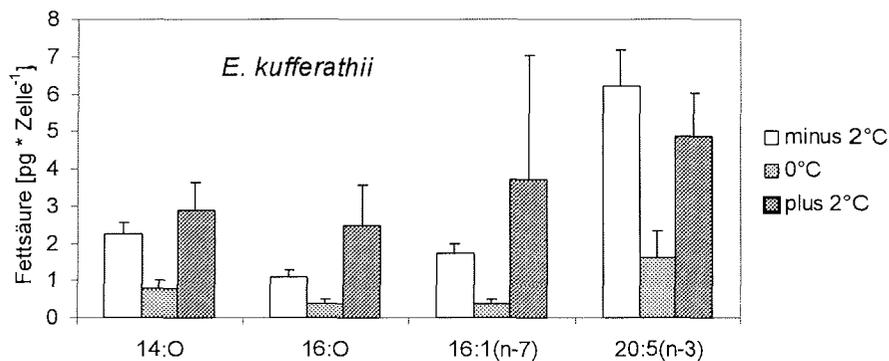


Abb. 30: Die absolute Fettsäurekonzentration [ $\text{pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$ ] in *E. kufferathii*. Auffällig ist der geringe Fettsäuregehalt, wenn die Alge an  $0^{\circ}\text{C}$  akklimatisiert ist.

Die Membranfluidität wird jedoch durch das Verhältnis der Fettsäuren und Sterole zueinander und nicht durch die absolute Menge bestimmt. Es kann also davon ausgegangen werden, daß eine Abnahme der Membranfluidität stattfand, denn eine Abnahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren und eine Zunahme der gesättigten Fettsäuren verringert die Membranfluidität. Da biologische Membranen allerdings eine Vielzahl von Regulationsmöglichkeiten ihrer Membranfluidität besitzen (siehe Abschnitt 1.3.1) ist zwar mit großer Sicherheit davon auszugehen, daß sich die Membranfluidität verringerte, aber ein 100%iger Beweis ist es nicht.

In *Chaetoceros* sp. nehmen mit steigender Temperaturen, in diesem Fall zwischen  $-2^{\circ}\text{C}$  und  $+6^{\circ}\text{C}$ , die mehrfach ungesättigten Fettsäuren 16:4(n-1), 18:4(n-3) und 20:5(n-3) ab. Dieser Trend wird in der Fettsäure 20:5(n-3) bei  $+2^{\circ}\text{C}$  unterbrochen. Bei den gesättigten Fettsäuren 14:0 und 16:0 und bei der einfach ungesättigten Fettsäure 16:1(n-7) ist eine tendentielle Zunahme mit steigender Temperatur zu beobachten (Abb. 31). Auch diese Art zeigt keine klare Abhängigkeit zwischen Temperatur und Sterolgehalt.

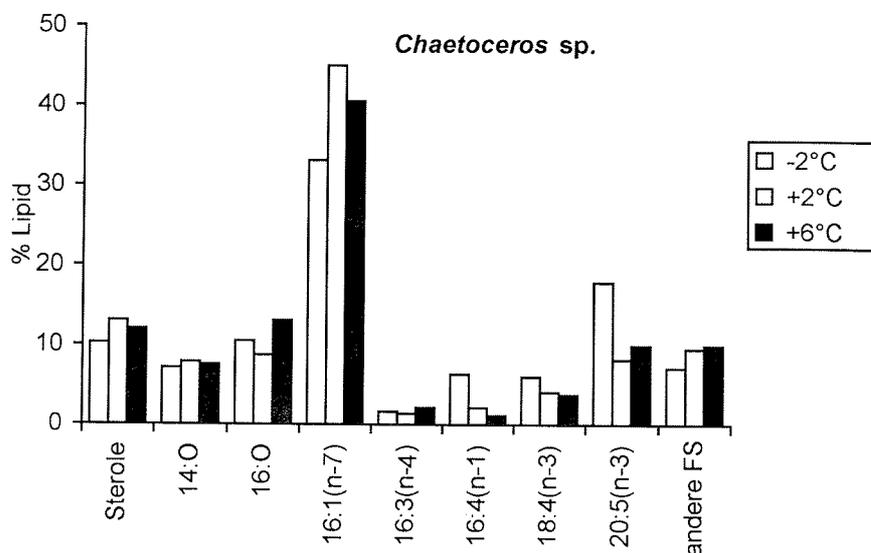


Abb. 31: Temperaturbedingte Verschiebung der Lipidzusammensetzung in *Chaetoceros* sp.. Dargestellt sind die Mittelwerte von je 9 Proben, die innerhalb eines Wachstumszyklus genommen wurden.

Bezogen auf die Verschiebung der prozentualen Lipidverteilung zeigen die Algen *E. kufferathii* und *Chaetoceros* sp. ein ähnliches Verhalten. Die mehrfach ungesättigten Fettsäuren nehmen mit steigender Temperatur ab und die gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren nehmen zu. Wie bereits erwähnt bewirken diese Veränderungen höchstwahrscheinlich eine Herabsetzung der Membranfluidität.

Die Schwankungen des absoluten und prozentualen Sterolgehalt sind gering, wesentlich geringer als bei *E. kufferathii* und *N. lecointei*. Das dominierende Sterol in *Chaetoceros* sp. ist 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol (Abb. 32).

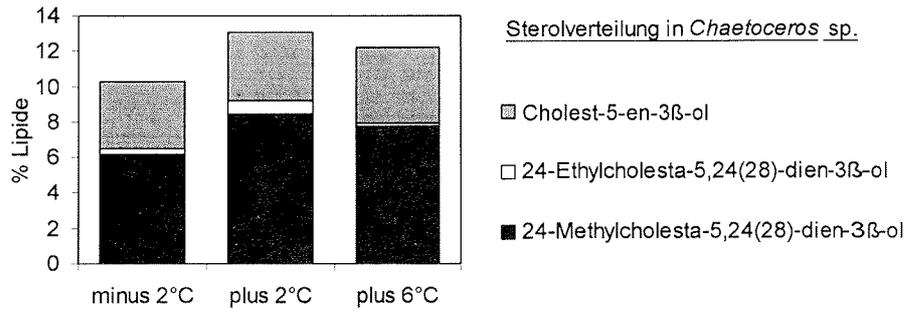


Abb. 32: Temperaturbedingte Verschiebung des Sterolgehaltes in *Chaetoceros* sp.. Dargestellt sind die Mittelwerte von je 9 Proben, die innerhalb eines Wachstumszyklus genommen wurden.

Tabelle 11: Sterolverteilung in *Chaetoceros* sp. nach der Akklimatisation bei  $-2^{\circ}\text{C}$ ,  $0^{\circ}\text{C}$  und  $+2^{\circ}\text{C}$ . Gesamtsterolmenge = 100 %.

	$-2^{\circ}\text{C}$	$+2^{\circ}\text{C}$	$+6^{\circ}\text{C}$
Cholest-5-en-3β-ol	37 %	30 %	39 %
24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3β-ol	60 %	65 %	60 %
24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3β-ol	3 %	5 %	1 %

Der Fettsäuregehalt pro Zelle steigt in *Chaetoceros* sp. mit zunehmender Temperatur an. Bei  $-2^{\circ}\text{C}$  beträgt er durchschnittlich  $2,8 \text{ pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$ , bei  $+2^{\circ}\text{C}$  sind es  $6,2 \text{ pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$  und bei  $+6^{\circ}\text{C}$  steigt der Gehalt auf  $11,1 \text{ pg}$  Fettsäure pro Zelle. Dieser Anstieg findet bei allen Fettsäuren statt und ist exemplarisch für die Fettsäuren 14:0, 16:0, 16:1(n-7) und 20:5(n-3) dargestellt (Abb. 33).

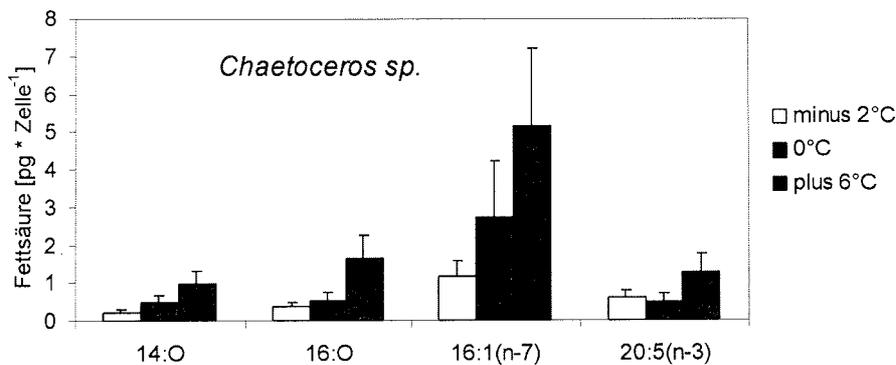


Abb. 33: Die absolute Fettsäurekonzentration [ $\text{pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$ ] in *Chaetoceros* sp.. Der Fettsäuregehalt pro Zelle steigt mit der Temperatur an.

Die Kultivierungstemperaturen von *N. lecointei* und *Chaetoceros* sp. waren identisch (-2°C, +2°C und +6°C). Während eine Temperaturabhängigkeit der Fettsäuren in *E. kufferathii* und *Chaetoceros* sp. klar zu erkennen ist, ist dies bei *N. lecointei* nur sehr bedingt der Fall. Zwischen +2°C und +6°C fand eine Abnahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren 20:5(n-3) und 18:4(n-3) und eine Zunahme der Fettsäuren 16:0 und 16:1(n-7) statt (Abb. 34).

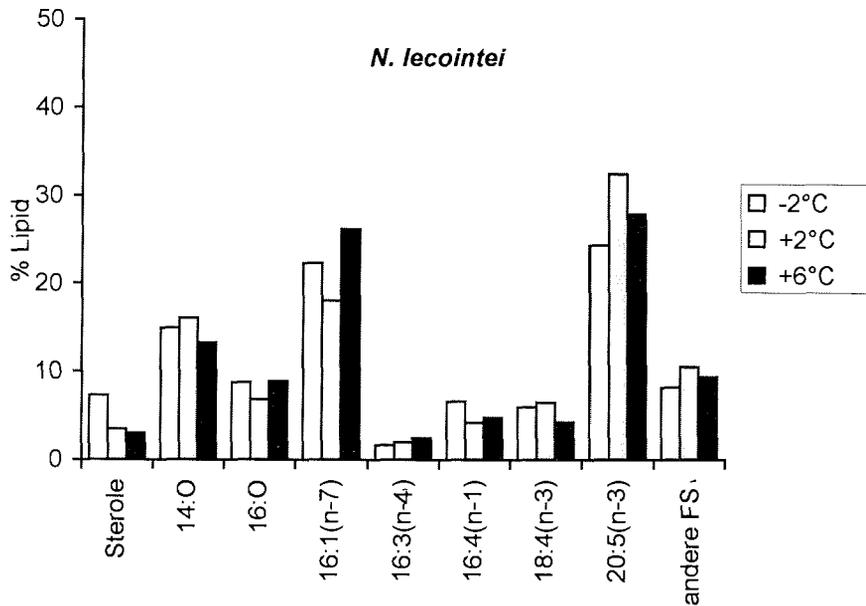


Abb. 34: Temperaturbedingte Verschiebung der Lipidzusammensetzung in *N. lecointei*. Dargestellt sind die Mittelwerte von je 9 Proben, die innerhalb eines Wachstumszyklus genommen wurden.

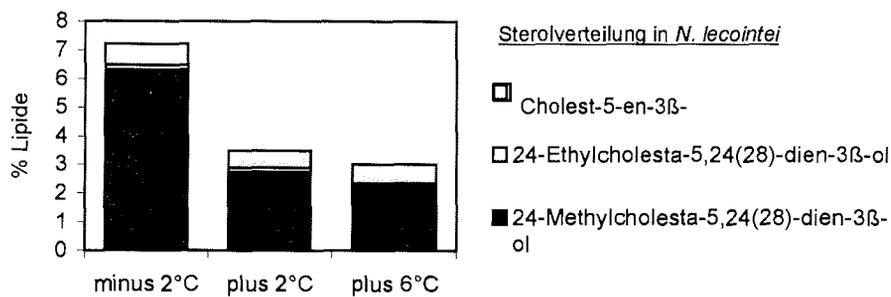


Abb. 35: Temperaturbedingte Verschiebung des Sterolgehaltes in *N. lecointei*. Dargestellt sind die Mittelwerte von je 9 Proben, die innerhalb eines Wachstumszyklus genommen wurden.

Der prozentuale Anteil der Sterole Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol veränderte sich bei den unterschiedlichen Temperaturen wie folgt:

Tabelle 12: Sterolverteilung in *N. leicoitei* nach der Akklimatisation bei -2°C, 0°C und +2°C. Gesamtsterolmenge = 100 %.

	-2°C	+2°C	+6°C
Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol	10 %	17 %	22 %
24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol	87 %	79 %	75 %
24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol	3 %	4 %	3 %

Der Fettsäuregehalt pro Zelle liegt in der -2°C-Kultur bei 1,8 pg·Zelle<sup>-1</sup> und sinkt in der +2°C-Kulturen auf 1,6 pg·Zelle<sup>-1</sup>. Eine Verdopplung des Fettsäuregehalts pro Zelle findet bei der Erhöhung auf 6°C statt und liegt dann bei 3,8 pg·Zelle<sup>-1</sup>.

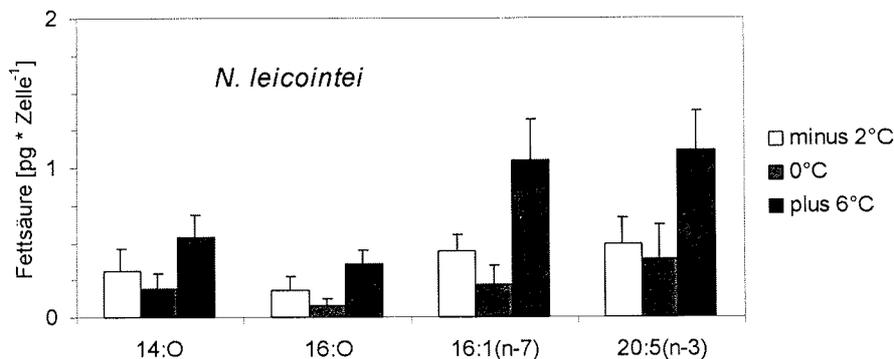


Abb. 36: Der absolute Gehalt der Fettsäuren 14:0, 16:0, 16:1(n-7) und 20:5(n-3) [pg·Zelle<sup>-1</sup>] in *N. leicoitei* in Abhängigkeit zur Temperatur.

Erhöhte Sterolwerte, wie sie bei -2°C nachgewiesen wurden, können zu einer Verschiebung des Phasenübergangs von der flüssig kristallinen zur Gel Phase nach unten führen, d.h. der Phasenübergang findet erst bei niedrigeren Temperaturen statt. Eine Verschiebung des Phasenübergangs nach unten kann bei kalten Temperaturen durch eine Erhöhung des Sterolgehalts erreicht werden. Bei höheren Temperaturen hingegen bewirkt eine Erhöhung des Sterolgehalts eine Abnahme der Fluidität.

Möchte man nicht die einzelnen Fettsäuren miteinander vergleichen, sondern einen schnellen Überblick über den Sättigungsgrad der Fettsäuren erhalten, so bietet der Doppelbindungsindex eine gute Möglichkeit. Er errechnet sich aus dem prozentualen Anteilen der Fettsäuren multipliziert mit der Anzahl der Doppelbindungen und den Faktor 0,01 (QUINN und WILLIAMS 1983).

Ein Doppelbindungsindex von drei, wie er bei *E. kufferathii* ( $-2^{\circ}\text{C}$ ) vorliegt, ist sehr hoch; häufig liegt er zwischen eins und drei (QUINN und WILLIAMS 1983). Wie zu erwarten, nimmt der Doppelbindungsindex mit steigender Temperatur ab: er erreicht einen Wert von 2,2 bei  $+2^{\circ}\text{C}$ . Der Doppelbindungsindex von *Chaetoceros* sp. liegt mit Werten zwischen 1,8 und 1 wesentlich niedriger, nimmt aber auch mit steigenden Temperaturen ( $-2$  bis  $+6^{\circ}\text{C}$ ) ab. *N. lecointei* zeigt ein anderes Bild. Der Doppelbindungsindex liegt mit Werten zwischen 2 und 2,8 hoch, nimmt allerdings nicht mit steigender Temperatur ab, sondern zeigt bei der mittleren Temperatur ( $+2^{\circ}\text{C}$ ) den höchsten Wert (Abb. 37).

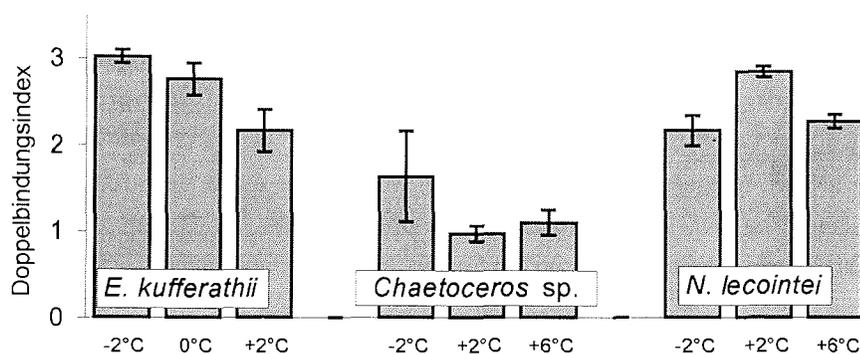


Abb. 37: Doppelbindungsindizes (Fettsäure in % \* Anzahl der Doppelbindungen \* 0,01) der drei untersuchten Diatomeen kultiviert bei unterschiedlichen Temperaturen.

Zusammenfassend läßt sich über den Einfluß der Temperatur auf die Lipidzusammensetzung der drei untersuchten Arten sagen, daß sie innerhalb des gewählten Temperaturspektrums unterschiedliche Reaktionen zeigen. Während in *E. kufferathii* und *Chaetoceros* sp. die erwarteten Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung stattfinden und sich im Doppelbindungsindex niederschlagen, zeigt sich in *N. lecointei* eine Veränderung in der Sterolzusammensetzung.

Tabelle 13: Einfluß der Temperatur auf die Lipidzusammensetzung der drei untersuchten Diatomeen nach zweiwöchiger Akklimatisationsphase.

Mit steigender Temperatur zeigen	die mehrfach ungesättigten Fettsäuren	die gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren	Sterole
in <i>E. kufferathii</i>	eine Abnahme	eine Zunahme	keinen klaren Trend
in <i>Chaetoceros sp</i>	eine Abnahme	eine Zunahme	keinen klaren Trend
in <i>N. lecointei</i>	keinen klaren Trend	keinen klaren Trend	eine Abnahme

### 3.3.2 Lichtintensitätsversuch

In diesem Versuch wurden die Veränderungen in der Lipidzusammensetzung aufgrund unterschiedlicher Lichtintensitäten (7, 16, 34 und 70  $\mu\text{mol Photonen} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) untersucht. Der Probenumfang des Lichtversuchs war wesentlich geringer als in den beiden Temperaturversuchen. Proben wurden nur am ersten, fünften und neunten Tag der Wachstumsphase genommen. Wie die Datenauswertung ergab, waren nicht alle Kulturen am fünften Tag in der logarithmischen Phase.

Die Algen zeigen zum Teil Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung, die in ihrer Intensität mit den temperaturbedingten Veränderungen vergleichbar sind. Bei *E. kufferathii* lassen diese Veränderungen allerdings keinen Trend erkennen (Abb. 38). Dieses Ergebnis ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß die Veränderungen in der Lipidzusammensetzung aufgrund unterschiedlicher Lichtintensitäten durch wachstumsbedingte Veränderungen überlagert wird. Aber auch die wachstumsbedingten Veränderungen unterliegen vielen Schwankungen (Abschnitt 3.3.3).

Die Standardabweichungen sind erheblich und ein Zusammenhang zwischen der Lichtintensität und der Fettsäure- bzw. der Sterolzusammensetzung ist nicht erkennbar.

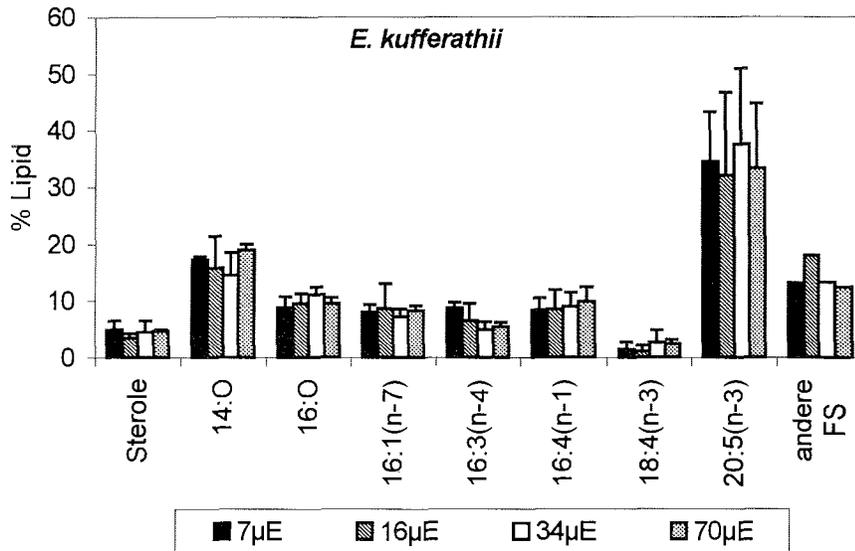


Abb. 38: Veränderungen der prozentualen Fettsäure- und Sterolzusammensetzung in *E. kufferathii* in Abhängigkeit zur Bestrahlungsstärke (7, 16, 34 und 70  $\mu\text{mol Photonen} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

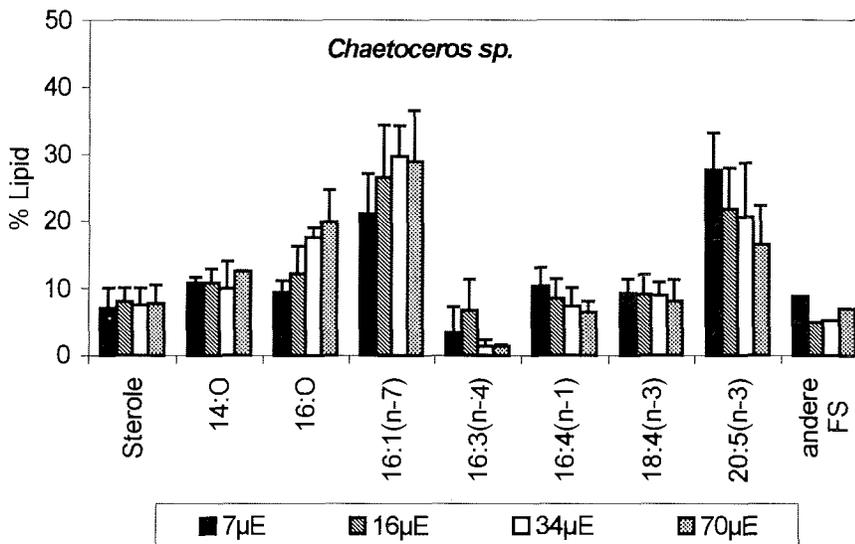


Abb. 39: Veränderungen in der Fettsäure- und Sterolzusammensetzung in *Chaetoceros sp.* in Abhängigkeit von der Bestrahlungsstärke (7, 16, 34 und 70  $\mu\text{mol Photonen} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

In *Chaetoceros sp.* nehmen die mehrfach ungesättigten Fettsäuren 16:4(n-1) und 20:5(n-3) mit steigender Lichtintensität ab und die einfach ungesättigte Fettsäure 16:1(n-7) sowie die gesättigte Fettsäure 16:0 zu. D.h. eine Temperaturerhöhung oder Steigerung der Lichtintensität ruft in *Chaetoceros sp.* eine

vergleichbare Veränderung in der Fettsäurezusammensetzung hervor (Abb. 39). Eine Beeinflussung des Sterolgehalts und der Sterolzusammensetzung findet in *Chaetoceros* sp. weder durch die Temperatur noch durch die Lichtintensität statt.

Ebenso wie bei *E. kufferathii* war auch bei *N. lecointei* kein Zusammenhang zwischen der Fettsäurezusammensetzung und der Lichtintensität zu verzeichnen (Abb. 40). Die Sterole nehmen mit steigender Lichtintensität ab. D.h. eine Abnahme der Sterole wird in *N. lecointei* entweder durch eine Steigerung der Temperatur oder der Lichtintensität hervorgerufen.

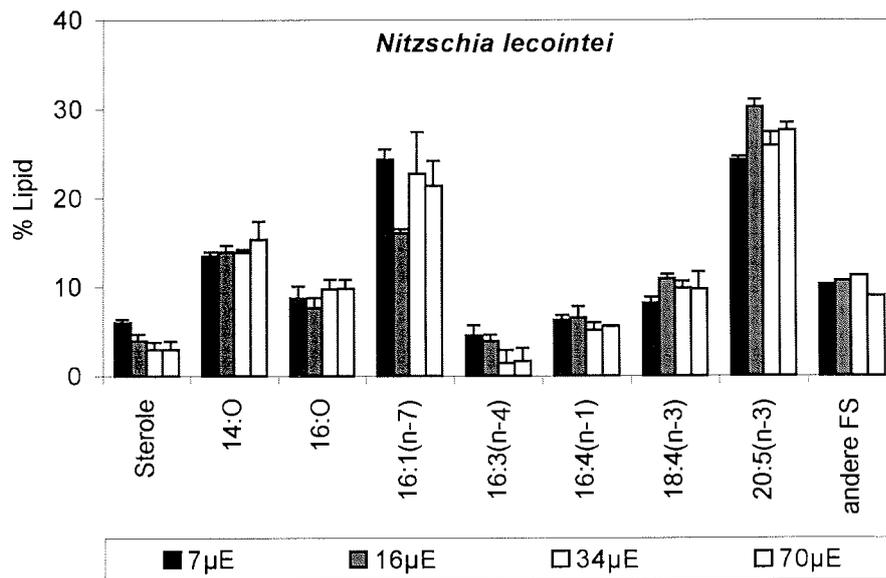


Abb. 40: Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung in *N. lecointei* in Abhängigkeit von der Bestrahlungsstärke (7, 16, 34 und 70  $\mu\text{mol Photonen} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß nur bei *Chaetoceros* sp. ein direkter Zusammenhang zwischen Lichtintensität und Fettsäurezusammensetzung zu erkennen ist. In *N. lecointei* sind relativ geringe Veränderungen in der Sterolzusammensetzung zu verzeichnen.

Tabelle 14: Einfluß der Lichtintensität auf die Lipidzusammensetzung der drei untersuchten Diatomeen.

Mit steigender Lichtintensität zeigen	die mehrfach ungesättigten Fettsäuren	die gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren	Sterole
in <i>E. kufferathii</i>	keinen klaren Trend	keinen klaren Trend	keinen klaren Trend
in <i>Chaetoceros</i> sp.	eine Abnahme	eine Zunahme	keinen klaren Trend
in <i>N. lecointei</i>	keinen klaren Trend	keinen klaren Trend	eine geringe Abnahme

### 3.3.3 Wachstumsversuch

Da die Zusammensetzung der Lipide vom Alter einer Zelle abhängt, wurden in den Temperaturversuchen mit akklimatisierten Algen (Langzeittemperaturversuche) über eine gesamte Wachstumsperiode und in den Lichtintensitätsversuchen am 1., 5. und 9. Tag Proben genommen. Graphisch dargestellt sind die Mittelwerte der Zellzahlen und der prozentuale Fettsäuregehalt aus den Temperaturversuchen (Tag 1-9).

*E. kufferathii* zeigte nicht den gewohnten Verlauf in der Wachstumskinetik. Die Zellzahlen schwankten in den ersten Tagen sehr stark, und erst an den letzten beiden Untersuchungstagen (8. und 9. Tag) nahm die Zelldichte deutlich zu. Eine Zunahme der Zellzahl korrelierte stets mit einer prozentualen Zunahme der mehrfach ungesättigten Fettsäure 20:5(n-3) und einer Abnahme der Fettsäure 16:1(n-7) (Abb.41).

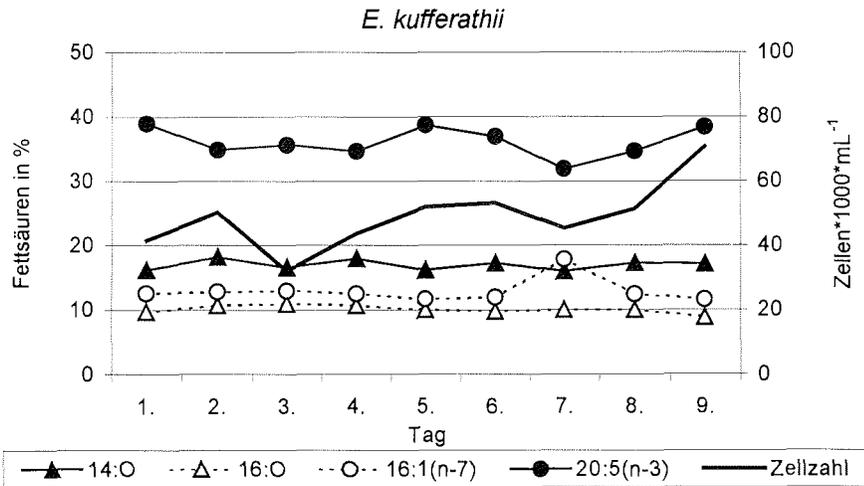


Abb. 41: Zellzahlen und der prozentuale Fettsäuregehalt von *E. kufferathii* in den drei Phasen einer Batch-Kultur; dargestellt sind die Mittelwerte aus den Temperaturversuchen mit akklimatisierten Algen (Tag 1-9)

Die Zellzahlentwicklung in *Chaetoceros* sp. durchlief die drei typischen Phasen einer Batch-Kultur, wobei die lag-Phase nur sehr kurz war und auch die logarithmische Phase aufgrund der hohen Dichte der Kultur nur bis zum 6. Tag andauerte. Der prozentuale Gehalt der Fettsäure 16:1(n-7) nimmt während der lag-Phase ab und innerhalb der stationären Phase wieder zu (Abb. 42).

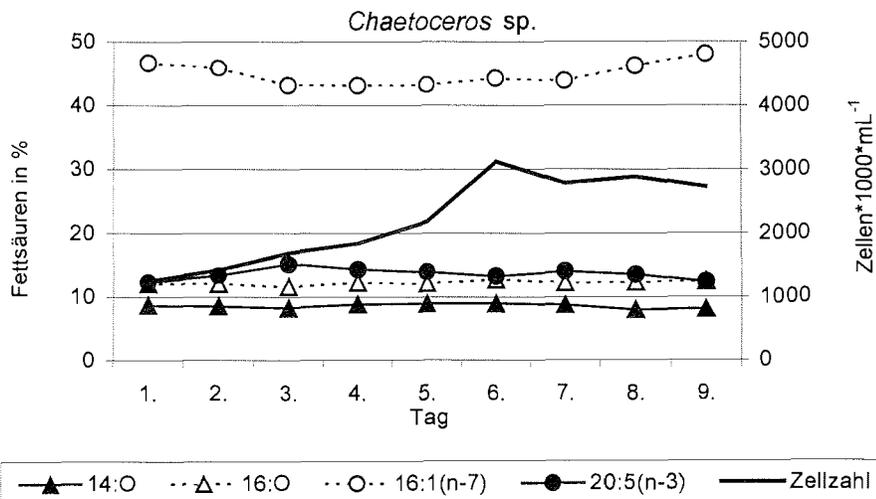


Abb. 42: Zellzahlen und der prozentuale Fettsäuregehalt von *Chaetoceros* sp. in den drei Phasen einer Batch-Kultur; dargestellt sind die Mittelwerte aus den Temperaturversuchen mit akklimatisierten Algen (Tag 1-9)

*N. lecontei* zeigte ein typisches Wachstumsverhalten von Mikroorganismen in Batch-Kulturen. Einer dreitägigen lag-Phase folgte eine dreitägige logarithmische Phase in der sich die Zellzahl verdoppelte. Anschließend erhöhte sich die Dichte der Kultur kaum noch.

Während der Gehalt der Fettsäure 20:5(n-3) mit dem Alter der Kultur zunahm, fiel der Gehalt der Fettsäuren 16:1(n-7) und (16:0) (Abb. 43).

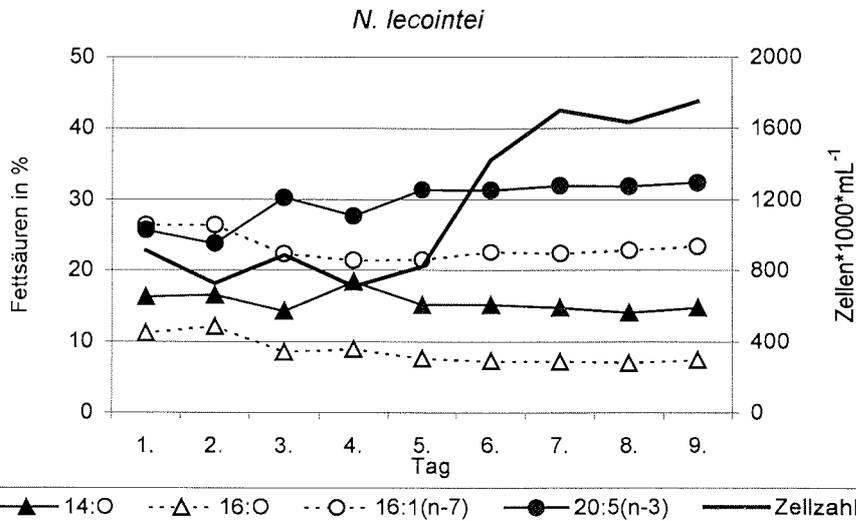


Abb. 43: Zellzahlen und der prozentuale Fettsäuregehalt von *N. lecontei* in den drei Phasen einer Batch-Kultur; dargestellt sind die Mittelwerte aus den Temperaturversuchen mit akklimatisierten Algen (Tag 1-9).

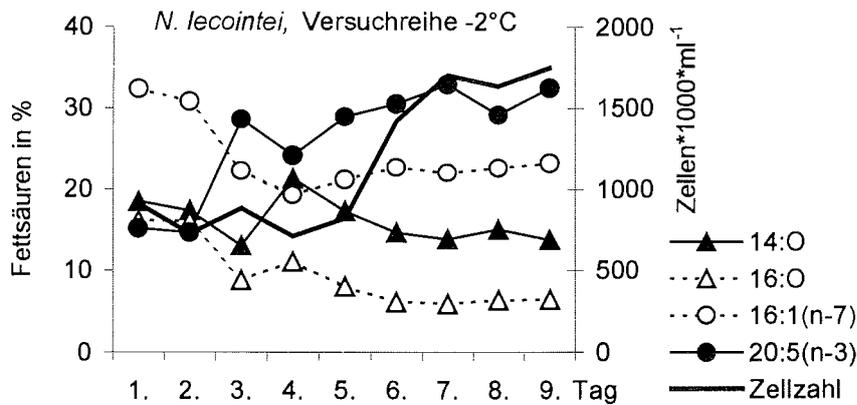


Abb. 44: Zellzahlen und der prozentuale Fettsäuregehalt von *N. lecontei* während den drei Phasen einer Batch-Kultur (Tag 1-9), die Algen waren an -2°C akklimatisiert.

Bei *N. lecointei* änderte sich bei  $-2^{\circ}\text{C}$  die Lipidzusammensetzung im Laufe des Wachstums besonders stark. Während der prozentuale Anteil der Fettsäure 20:5(n-3) zunahm, verringerte sich der Anteil der Fettsäuren 16:1(n-7) und 16:0. Beim Eintritt in die logarithmische Phase ist dieser Prozeß weitgehend abgeschlossen (Abb. 44).

Komprimiert man die Entwicklungen der Fettsäuren auf den Doppelbindungsindex, so spiegeln bei *E. kufferathii* die Schwankungen der Doppelbindungsindizes den ungewöhnlichen Verlauf der Wachstumskurve annähernd wider. Die einzelnen Wachstumsphasen lassen sich nicht voneinander abgrenzen. Folglich ist die Zuordnung einer bestimmten Entwicklung des Doppelbindungsindex zu einer der Wachstumsphasen nicht möglich.

Für *Chaetoceros* sp. ist zunächst (Tag 1-3) ein leichter Anstieg des Doppelbindungsindex von 1,1 auf 1,2 und dann ein Absinken auf die Ausgangssituation zu beobachten. Diese Veränderungen sind wesentlich geringer als die temperaturbedingten Veränderungen; hier schwanken die Werte zwischen 1 und 1,7.

*N. lecointei* zeigt die größten Veränderungen im Doppelbindungsindex bei dem Durchlaufen der drei Phasen einer Batch-Kultur; der Wert erhöht sich mit dem Alter von 2 auf 2,6, ein Anstieg in der Größenordnung der temperaturbedingten Veränderungen. Bei  $-2^{\circ}\text{C}$  sind diese Veränderungen noch stärker ausgeprägt (Abb. 45).

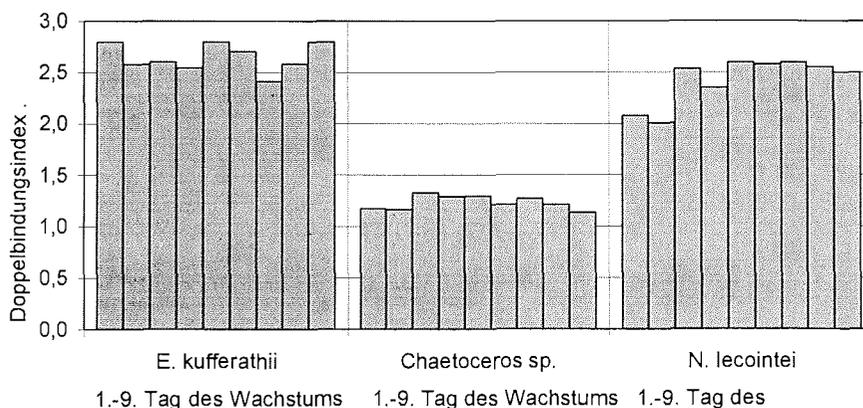


Abb. 45: Doppelbindungsindizes der drei Diatomeen *E. kufferathii*, *Chaetoceros* sp. und *N. lecointei* während neuntägiger Wachstumsphasen. Die Daten der drei Temperaturversuche mit akklimatisierten Algen wurden gemittelt.

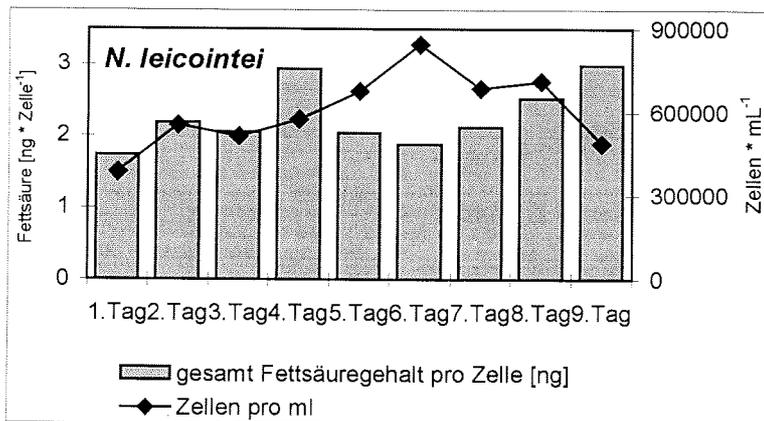
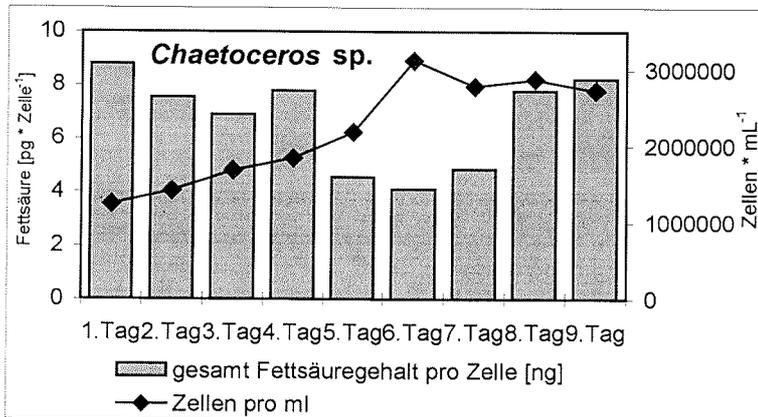
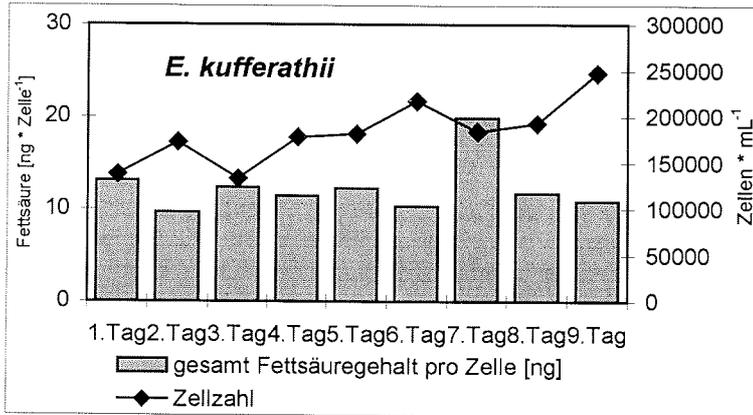


Abb. 46: Der Fettsäuregehalt pro Zelle und Zellkonzentration. Dargestellt sind die Mittelwerte aus je drei Versuchen. Während der logarithmischen Phase nimmt der Fettsäuregehalt pro Zelle ab.

Folgende Entwicklung ist in bezug auf den Fettsäuregehalt pro Zelle während der drei Wachstumsphasen einer Batch-Kultur zu erwarten. Während der log-Phase steigt der Gehalt pro Zelle oder bleibt konstant. In der logarithmischen Phase, die sich durch eine hohe Teilungsrate auszeichnet, sinkt der Gehalt pro Zelle und in der stationären Phase erreicht er wieder sein ursprüngliches Niveau. Dieses Verhalten lag auch in *Chaetoceros* sp. und *N. lecointei* vor. Nur *E. kufferathii* zeigte bei geringen Wachstumsraten kaum Veränderungen in dem Fettsäuregehalt.

### **3.3.4 Temperaturversuch mit kontinuierlichem Temperaturanstieg (Kurzzeittemperaturversuch)**

Mit dem Kurzzeitversuch sollen die metabolischen Aktivitäten eingeschätzt werden. Sie stehen im direkten Zusammenhang mit einer kurzfristigen, temperaturbedingten Anpassung der Lipidzusammensetzung. Die Versuche ergaben, daß die Veränderungen in der Lipidzusammensetzung und somit auch die enzymatischen Reaktionen nur sehr gering sind (Abb. 47 und Abb. 48). Die Veränderungen in dem Sterolgehalt sind ebenfalls sehr gering.

Fokussiert man auf die prozentualen Veränderungen in der Lipidzusammensetzung nach einer Temperaturerhöhung, so fallen zum einen die sehr geringen Veränderungen bei *N. lecointei* und zum anderen die ungewöhnlichen Veränderungen bei *E. kufferathii* und *Chaetoceros* sp. auf. Erwartet hätte man eine Veränderung, wie sie bei den akklimatisierten Algen aufgetreten ist, d.h. eine Abnahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren und eine Erhöhung der gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren. Tatsächlich aufgetreten ist in *E. kufferathii* eine Erhöhung der Fettsäure 20:5(n-3) und eine Abnahme der Fettsäuren 14:0, 16:0 und 16:1(n-7). In *Chaetoceros* sp. blieben die mehrfach ungesättigten Fettsäuren unverändert. Die Fettsäuren 14:0 und 16:1(n-7) nahmen zu und die Fettsäure 16:0 nahm ab. Bei diesen Veränderungen handelt es sich nicht um diurnale Rhythmen. Die tageszeitlichen Veränderungen wurden am Vortag überprüft. Sie waren noch geringer und lagen somit innerhalb der Meßungenauigkeit.

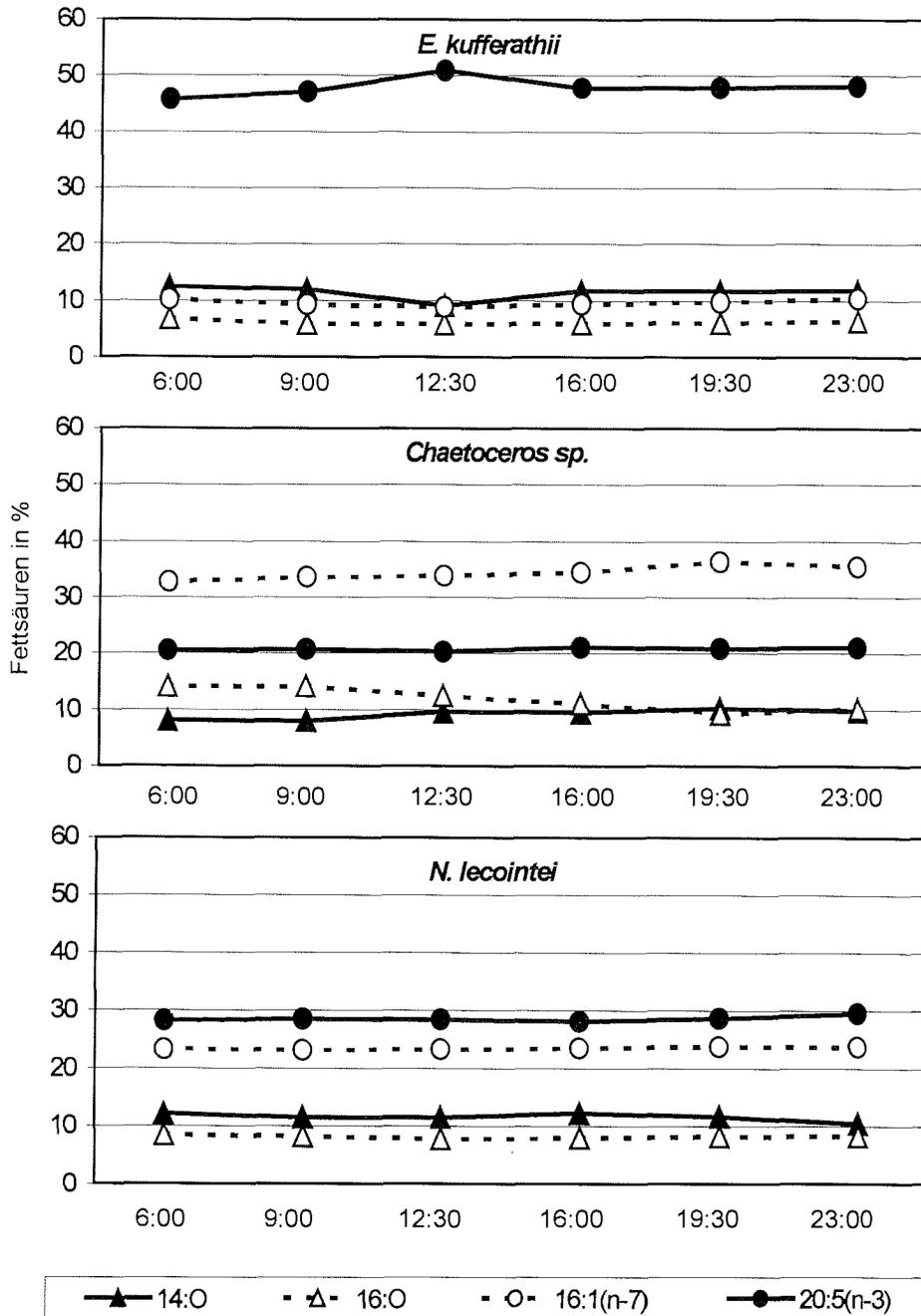


Abb. 47: Die vier häufigsten Fettsäuren während und nach einer Temperaturerhöhung um 10°C innerhalb von 6 Stunden.

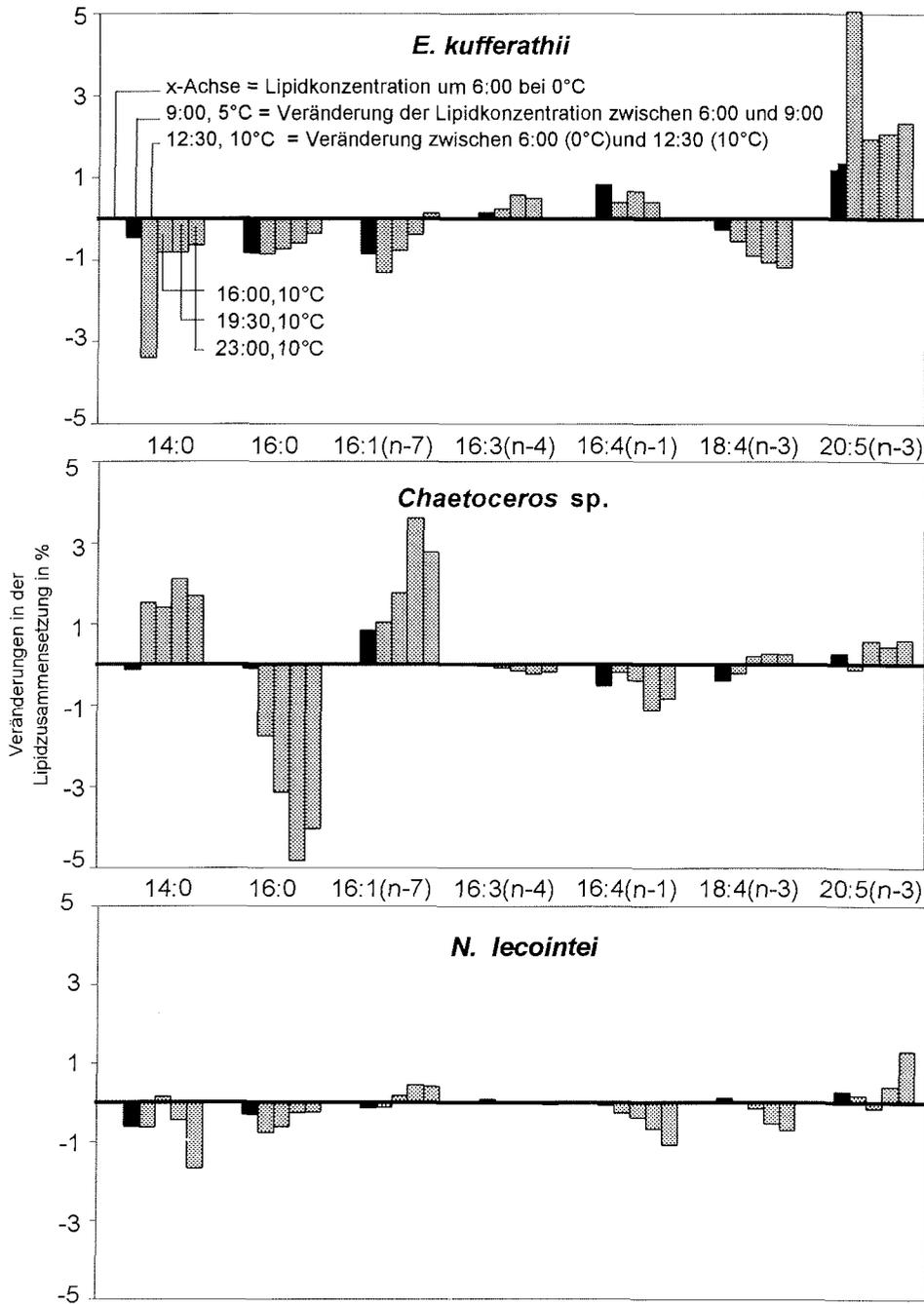


Abb. 48: Veränderungen in der Lipidzusammensetzung während und nach einer Temperaturerhöhung um 10°C innerhalb von 6 Stunden.

### 3.4 Die Fettsäuren 20:5(n-3) und 16:1(n-7)

Die Fettsäuren 20:5(n-3) und 16:1(n-7) sind die dominierenden Fettsäuren in Diatomeen. Sie verhalten sich reziprok zueinander, d.h. sobald die Fettsäure 20:5(n-3) abnimmt, nimmt die Fettsäure 16:1(n-7) zu, und umgekehrt (Abb. 49). Diese negative Korrelation kann in den Wachstumsversuchen gut verfolgt werden. Häufig verschieben sich dabei nicht nur die prozentualen Verhältnisse zueinander, sondern der absolute Gehalt an 16:1(n-7) nimmt zu und der absolute Gehalt an 20:5(n-3) nimmt ab. Für einen Umbau der Fettsäure 16:1(n-7) zu 20:5(n-3) wären mehrere enzymatische Schritte notwendig. Daher ist eine solche Veränderung schwer zu interpretieren.

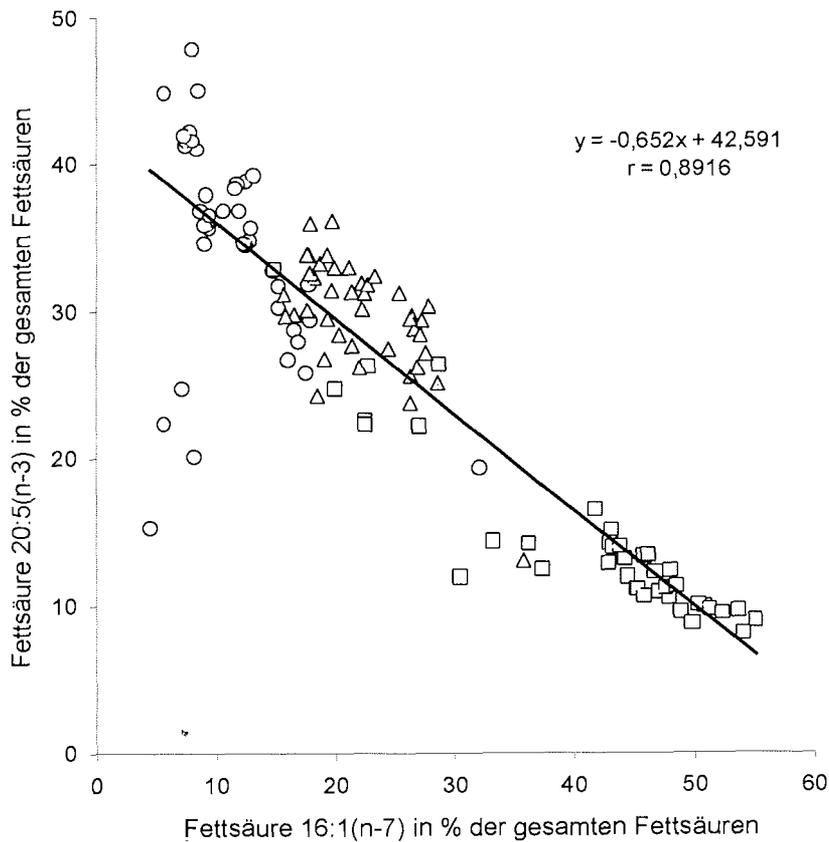


Abb. 49: Korrelation der Fettsäuren 16:1(n-7) und 20:5(n-3) in den drei untersuchten Diatomeenarten (*E. kufferathii* ○, *Chaetoceros* sp. ◻ und *N. lecointei* △).

### 3.5 Membranfraktionierung

Bei Diatomeen besteht der erste Schritt der Membranfraktionierung aus dem Zellaufschluß. Die Isolierung der Plasmamembran ist bei Diatomeen aufgrund der engen Assoziation zwischen Plasmalemma und Kieselschale schwierig. Trotz gleicher Methoden im Zellaufschluß und in der Membranisolierung war die Ausbeute an Membranmaterial sehr unterschiedlich. Somit ist anzunehmen, daß diese Unterschiede in dem physiologischen Zustand der Zelle begründet sind.

Aus den drei Diatomeenarten wurden während des Temperaturversuchs am 1., 5. und 9. Tag Membranen isoliert. Dabei erwies sich die Dichtegradientenzentrifugation als die brauchbarste Methode. Sie ist zwar nicht so spezifisch wie das 2-Phasensystem, aber die Ausbeute ist wesentlich höher.

#### 3.5.1 Lipide des Ganzzellextraktes und der Membranfraktion

Lipide wurden sowohl im Ganzzellextrakt, als auch in der Membranfraktion bestimmt. Die Proben des 1., 5. und 9. Tages des Temperaturversuchs mit akklimatisierten Kulturen (-2, 0 und +2°C bzw. -2, +2 und +6°C) wurden gemittelt und miteinander verglichen.

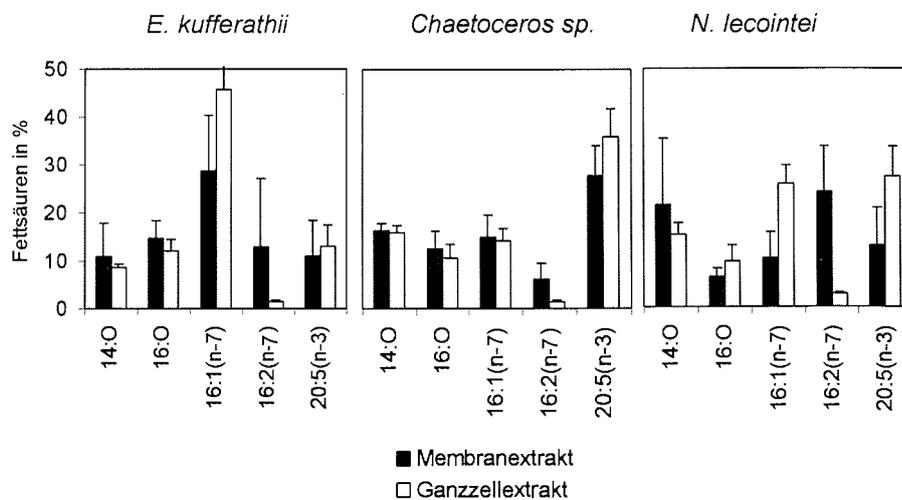


Abb. 50: Die dominierenden Fettsäuren der drei Diatomeenarten aus Ganzzellextrakten und Membranfraktionen.

Die Fettsäurezusammensetzung der Membranfraktionen und der Ganzzell-extrakte war im Wesentlichen identisch. Die größten Unterschiede finden sich bei den Fettsäuren 16:1(n-7) und 16:2(n-7). Die Fettsäure 16:2(n-7) war in den Extrakten der ganzen Zellen lediglich mit ~2% der Gesamtmenge der Fettsäuren vertreten. In den Membranen von *N. lecointei* stieg ihr Anteil auf ein Viertel. Gleichzeitig sank der Anteil der Fettsäure 16:1(n-7). Der Anteil der Fettsäure 14:0 ist in den Membranfraktionen etwas höher und der Anteil der Fettsäure 20:5(n-3) geringer als im Ganzzellextrakt (Tabelle 15 und Abb. 50).

Tabelle 15: Durchschnittliche Fettsäureverteilung in den Membranextrakten und den Ganzzell-extrakten. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen des 1., 5. und 9. Tages der drei Temperaturversuche mit akklimatisierten Kulturen. Außerdem sind die Mittelwerte der Standardabweichung aufgeführt.

Fettsäure	<i>E. kufferathii</i>		<i>Chaetoceros sp.</i>		<i>N. lecointei</i>	
	Membran-extrakt	Ganz-zellextrakt	Membran-extrakt	Ganz-zellextrakt	Membran-extrakt	Ganz-zellextrakt
14:0	16,2 ± 1,5	15,7 ± 1,4	10,8 ± 6,9	8,6 ± 0,6	21,3 ± 13,9	15,5 ± 2,3
16:0	12,3 ± 3,7	10,5 ± 2,8	14,6 ± 3,6	12,0 ± 2,3	6,3 ± 1,7	9,5 ± 3,4
16:1(n-7)	14,8 ± 4,6	14,1 ± 2,5	28,6 ± 11,5	45,6 ± 5,9	10,2 ± 5,4	25,7 ± 3,7
16:1(n-5)	0,3 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,3 ± 0,6	0,1 ± 0,0	3,6 ± 1,3	0,4 ± 0,0
16:2(n-7)	6,0 ± 3,3	1,2 ± 0,3	12,8 ± 14,2	1,4 ± 0,3	24,0 ± 9,4	2,7 ± 0,2
16:3(n-4)	7,3 ± 1,8	5,7 ± 1,2	2,7 ± 1,4	1,8 ± 0,4	1,7 ± 1,6	1,9 ± 0,5
16:4(n-1)	5,7 ± 2,7	4,7 ± 1,9	4,3 ± 3,5	3,5 ± 2,3	3,6 ± 2,5	6,2 ± 1,2
18:0	0,9 ± 0,7	0,4 ± 0,2	1,0 ± 0,9	0,5 ± 0,2	2,3 ± 2,1	0,2 ± 0,2
18:1(n-9)	0,7 ± 0,5	0,5 ± 0,2	3,7 ± 2,0	4,6 ± 1,3	1,1 ± 0,7	0,2 ± 0,0
18:1(n-7)	2,8 ± 2,1	4,1 ± 2,9	4,3 ± 4,2	0,8 ± 0,9	0,5 ± 1,0	0,6 ± 0,7 <sup>3</sup>
18:2(n-6)	0,9 ± 0,5	1,4 ± 0,4	0,4 ± 0,3	0,5 ± 0,2	1,2 ± 1,2	0,0 ± 0,0
18:3(n-3)	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,2	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,3 ± 0,4
18:4(n-3)	3,2 ± 0,3	3,6 ± 0,7	3,5 ± 1,8	5,0 ± 1,1	0,5 ± 1,1	5,4 ± 0,9
20:1(n-9)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,1
20:1(n-7)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
20:4(n-6)	0,2 ± 0,4	0,0 ± 0,0	0,7 ± 1,4	0,0 ± 0,0	6,9 ± 2,1	0,0 ± 0,1
20:4(n-3)	0,1 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,0 ± 0,1	0,4 ± 0,2	2,7 ± 1,9	0,5 ± 0,6
20:5(n-3)	27,6 ± 6,3	35,9 ± 5,7	11,0 ± 7,2	13,0 ± 4,3	12,9 ± 7,7	27,3 ± 6,2
22:6(n-3)	0,3 ± 0,4	0,9 ± 0,1	0,5 ± 0,6	1,12 ± 1,0	0,5 ± 1,0	2,1 ± 1,1
	Ø ± 1,5	Ø ± 1,1	Ø ± 3,2	Ø ± 1,1	Ø ± 2,9	Ø ± 1,2

Die statistische Auswertung ergab eine größere Streuung der Werte der Membranfraktionen. Der Mittelwert der Standardabweichungen betrug für die Ganzzellextrakte aller drei Arten 1,1 und für die Membranfraktionen lag dieser Wert bei 1,5 für *E. kufferathii*, 3,2 für *Chaetoceros sp.* und 2,9 für *N. lecointei* (Tabelle

15). Diese erhöhte Streuung entsteht durch: (a) den unterschiedlichen Reinheitsgrad der Membranfraktionen, (b) höhere Meßungenauigkeiten und/oder (c) einer erhöhten Variabilität in der Plasmamembran. Wie in Kapitel 2.4 dargestellt wurde, kann durch die Dichtegradientenzentrifugation keine 100% reine Plasmamembran isoliert werden. Meist liegt der Reinheitsgrad bei 50%.

Neben den Schwankungen in dem Reinheitsgrad der Membran ist für die Streuung auch eine höhere Meßungenauigkeit verantwortlich. Ist die Membranausbeute gering war, wirkten sich Störsubstanzen der Membranisolierung im GC stark aus. Auf eine Reinigung mittels Dünnschicht-Chromatographie wurde verzichtet, da auch hier Substanzverluste stattgefunden hätten.

## 4. Diskussion

### 4.1 Fettsäuren

In der Fettsäureforschung waren Diatomeen bereits des öfteren Untersuchungsobjekt. Bereits Ende des letzten Jahrhunderts erkannten die Kieler Meeresforscher Hensen und Brand die Bedeutung der chemischen Zusammensetzung des Planktons für die Produktivitätsabschätzung eines Meeresgebiets bzw. für den Energietransfer innerhalb der Nahrungskette (HAGEN 1988). Aufgrund ihres hohen Fettsäuregehalts wollte man Diatomeen bereits für die Ölproduktion nutzen. Diese Überlegungen wurden bisher aus ökonomischen Gründen und wegen des hohen Anteils an Nucleinsäuren nicht verwirklicht. In den letzten Jahren wurde erneut diskutiert, Diatomeen als Fettproduzenten zu nutzen; Grund ist der hohe Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (BAJPAI und BAJPAI 1993, DUNSTAN et al. 1994, KITANO et al. 1997 und YONGMANITICHAI und WARD 1989). Die Fettsäureverteilung aller Diatomeen zeichnet sich durch einen hohen Gehalt der Fettsäuren 20:5(n-3) und 16:1(n-7) aus.

In der Fettproduktion wird der quantitative Fettsäuregehalt meist in mg FS L<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup> angegeben und eine qualitative Aussage erfolgt als Prozentangabe. In der Physiologie ist der prozentuale Fettsäuregehalt meist aussagekräftiger, er wird in Relation zu den gesamten Fettsäuren oder Lipide angegeben. Angaben zur Quantität der Fettsäuren (Fettsäuregehalt pro Zelle) findet man bei Einzellern selten, denn die Aussagekraft ist durch die unterschiedliche Größe der verschiedenen Spezies gering. Außerdem ist für die Komposition der Membran der prozentuale Gehalt von Bedeutung und nicht die absolute Menge.

Es ist anzunehmen, daß mit steigendem Zellvolumen der Fettsäuregehalt, insbesondere der, der membrangebundenen Fettsäuren, ansteigt. Diese Korrelation zwischen Zellgröße und Fettsäuregehalt konnte bei den drei untersuchten Arten nicht festgestellt werden (Tabelle 16). Die Diatomee *E. kufferathii* hat ein etwa 70mal größeres Volumen als *Chaetoceros* sp., aber nur einen etwa doppelt so hohen Fettsäuregehalt. Darüber hinaus ist der Fettsäuregehalt von *N. lecointei* sogar geringer, obwohl die Alge größer ist als *Chaetoceros* sp..

Der Fettsäuregehalt von *Chaetoceros* sp. und *N. lecointei* stimmen mit den Angaben von Hecht und Günther überein (pers. Mitteilungen von Susanne Hecht,

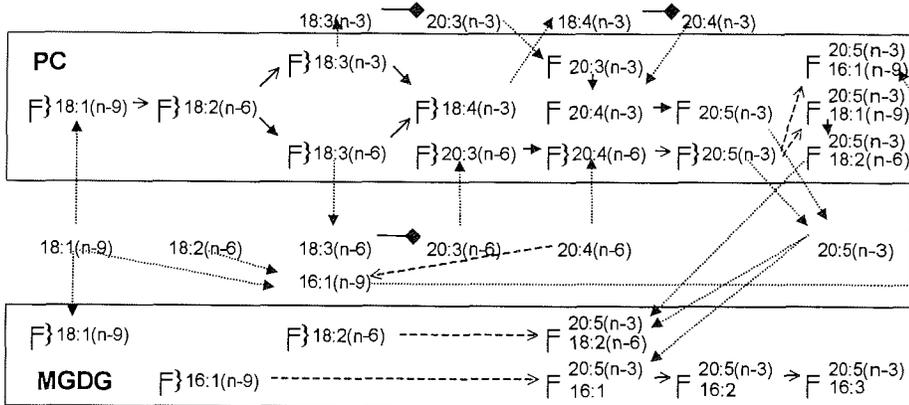
Universität Bremen, Meeresbotanik und von Sven Günther, AWI, Sektion Bio2). In *E. kufferathii* fand Hecht einen höheren Fettsäuregehalt [ $58 \text{ pg} \cdot \text{Zelle}^{-1}$ ]. Der absolute Fettsäuregehalt kann in Verbindung mit dem Gesamtkohlenstoffgehalt zu Deutungen der Kohlenstofffixierung führen, ist aber für die Membranfluidität nicht von Bedeutung. Die Fettsäuren beeinflussen die Membranfluidität durch ihre Länge und ihren Sättigungsgrad.

Tabelle 16: Die Zellgröße und der Fettsäuregehalt der drei untersuchten Algen. Die Volumenangaben für *E. kufferathii* und *N. lecointei* stammen von WANZEK (1994) die für *Chaetoceros* sp. von NOTHNAGEL (1995). Die Volumina der untersuchten Arten nehmen mit der Temperatur nur leicht zu.

Spezies	Volumen	Fettsäuregehalt	Temperatur
<i>E. kufferathii</i>	6888 $\mu\text{m}^3$	14,8 pg Zelle <sup>-1</sup>	-2°C
	7090 $\mu\text{m}^3$	4,1 pg Zelle <sup>-1</sup>	0°C
	7311 $\mu\text{m}^3$	18,2 pg Zelle <sup>-1</sup>	+2°C
<i>Chaetoceros</i> sp.	100 $\mu\text{m}^3$	2,8 pg Zelle <sup>-1</sup>	-2°C
		6,2 pg Zelle <sup>-1</sup>	+2°C
		11,1 pg Zelle <sup>-1</sup>	+6°C
<i>N. lecointei</i>	1000 $\mu\text{m}^3$	1,8 pg Zelle <sup>-1</sup>	-2°C
	1010 $\mu\text{m}^3$	1,8 pg Zelle <sup>-1</sup>	+2°C
	1006 $\mu\text{m}^3$ (+4°C)	3,8 pg Zelle <sup>-1</sup>	+6°C

Geht man davon aus, daß C1- und C2-Fettsäure eines Glycerolipids nicht identisch sind (Abschnitt 1.2.4, Abb. 17), dann ist in *E. kufferathii* bei einer Kultivierungstemperatur von -2°C die Fettsäure 20:5(n-3) in 80% aller Glycerolipide vertreten. Der in Abb. 51 dargestellte Syntheseweg zeigt, daß sich die Fettsäure 20:5(n-3) am C1-Atom befindet. In *N. lecointei* ist in ~60% aller Glycerolipide die Fettsäure 20:5(n-3) vorhanden.

In *Chaetoceros* sp. ist die Fettsäure 16:1(n-7) die am häufigsten vertretene Fettsäure. Ihr Gehalt beträgt bis zu 45% der Fettsäuren, d.h. in bis zu 90% aller Glycerolipide ist die Fettsäure 16:1(n-7) enthalten. Wenn C1- und C2-Fettsäure eines Lipids nicht identisch sind und die Fettsäure 20:5 bevorzugt an dem C1-Atom gebunden ist, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß zwei identische Fettsäuren nebeneinander liegen trotz ihres hohen prozentualen Anteils relativ gering.



→ Einfügen einer Doppelbindung in  $\alpha$ -Richtung, → Einfügen einer Doppelbindung in  $\gamma$ -Richtung, ..... Veresterung, --> Metabolismus, ◆ Elongation, } C1 oder C2-Position

Abb. 51: Vorläufiger Syntheseweg der Fettsäure 20:5(n-3) in *Phaeodactylum tricornutum*. Der Syntheseweg bis zur mehrfach ungesättigten Fettsäure 20:5 wurde für die Diatomee *P. tricornutum* durch Experimente mit radioaktivem Acetat und den radioaktiven Fettsäuren 18:1(n-9), 18:2(n-6) und 20:4(n-6) aufgeklärt (ARAO et al. 1994).

Vielleicht liegt hierin der Grund für die negativen Korrelation der beiden Fettsäuren 16:1(n-7) und 20:5(n-3). Eine Korrelation der beiden dominanten Fettsäuren in Diatomeen findet sich nicht nur in den hier untersuchten Arten. Die Zusammenfassung von Literaturdaten zeigt, daß mit der Zunahme der Fettsäure 16:1(n-7) die Fettsäure 20:5(n-3) abnimmt (Abb. 52).

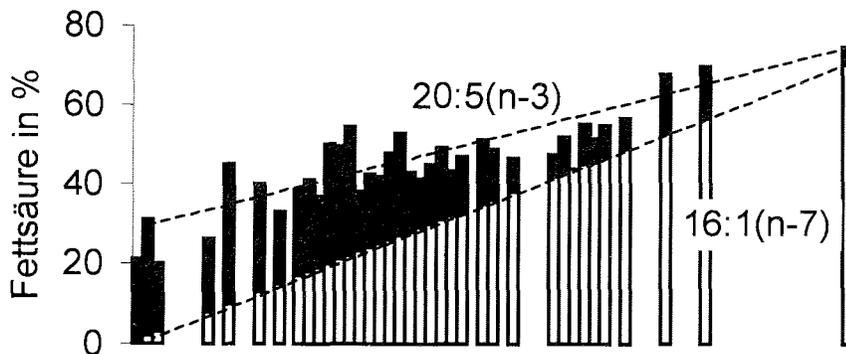


Abb. 52: Das Verhältnis der Fettsäuren 16:1(n-7) und 20:5(n-3) in Diatomeen. Die Daten stammen aus (BERGE et al. 1995, COBELAS 1989, COBELAS und LECHADO 1989, DUSTAN et al. 1993, MORTENSEN et al. 1988, NICHOLS et al. 1986, OPUTE 1974a, OPUTE 1974b, PARRISH und WANGERSKY 1990, SPRINGER et al. 1994, YONGMANITCHAI und WARD 1993, ZHUKOVA und AIZDAICHER 1995).

Der Einfluß der Temperatur auf die Verschiebung der Fettsäurezusammensetzung wurde in den verschiedensten Organismengruppen untersucht. Der Temperaturbereich lag dabei allerdings meist wesentlich höher, und tiefe Temperaturen stellten einen außergewöhnlichen Stressor dar. So wurden z.B. an Kulturpflanzen die Kälteresistenz und die damit verbundenen Änderungen in der Lipidzusammensetzung untersucht. Häufiges Ziel dieser Untersuchungen ist es, die Kälteresistenz zu erhöhen, sei es durch Züchtung oder Gentransfer (ALBERDI et al. 1993, RAKOWSKI et al. 1998, LOS 1997). Die in der vorliegenden Arbeit untersuchte Frage nach einer Temperaturanpassung von extrem kalten Bedingungen hin zu „warmen“ Bedingungen fand in der Literatur bisher wenig Beachtung. Obwohl die obere Überlebenstemperatur der Algen mit 6°C bzw. 10°C sehr niedrig ist, wäre es möglich, daß die Membranen in diesem Temperaturbereich die kritische Grenze zwischen der flüssig-kristallinen hin zur nicht lamellaren, der *reversed hexagonal* Phase überschreiten. Diese Grenze wird aufgrund der höheren „Grundfluidität“ wahrscheinlich zunächst in der Thylakoidmembran überschritten. Oder, falls es noch nicht zu diesem Phasenübergang kommt, die Fluidität der Membran so verändert ist, daß sie nicht mehr alle Funktionen wahrnehmen kann (Abschnitt 1.2.1).

Der Sättigungsgrad der Fettsäuren von *E. kufferathii* und *Chaetoceros* sp. nahm mit steigender Temperatur ab. Somit zeigen zwei der drei hier untersuchten Diatomeenarten die üblichen Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung nach einer Akklimatisation an unterschiedliche Temperaturen. Der Schluß, daß Organismen in der Lage sind, ihre Fettsäurezusammensetzung an die äußeren Bedingungen anzupassen, kann zu dem Umkehrschluß führen, daß eine bestimmte Fettsäurezusammensetzung nur einen bestimmten Lebensraum zuläßt. Tatsächlich fand man im Phytoplankton bei zunehmender Temperatur im allgemeinen auch eine Abnahme des Sättigungsgrads der Fettsäuren (ACKMAN et al. 1968, LYNCH und THOMPSON 1982 und MORTENSEN et al. 1988).

Vergleicht man die Überlebenstemperaturen von *E. kufferathii*, *N. lecointei* und *Chaetoceros* sp., so wäre zu erwarten, daß *E. kufferathii*, die Alge mit der geringsten Überlebenstemperatur, den höchsten Doppelbindungsindex aufweist und diesen am wenigsten variieren kann. Tatsächlich ist der Anteil der Fettsäure 20:5(n-3) und damit auch der Doppelbindungsindex in *E. kufferathii* besonders hoch. Entgegen der Erwartungen ist diese Alge zur Regulation des Sättigungsgrades der Fettsäuren in der Lage. Nach einer Akklimatisation an Temperaturen

von  $-2^{\circ}\text{C}$ ,  $0^{\circ}\text{C}$  und  $+2^{\circ}\text{C}$  unterschieden sich die Fettsäurezusammensetzungen erheblich (Abb. 28). Betrachtet man allein dieses Ergebnis, so scheint die Hypothese, daß Eisdiatomeen unfähig sind ihre Membranfluidität an höhere Temperaturen anzupassen, widerlegt zu sein. Andere Ergebnisse, die im folgenden diskutiert werden, stellen dies aber wieder in Frage.

Um den Grad der Veränderung einzuordnen, eignet sich der Doppelbindungsindex. Er liegt für *E. kufferathii* bei 3,02 wenn die Alge bei  $-2^{\circ}\text{C}$  kultiviert wird und sinkt auf 2,16 bei einer Kultivierung bei  $+2^{\circ}\text{C}$ . Diese Veränderung um 0,8 ist größer als die Veränderungen, die bei *Fucus vesiculosus* (0,54), *Chondrus crispus* (0,35) und *Polysiphonia lanosa* (0,45) gemessen wurden. Dies ist um so auffälliger, da in der hier durchgeführten Untersuchung die Temperaturveränderung nur  $4^{\circ}\text{C}$  betrug, während in den Untersuchungen von HARWOOD und JONES Winter- mit Sommerproben verglichen wurden (1989). Die Absolutwerte lauten für *Fucus vesiculosus* 2,38 und 1,84, für *Chondrus crispus* 2,53 und 2,18 und für *Polysiphonia lanosa* 2,40 und 1,95. Sie liegen unter den Werten von *E. kufferathii*. Die Doppelbindungsindizes von *N. lecointei* (Ø2,4) und *E. kufferathii* liegen in derselben Größenordnung, wie sie von McConville (1985) für 4 weitere Eisdiatomeen beschrieben wurde. *Chaetoceros* sp. besitzt weniger Doppelbindungen pro Fettsäure. Ihr Doppelbindungsindex liegt mit einem Durchschnittswert von 1,2 eher in Größenordnungen wie sie für Diatomeen aus kalt gemäßigten Zonen gefunden wurden. Aber auch hier ist die Spanne der Doppelbindungsindizes erheblich (Tabelle 17, ORCUTT und PATTERSON 1975).

Tabelle 17: Doppelbindungsindizes verschiedener Diatomeen aus kalt gemäßigten Zonen bei  $18^{\circ}\text{C}$  kultiviert. Berechnet nach Daten von ORCUTT und PATTERSON (1975).

Diatomee	Doppelbindungsindex
<i>Nitzschia longissima</i>	0,84
<i>Nitzschia frustulum</i>	1,01
<i>Amphora exigua</i>	1,12
<i>Fraillaria</i> sp.	1,22
<i>Amphora</i> sp.	1,38
<i>Nitzschia ovalis</i>	1,51
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	1,58
<i>Biddulphia aurita</i>	1,75
<i>Thalassiosira pseudocnana</i>	1,87
<i>Navicula pelliculosa</i>	1,98
<i>Nitzschia closterium</i>	3,03

Obwohl ein Zusammenhang zwischen der Wachstumstemperatur und dem Doppelbindungsindex besteht, ist auf Grund der erheblichen Variabilität ein Rückschluß des Doppelbindungsindex auf die Wachstumstemperatur nicht möglich.

Zu einer kurzfristigen Anpassung ist keine der drei untersuchten Arten in der Lage. Eine Temperaturerhöhung von 0°C auf 10°C innerhalb von 6 Stunden ergab eine Verschiebung der Fettsäurezusammensetzung, die der Theorie der homeoviskosen Adaptation widerspricht. In *E. kufferathii* nahm die mehrfach ungesättigte Fettsäure 20:5(n-3) zu, und die Fettsäuren 14:0, 16:0 und 16:1(n-7) nahmen ab (Abb. 47 und 48). In *Chaetoceros* sp. nahm die gesättigte Fettsäure 16:0 ab, während die Fettsäuren 14:0 und 16:1(n-7) zunahmen (Abb. 48). Nach der Theorie der homeoviskosen Adaptation wäre eine Zunahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren und eine Abnahme der gesättigten Fettsäuren zu erwarten gewesen. Da die beschriebenen Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung der Theorie der homeoviskosen Adaptation widersprechen, ist anzunehmen, daß sie nicht auf die Temperaturerhöhung zurückzuführen sind.

Bleibt also die Frage, ob es sich hier um eine rein zufällige Veränderung handelt. Der Kurzzeitversuch wurde am fünften Tag einer Batch-Kultur durchgeführt. Vergleicht man die Veränderungen im Kurzzeitversuch mit den Veränderungen im Wachstumsversuch zwischen dem fünften und sechsten Tag des Wachstums, so fallen bei *E. kufferathii* einige Parallelen auf. Auch hier nimmt die Fettsäure 20:5(n-3) zu und die Fettsäuren 14:0, 16:0 und 16:1(n-7) ab. Auf *N. lecointei* und *Chaetoceros* sp. treffen diese Beobachtungen allerdings nicht zu, d.h. die gemessenen Veränderungen sind hier wahrscheinlich nicht wachstumsbedingt.

Insgesamt fallen die Veränderungen in der Lipidzusammensetzung während des Wachstums vergleichsweise gering aus. So schwankt der Gehalt der Fettsäure 20:5(n-3) während der drei Wachstumsphasen in *E. kufferathii* um 8%, in *Chaetoceros* sp. um 5% und in *N. lecointei* um 7%. Nur bei -2°C zeigt *N. lecointei* größere Veränderungen in der Fettsäurezusammensetzung; in der lag-Phase betrug der Gehalt der Fettsäure 20:5(n-3) 15%, stieg während der logarithmischen Phase auf 30% und in der stationären Phase auf 32% des Fettsäuregehalts. Diese Werte sind mit den Werten vergleichbar (6% in der lag, 22% in der logarithmischen und 28% in der stationären Phase), die in *Phaeodactylum tricornutum* gemessen wurden.

Trotz der allgemein anerkannten Aussage, daß mit steigender Temperatur der Sättigungsgrad der Fettsäuren abnimmt, sind in der Literatur immer wieder Ergebnisse beschrieben, die diesem Bild nicht völlig entsprechen. Bei der Lagerung von Tomaten macht man sich dies sogar zu Nutze. Wurden Tomaten mit Hitze (2 min im 50°C Wasserbad oder 48 h in 38°C warmer Luft) behandelt und anschließend bei 2°C gelagert, so verlängert sich ihre Haltbarkeit. Ihre Lipidzusammensetzung verändert sich durch diese Behandlung, der Anteil der gesättigten Fettsäuren nimmt zu und der Anteil der Sterole nimmt ab (LURIE et al. 1997). Durch diesen Hitzeschock wird also eine Verschiebung in der Lipidzusammensetzung hervorgerufen, wie sie üblicherweise bei einer Adaptation an niedrige Temperaturen auftritt.

In Samenbanken findet die Lagerung bei tiefen Temperaturen (teilweise in flüssigem Stickstoff) statt, denn Untersuchungen zur Keimfähigkeit zeigten keine Beeinträchtigung des Saatgutes. Trotzdem sollte der Frage nachgegangen werden, ob tiefe Temperaturen phänotypische Veränderungen oder Veränderungen in dem metabolischen Regulationssystem, welches eng mit der Plasmamembran verknüpft ist, hervorrufen. Diese Untersuchungen zeigten, daß die Membranfluidität der Keimlinge, deren Samen bei -75°C gelagert wurden gegenüber der Kontrolle (+3°C) zunahm. Diese Zunahme fand allerdings nicht bei -25°C oder -196°C statt (RAKOWSKI et al. 1998).

Ein weiteres Beispiel, daß sich der prozentuale Anteil der unterschiedlichen Fettsäuren bei einer Temperaturerhöhung nicht verschieben muß, findet sich bei *Kalanchoë daigremontiana*. In *K. daigremontiana* wird die Fluidität des Tonoplasten durch den Proteingehalt geregelt (SCHOMBURG und KLUGE 1994). Auch *Ascophyllum nodosum* zeigt keine Veränderung im Doppelbindungsindex zwischen der Sommer- und der Winterprobe (HARWOOD und JONES 1989). *Chaetoceros gracilis* weist im Temperaturbereich von 18-32°C eine klare Abhängigkeit zwischen Temperatur und Sättigungsgrad der Fettsäuren auf (MORTENSEN et al. 1988). Wird der untersuchte Temperaturbereich auf 10-25°C reduziert, so schwindet diese eindeutige Abhängigkeit (THOMPSON et al. 1992). Daraus könnte geschlossen werden, daß die Änderungen in der Fettsäurekomposition sehr temperaturspezifisch sind. Auch die Daten der sieben anderen untersuchten Arten (*Chaetoceros calcitrans*, *C. simplex*, *Dunaliella tertiolecta*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, *Phaeodactylum tricornutum* und *Thalassiosira pseudonana*) zeigten keine ausgeprägte oder regelmäßige über den gesamten

Temperaturbereich bestehende Beziehung zwischen der Temperatur (10-25°C) und dem Sättigungsgrad der Fettsäuren. Der Mittelwert der gesamten Fettsäuren ergab lediglich einen leichten Anstieg der mehrfach ungesättigten Fettsäuren bzw. eine geringe Abhängigkeit zwischen der Temperatur und dem Verhältnis von gesättigten zu ungesättigten Fettsäuren (THOMPSON et al. 1992).

Die hier untersuchte *Chaetoceros*-Art zeigte in dieser Untersuchung und in Untersuchungen von Hecht (persönliche Mitteilung) bei einer Temperaturerhöhung zwischen -2 und +6°C eine Abnahme der PUFAs. Bei Temperaturen zwischen -1°C und -7,5°C tritt diese Veränderung allerdings nur sehr bedingt auf. Sie beschränkt sich in diesem Temperaturbereich auf die Fettsäure 16:3(n-4) (persönliche Mitteilung).

Wie bereits erwähnt, wird der Sättigungsgrad der Fettsäuren, sowohl in den membrangebundenen Lipiden als auch in den Speicherlipiden, nicht nur durch die Temperatur, sondern auch durch andere abiotische Faktoren bestimmt. In der Biotechnologie werden zur Produktionsteigerung bestimmter Fettsäuren neben der Temperatur auch der Nährstoffgehalt, der pH-Wert, die Belüftungsrate, die Beleuchtungsstärke und die Zellkonzentration variiert (KITANO et al. 1997). Da sich in den Laugenkanälchen des Eises mit der Temperatur auch der Salzgehalt ändert, muß dieser Aspekt gekoppelt betrachtet werden. In *Chaetoceros* sp. findet bei einer starken Erhöhung des Salzgehalts (80 bis 125 PSU) eine Zunahme des Gesamtlipidgehalts pro Zelle und der PUFAs statt. Bei einer mäßigen Erhöhung des Salzgehalts ist dieser Trend nicht erkennbar und der prozentuale Gehalt an PUFAs sinkt zunächst etwas (persönliche Mitteilung von Sven Günther).

In der hier vorliegenden Untersuchung wurde neben der Temperatur auch die Lichtintensität verändert. Da die verwendeten Lichtintensitäten keine Photoinhibition bewirken (WANZEK 1994), führen erhöhte Lichtintensitäten zu erhöhten Photosyntheseraten und zur vermehrten Bildung von Reduktionsäquivalenten. Es wäre möglich, daß sich die Fettsäuresyntheseraten des prokaryotischen Synthesewegs erhöhen. Eine Synthesesteigerung tritt allerdings nur dann auf, wenn bei Schwachlicht die Menge der Reduktionsäquivalente der limitierende Faktor der Fettsäuresynthese waren. Im allgemeinen wird die Reaktion der Acetyl-CoA-Carboxylase als geschwindigkeitsbestimmender Schritt der Fettsäuresynthese angesehen (HELDT 1996).

In der Natur tritt eine Lichtintensitätserhöhung meist gekoppelt mit einer Temperaturerhöhung auf. Der Gedanke, daß eine Lichtintensitätserhöhung, ebenso wie eine Temperaturerhöhung zu einer identischen Verschiebung der Fettsäurezusammensetzung führt, liegt nahe. Tatsächlich findet in *Chaetoceros* sp. eine derartige Anpassung statt. Hier findet, ebenso wie bei einer Temperaturerhöhung, eine Zunahme der mehrfach ungesättigten Fettsäuren und eine Abnahme der gesättigten Fettsäuren statt (Abb. 31 und 39). In *E. kufferathii* ist allerdings keine Korrelation zwischen der Lichtintensität und der Fettsäure oder Sterolzusammensetzung zu erkennen (Abb. 38). In *N. lecoincei* zeigt sich bei einer Erhöhung der Lichtintensität eine geringe Abnahme der Sterolkonzentration (Abb. 39).

Zur Lipidsynthese (Abschnitt 1.2.4) sind zahlreiche Schritte notwendig. Alle beteiligten Enzyme arbeiten sehr spezifisch und auch der Transport der Lipidmoleküle wird genauestens geregelt. Daher ist die relative Ähnlichkeit der Zusammensetzung der Ganzzellextrakte und der Membranfraktionen (hauptsächlich Plasmamembran) der hier untersuchten Diatomeenarten erstaunlich (Abb. 50 und Tabelle 15). Da die Algen jederzeit mit ausreichend Nährstoffen versorgt waren, war die Bildung von Speicherlipiden gering. Der Anteil der Neutrallipide dürfte während der logarithmischen Phase bei 5% liegen und sich auch in der stationären Phase nur unwesentlich erhöhen (persönliche Mitteilungen von Sven Günther und Susanne Hecht). Die gefundenen Unterschiede wurden wahrscheinlich durch den vergleichsweise hohen Anteil an Plasmamembran in der Membranfraktion hervorgerufen.

Neben den untersuchten Fettsäuren beeinflussen noch länger-kettige Kohlenwasserstoffverbindungen die Membranfluidität. In *Emiliania huxleyi*, eine kosmopolitische Art, entdeckten MARLOWE et al. (1984) einen Zusammenhang zwischen Wachstumstemperatur und dem Gehalt an Alkenonen, Alkenoaten und Alkenen. Es zeigte sich, daß andere abiotische Faktoren (Lichtintensität, Nährstoffversorgung, Zellalter) aber kaum Einfluß auf die Verteilung der Alkenone und Alkenoate haben (CONTE und EGLINGTON 1993, CONTE et al. 1994a, CONTE et al. 1994b und DUNSTAN et al. 1993). Es besteht die Möglichkeit, daß in allen Organismen, die unter kalten Bedingungen leben der Anteil dieser sehr langkettigen Lipide sehr hoch ist und auch in den hier untersuchten Arten die Membranfluidität über diese sehr langkettigen Verbindungen geregelt werden könnte.

Die Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung wird meist im Zusammenhang mit der homeoviskosen Adaptation diskutiert. Die Theorie der homeoviskosen Adaptation bietet aber keine vollständige Erklärung für alle Veränderungen der Membran (siehe Abschnitt 1.2.2). Daher ist es notwendig auch andere potentielle Funktionszusammenhänge zu untersuchen. Ein Zusammenhang zwischen der  $H_2O_2$ -Bildung und dem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren ist denkbar. Eine Hypothese von GUERZONI et al. (1997) besagt, daß der hohe Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren nicht „per se“ eine Bedingung gegen subletale Temperaturen ist, sondern ein Resultat der sauerstoffkonsumierenden Desaturaseaktivität mit der Konsequenz einer Reduktion des Sauerstoffs und der freien Sauerstoffradikalen, die bei einem Temperaturstreß gebildet werden. Bei thermotoleranten *Saccharomyces cerevisiae* Kulturen wurde kein Anstieg der thiobarbitursäurereaktiven Substanzen (TBARS) verzeichnet, wenn die Temperatur die maximale Wachstumstemperatur überschritten hatte. In nicht-thermotoleranten Arten hingegen nahm der Gehalt an TBARS um das Dreifache zu, wenn die Temperatur  $42^\circ C$  überschritt. Die thermotolerante Art reagierte mit einem Anstieg der gesättigten Fettsäuren, wenn eine subletale Wasserstoffperoxidbehandlung einen schnellen Anstieg der Temperatur vortäuschte. Dieses Ergebnis, verknüpft mit einem geringfügigen Verlust der Lebensfähigkeit aufgrund des zweifachen Stresses, legt die Existenz eines alternativen, sauerstoffkonsumierenden Mechanismus nahe. Dieser scheint vor einem übermäßigen Anteil an ungesättigten Fettsäuren zuschützen, welche bei subletalen Temperaturen in Anwesenheit von Sauerstoffradikalen für die Zellen schädlich sind (GUERZONI et al. 1997).

## 4.2 Sterole

Seit der Entdeckung des Cholesterols waren Sterole immer wieder ein Forschungsschwerpunkt von Chemikern, Biochemikern und Medizinern. Zwischen 1910 und 1985 wurden 13 Nobelpreise für Arbeiten vergeben, die sich direkt oder mittelbar mit der Erforschung der Sterole beschäftigten (Hartmann 1998). Die Rolle der Sterole in der Funktion der Membranen - insbesondere der pflanzlichen Membranen - ist nur ein kleines Teilgebiet der Sterolforschung. Sterole als Untersuchungsobjekte sind in der medizinischen Forschung aus zwei Gründen interessant. Ein hoher Cholesterolgehalt in der Nahrung führt zu einer Erhöhung des Cholesterolspiegels im Blutserum. Dieses erachtet man als Ursache für die Entstehung der gefährlichen Arteriosklerose, bei der sich cholesterinreiche Ablagerungen an den Arterienwänden bilden.

In Diatomeen sind die Sterole Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol, 24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol häufig vertreten (Tabelle 17). Somit ist weder die Sterolzusammensetzung in *E. kufferathii* (Abb. 26 und 29) (Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Ethylcholesta-5,22-dien-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol) noch die Sterolzusammensetzung in *N. lecointei* oder *Chaetoceros* sp. (Abb. 26, 32 und 35) (Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol, 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol und 24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol) außergewöhnlich. Ein weiteres in Diatomeen häufig vertretenes Sterol ist 24-Methylcholesta-5,22E-dien-3 $\beta$ -ol (Tabelle 17). Die fünf nachgewiesenen Sterole sind nicht nur in Algen sondern auch im Meerwasser häufiger vorhanden (HANKE 1995).

In der biogeochemischen Forschung untersucht man Sterole und ihre potentielle Funktion als Biomarker (HANKE 1995, VÉRON et al. 1996b, VÉRON et al. 1998, VOLKMAN 1986, NICHOLS et al. 1990). Aus ökologischer und ökonomischer Sicht sind Sterole in der Nahrungskette interessant. Das Sterolmuster von Diatomeen ist im Vergleich zu anderen Organismen relativ uniform (VOLKMAN 1986, persönliche Mitteilung von JOHN VOLKMAN). Gelegentlich findet man auch in Diatomeen eine außergewöhnliche Sterolzusammensetzung. So sind in *Corethron criophilum* Sterole mit Doppelbindung der Position  $\Delta^7$  und weitere mit einer Methylgruppe an Position C4 nachgewiesen worden. Die Spezifität der Sterole von *C. criophilum* ist so groß, daß sie als Biomarker für diese Art dienen können (MÜHLEBACH 1999).

Tabelle 17: Prozentuale Verteilung der Sterole in verschiedenen Diatomeenarten.  
 In den Literaturangaben werden teilweise die Sterole 24-ethylcholesta-5,24(28)E oder Z-dien 3 $\beta$ -ol unterschieden. Diese Angaben sind hier ebenso zusammengefaßt worden wie Unterscheidungen in verschiedene Sterolklassen

Sterolbezeichnung	Spezies	
Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol (Cholesterol)	<i>Nitzschia closterium</i>	
	<i>Nitzschia closterium</i>	
	<i>Nitzschia frustulum</i>	42
	<i>Nitzschia longissima</i>	89
	<i>Nitzschia ovalis</i>	11
	<i>Nitzschia alba</i>	
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	88
	<i>Chaetoceros calcitrans (Chaet-cali)</i>	39
	<i>Chaetoceros gracile (Chaet B)</i>	47
	<i>Chaetoceros gracile (ARG-11)</i>	49
	<i>Chaetoceros muelleri (CHGRA)</i>	48
	<i>Chaetoceros simplex (Chaet G)</i>	40
	<i>Chaetoceros simplex</i>	40
	<i>Chaetoceros sp. (NRAC-Chaet)</i>	47
	<i>Chaetoceros sp. (B-13)</i>	1
	<i>Chaetoceros sp.</i>	4
	<i>Amphiprora hyalina</i>	*
	<i>Amphora sp.</i>	
5 $\alpha$ -Cholestan-3 $\beta$ -ol		
24-Methylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol		4
24-Methyl-5 $\alpha$ -cholesta-7,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol		5
24-Ethylcholest-5-en-3 $\beta$ -ol		
24-Ethyl-5 $\alpha$ -cholestan-3 $\beta$ -ol		
Cholesta-5,24-dien-3 $\beta$ -ol	100	
4-Methyl-5 $\alpha$ -cholest-7-en-3 $\beta$ -ol		
5 $\alpha$ -Cholest-7-en-3 $\beta$ -ol		
5 $\alpha$ -Cholest-22E-en-3 $\beta$ -ol		
5 $\alpha$ -Cholest-24-en-3 $\beta$ -ol		
Cholesta-5,22E-dien-3 $\beta$ -ol *		33
24-methylcholesta-5,22E-dien-3 $\beta$ -ol	98	64
24-ethylcholesta-5,22E-dien-3 $\beta$ -ol		64
23,24-dimethylcholesta-5,22E-dien-3 $\beta$ -ol		
24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol		100
24-Ethylcholesta-5,24(28)E or Z-dien-3 $\beta$ -ol		8
Others	2	
	Orcutt and Patterson (1975)	
	Barrett et al. (1995)	
	Orcutt and Patterson (1975)	
	Orcutt and Patterson (1975)	
	Orcutt and Patterson (1975)	
	Kates et al. (1978)	
	Véron et al. 1998	
	Tsitsa-Tzardis et al. 1993	
	Bouty and Barbier (1974)	
	Tsitsa-Tzardis et al. 1993	
	Tsitsa-Tzardis et al. 1993	
	Lin et al. (1983)	
	Barrett et al. (1995)	
	Barrett et al. (1995)	



Die Wirkung der Sterole auf die Membranfluidität ist abhängig von (1) der Sterolkonzentration, (2) der Konfiguration der Seitenkette und (3) von der Temperatur. Untersuchungen zur Bedeutung der Sterole für die Membranfluidität fanden zunächst an künstlichen Membranen statt. Künstliche Membranen eignen sich besonders, um den Einfluß eines bestimmten Moleküls auf die Membraneigenschaften (z.B. Membranfluidität) zu untersuchen. So haben die Sterole 5-Cholest-3-one, 4-Cholesten-3 $\beta$ -ol, 4-Cholesten-3-one, Cholesterylacetate und Cholesteryl-methyl- und -ethylether unterschiedliche Wirkungen auf die Membranen (SLOTTE 1995). Bei den Untersuchungen an künstlichen Membranen wurde ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Sterolgehalt und Membranfluidität festgestellt.

Allerdings war dieser nicht direkt proportional, denn bei niedrigen Temperaturen erhöht und bei hohen Temperaturen verringert Cholesterol die Membranfluidität (Abb. 53, BONFILS et al. 1996).

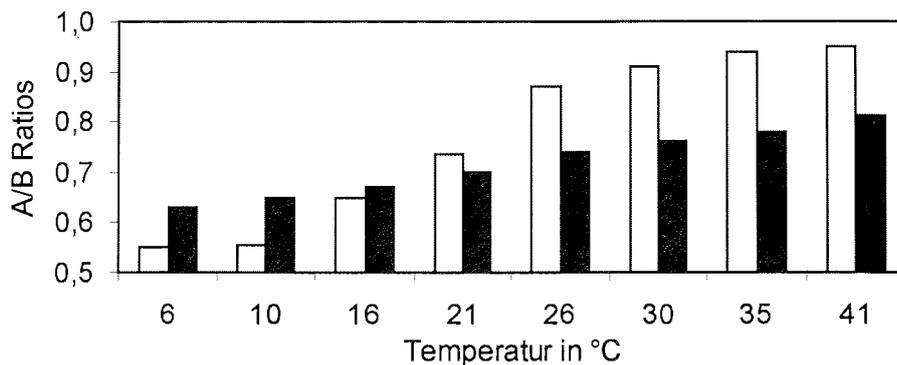


Abb. 53: Die temperaturabhängige Veränderung der Membranfluidität in Dimyristoylphosphatidylcholin-Liposomen ohne (□) und mit (■) Cholesterol. Die A/B Ratio der Elektronen Spin Resonanz dient als Maß für die Fluidität (modifiziert nach BONFILS et al. 1996).

Da die hier aufgeführten Experimente bei extrem niedrigen Temperaturen stattfanden, ist anzunehmen, daß im unteren Meßbereich mit der Temperaturverringerung der Sterolgehalt zunimmt.

Dies traf allerdings nur bei *N. lecontei* zu. Hier lag der Sterolgehalt bei -2°C bei 8% der Lipide und nahm bei +6°C auf 4% ab. Die Veränderung im Sterolgehalt wurde

hauptsächlich durch Veränderungen des Sterols 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol verursacht (Abb. 34 und 35).

In *Chaetoceros* sp. lag die Sterolkonzentration bei über 10% des Lipidgehalts. Wurde die Alge bei +2°C kultiviert, stieg der Sterolgehalt auf 15%. Ebenso wie in *N. lecointei* wurden die Veränderungen im Sterolgehalt hauptsächlich durch Veränderungen des Sterols 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol verursacht. Des Weiteren gab es leichte Verschiebungen im Gehalt von 24-Ethylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol.

In *E. kufferathii* erreichten die Sterole bei 0°C mit einem Prozent der Lipide eine minimale Konzentration. Bei -2 und +2°C lag die Konzentration bei 5%. Die Verteilung der unterschiedlichen Sterole variierte in *E. kufferathii* mit den unterschiedlichen Temperaturen erheblich.

In biologischen Membranen bestehen zwischen Sterolen und anderen Membranbestandteilen viele Wechselwirkungen (siehe unten). Daher dürfen die Untersuchungsergebnisse zur Membranfluidität und dem Sterolgehalt von künstlichen Membranen nicht unmittelbar auf Zellmembranen übertragen werden. Sterole sind Hauptkomponenten pflanzlicher Membranen und beeinflussen die Modulation der Membranfluidität und Permeabilität (YEAGLE 1985).

Generell registriert man in frostresistenten Pflanzenarten nach einer Akklimatisation an niedrige Temperaturen eine Zunahme der Phospholipide und eine Abnahme der Sterole (KOJIMA et al. 1998). In *N. lecointei* nahm der Sterolgehalt allerdings mit steigender Temperatur ab. Diese Abnahme der Sterole bei Erhöhung der Temperatur kann mit dem insgesamt sehr niedrigen Temperaturen erklärt werden. Durch Experimente an künstlichen Membranen (Abb. 53) wurde nachgewiesen, daß bei Temperaturen um den Gefrierpunkt die Fluidität der Membranen durch Sterole erhöht wird.

Aber auch bei insgesamt höheren Temperaturen wiesen die Chrysophyceae *Ochromonas danica* und die Diatomee *Phaeodactylum tricornutum* eine Verringerung des Sterolgehalts bei einer Erhöhung der Temperatur auf (BETOUHIM et al. 1977, VÉRON et al. 1996a). An der pennalen Diatomee *Phaeodactylum tricornutum* wurde der Einfluß der Temperatur (13 und 23°C) und der Lichtqualität (blaues, grünes, gelbes, rotes und weißes Licht) auf die Veränderung der Sterolzusammensetzung untersucht. Dabei fällt zunächst auf,

daß der Gesamtgehalt der Sterole bei 13°C höher ist als bei 23°C. Bei blauem Licht ist dieser Unterschied mit der siebenfachen Menge besonders hoch (VÉRON et al. 1996a). Dieses Ergebnis widerspricht der Theorie, daß mit sinkenden Temperaturen (im Temperaturbereich oberhalb von 13°C) die Sterolmenge abnimmt, um die Membranfluidität zu erhöhen. VÉRON et al. (1996a) erklären dieses Ergebnis damit, daß die Temperaturerhöhung eine Hemmung in der Sterolbiosynthese erzeugt, welche sich allerdings nicht in der Wachstumsrate widerspiegelt.

Zur Beurteilung der Wirkung von Phytosterolen auf die Membranfluidität ist eine differenzierte Betrachtungsweise notwendig, denn unterschiedliche Sterole haben unterschiedliche Wirkungen. Sitosterol und 24-Methylcholesterol sind sehr effiziente Sterole für die Verhinderung der Mobilität der Phospholipidfettsäuren. Ein Vergleich zwischen Sitosterol und Stigmasterol zeigt, daß die Einfügung der trans-orientierten Doppelbindung am C22-Atom in die Seitenkette eines Sterolmoleküls den Ordnungsparameter reduziert bzw. die Membranfluidität erhöht. Die Stereochemie am C24-Atom beeinflusst ebenfalls die Membranfluidität (HARTMANN 1998).

Die Veränderung des Sterolgehalts wurde in *N. lecointei* hauptsächlich durch das Sterol 24-Methylcholesta-5,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol hervorgerufen (Abb. 35). Durch die Doppelbindung und die Methylgruppe am C-24-Atom hat dieses Sterol eine größere Wirkung auf die Membranfluidität als Cholesterol. Auch andere Untersuchungen zeigen eine Verschiebung der Anteile der unterschiedlichen Sterole aufgrund der Temperaturbedingungen.

Untersucht man Sterole in biologischen Membranen, so müssen neben den absoluten Konzentrationen auch der Syntheseweg und die Regelmechanismen berücksichtigt werden. Die genaue Lipidzusammensetzung ist abhängig: (1) vom Membranlipidumsatz, (2) von der Selektivität des Transports vom Syntheseort zur Membran und (3) von der Regulation der Schlüsselenzyme der Biosynthese. Um eine optimale Sterol-Phospholipidinteraktion in der Membran zu sichern und dabei das Interesse der zellulären Ökonomie zu verfolgen, unterliegen der Sterol- und Phospholipidsyntheseweg koordinierten Regulationen (BURDEN et al. 1990). So zeigt sich die Anpassung an verschiedene Lebenszyklen eines Blattes zum einen in der Sterolkonzentration, die während der Blattentwicklung zunimmt, und zum anderen in der Phospholipidkonzentration und Membranfluidität einer mikroso-

malen Fraktion, welche während der Seneszenz abnehmen (VENKEN et al. 1990). Obwohl bisher keine Daten über die Halbwertszeit von pflanzlichen Sterolen vorliegen, wird angenommen, daß die relative Zunahme der Sterole während der Seneszenz durch ihre große Stabilität hervorgerufen wird (HARTMANN 1998).

Eine Veränderung der Sterolkonzentration im Laufe einer der drei Wachstumsphasen konnte in keiner der hier untersuchten Algen festgestellt werden. Es ist allerdings nicht auszuschließen, daß in synchronisierten Kulturen mit dem Zellalter eine Anreicherung der Sterole auftritt.

Eine der wenigen Untersuchungen über Sterole und ihre physiologische Rolle zeigte den Effekt von unterschiedlichen Sterolen auf die ATP-Hydrolyse, die Protonenpumpe und die Plasmamembran-ATPase von Maiswurzeln. Die Effekte von Cholesterol, sowie den typischen pflanzlichen Sterolen: Sitosterol, Stigmasterol und 24-Methylcholesterol und zwei außergewöhnlichen Sterolen: 24-Methylpollinastanol und  $14\alpha,24$ -Dimethylcholest-8-en-3 $\beta$ -ol wurden überprüft. Die Ergebnisse weisen auf eine Bindung zwischen den Sterolen und der pflanzlichen Plasmamembran  $H^+$ -ATPase hin. Sitosterol und 24-Methylcholesterol inhibieren die Protonenpumpe, wobei der Grad der Inhibierung direkt proportional zu der eingesetzten Sterolmenge ist. Cholesterol hingegen regt die Pumpe bei allen eingesetzten Konzentrationen (0 bis 30 mol%) an. Stigmasterol hat bei geringen Konzentrationen (<5 mol%) einen stimulierenden und bei höheren Konzentrationen einen leicht inhibierenden Einfluß. Somit zeigt sich, daß die  $H^+$ -ATPase abhängig ist von der Sterolkonzentration und von der Sterolart und sehr sensibel auf Veränderungen in der Lipidumgebung reagiert (GRANDMOUGIN-FERJANI et al. 1997).

In einer weiteren Untersuchung wurde der Effekt unterschiedlicher Sterole auf  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasen aus tierischen Zellen untersucht. Auch hier fand man ein Sterolspezifikum. Cholesterol, 7-Dehydrocholesterol und Dihydrocholesterol steigern die Aktivität des Enzyms auf das fünf- bis sechsfache, während 24-Methylcholesterol nur eine Verdopplung bewirkt (MICHELANGELI et al. 1989).

### 4.3 Resümee und Ausblick

Die Veränderung der Fettsäure- und Sterolzusammensetzung wurde in Abhängigkeit von der Temperatur, der Lichtintensität und der Wachstumsphase untersucht. Diese Untersuchungen zeigen einen Teil der vielfältigen abiotischen Faktoren, welche die Fettsäure- und Sterolzusammensetzung und somit auch die Membranfluidität beeinflussen. Es wurde nachgewiesen, daß sich der Fettsäuregehalt in *E. kufferathii* und *Chaetoceros* sp. mit der Temperatur ändert, wenn die Algen über einen längeren Zeitraum unter diesen Temperaturbedingungen kultiviert werden. *N. lecointei* hingegen paßt ihre Membranfluidität über die Veränderung der Sterolzusammensetzung an. Keine der Algen war innerhalb weniger Stunden zu einer Anpassung fähig. Weder die Fettsäuren noch die Sterole veränderten sich, so, daß von einer homeoviskosen Adaptation ausgegangen werden kann.

Die Hypothese, daß die obere Überlebenstemperatur von Eisdiatomeen durch die Regulation ihrer Membranfluidität bestimmt wird, sollte durch die beiden Temperatur-Experimente untermauert werden. Da die beiden Experimente allerdings widersprüchliche Ergebnisse hervorbrachten, wurde die Hypothese weder falsifiziert noch verifiziert.

Die Ergebnisse demonstrieren, daß (a) zur Untersuchung der Membranfluidität eine Beschränkung auf die beiden wichtigen Membranbausteine Fettsäuren und Sterole unzureichend ist und (b) die Theorie der homeoviskosen Adaptation viele Fragen zur Membranfunktion offen läßt. Eine direkte Messung der Membranfluidität sollte die Untersuchungen der Fettsäuren und Sterole ergänzen, konnte aber auf Grund methodischer Schwierigkeiten nicht durchgeführt werden (siehe Abschnitt 2.5). Die geringe Biomasse und die Schwierigkeiten bei der Membranisolierung stellten in dieser Untersuchung das größte Hindernis dar. Daher eignen sich psychrophile Makroalgen evtl. besser als Eisdiatomeen, um den Zusammenhang zwischen Membranfluidität und obere Überlebenstemperatur einiger arktischer und antarktischer Arten zu untersuchen.

Für eine abschließende Betrachtung der Temperaturanpassung der Membranen von Eisdiatomeen müssen noch viele Fragen beantwortet werden.

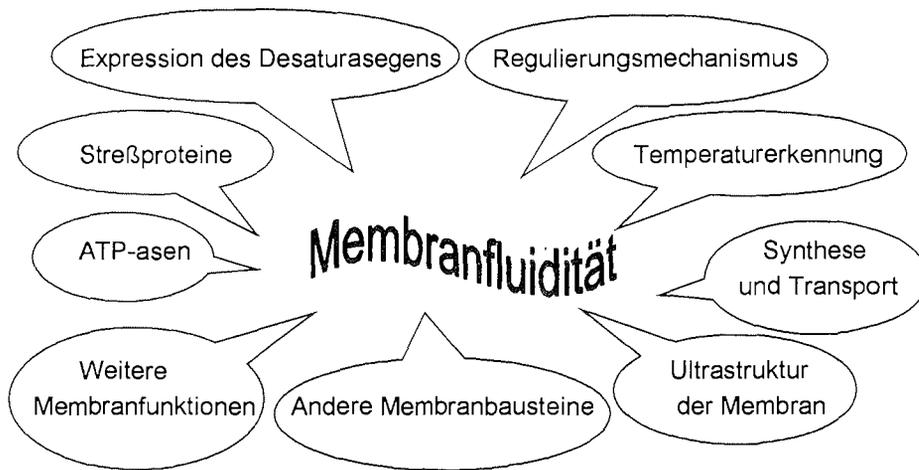


Abb. 54: Faktoren, deren Einflüsse auf die Membranfluidität von Eisdiatomeen bisher nicht oder nur unzureichend untersucht wurden. Um ein vollständiges Bild über die Funktion der Membranen zu erhalten sind all diese Untersuchungen notwendig.

Da die Membranfluidität nicht nur durch den Gehalt der Sterole und Fettsäuren reguliert wird, stehen weitere Analysen zur Membranzusammensetzung an. Besonders die langkettigen Moleküle sollten dabei betrachtet werden. Für Alkenone, Alkene, Alkenoate und Carotinoide wurde ein starker Einfluß auf die Membranfluidität nachgewiesen (MARLOWE et al. 1984). Die Liste dieser Lipide wird sich durch eine Verbesserung der Analysemethoden wahrscheinlich in den nächsten Jahren noch verlängern. Auch ist eine differenziertere Betrachtung der Fettsäuren notwendig. Die Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Glycerolipide müßte, ebenso wie die Temperaturabhängigkeit des Lipidtransport und die Interaktion verschiedener Membranen untersucht werden.

Über die Ultrastruktur der Membranen von Eisdiatomeen liegen keine Erkenntnisse vor. Die Struktur eines lipidbestimmten Funktionsbereiches wurde bisher an keiner psychrophilen Alge untersucht. Über die Neigung der Thylakoidmembranen aus Eisdiatomeen *reverse hexagonale* Phasen zu bilden kann nur spekuliert werden. Auch ist nicht bekannt, ob in der Plasmamembran Faltungen auftreten. Mit der Gefrierbruchtechnik könnte nachgewiesen werden, ob sich die Organisation der Makromoleküle innerhalb der Membran bei sinkenden Temperaturen verändert (QUINN 1988, YU et al. 1995).

Faltungen in der Plasmamembran wurden in kälteresistenten *Chlamydomonas* und *Chloromonas* gefunden. Diese Faltungen wurden ausschließlich bei den kälte-

resistenten Arten gefunden. Besonders zu erwähnen ist hierbei *Chlamydomonas rosae*, eine Art, die - obwohl sie aus einer temperierten Umgebung isoliert wurde - kälteresistent ist und die typischen Faltungen innerhalb des Plasmalemmas aufweist (CLARKE UND LEESON 1985).

Auch sollte Temperaturerkennung und ihre ersten Reaktionen im Mittelpunkt weiterer Forschungen stehen. Ein Zusammenwirken von Streßproteinen und der Lipidzusammensetzung der Membranen ist wahrscheinlich, aber noch nicht überprüft.

Ein generelles Schema der molekularen Mechanismen der Zelladaptation an niedrige Temperaturen zeigt folgende Schritte: eine Temperaturabnahme resultiert in einer Abnahme der Membranfluidität. Die Zelle registriert die Fluiditätsabnahme. Das Signal von dem bisher nicht bekannten Sensor für die Regulierung wird zu einem zur Zeit ebenfalls nicht bekannten regulativen Molekül oder direkt zu der regulativen Sequenz des Desaturasegens übertragen. Dies führt zunächst zu einer erhöhten Genexpression und anschließend zu einer Erhöhung des Anteils an mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Membran. Die Membranfluidität und somit auch die Aktivität der assoziierten Systeme, z.B. die Photosynthese und der ATP-synthetisierende Komplex, kehren zu ihrer Ausgangssituation zurück (Los 1997) (Abb. 54).

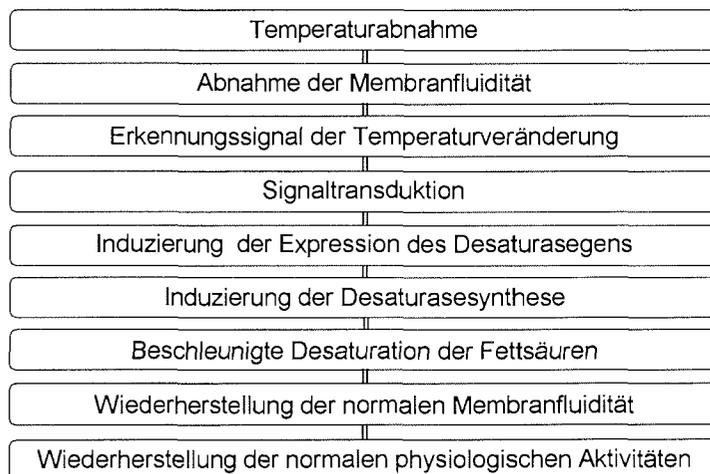


Abb. 54: Schema für die Zelladaptation an niedrige Temperaturen: die Rolle der Fettsäure-desaturasen (Los 1997).

Für die hier behandelte Frage, ob Eisdiatomeen in der Lage sind, ihre Membranfluidität an höhere Temperaturen anzupassen, muß das Reaktionsschema übertragen werden. Und es stellt sich die Frage, ob der unbekannte Sensor für die Abnahme der Membranfluidität mit dem ebenfalls unbekanntem Sensor für die Zunahme der Fluidität identisch ist.

Die Erkennung einer Temperaturänderung wurde auch im Zusammenhang mit Streßproteinen diskutiert. Streßproteine werden nach ihrem Molekulargewicht in 6 Gruppen unterteilt und aus historischen Gründen oftmals als Hitzeschockproteine bezeichnet. In der Zelle schützen sie die Integrität von Proteinen. Hitzeschock oder andere Stressoren wie z.B. giftige Metalle, Alkohole oder auch Stoffwechselgifte führen zur einer Denaturierung von Proteinen. Hier setzt die Rolle der Streßproteine ein. Sie binden an die Proteine und schützen vor einer weiteren Denaturierung (WELCH 1993, HÜBEL 1992).

Bisher wurde der Zusammenhang zwischen Streßproteinen und Lipidzusammensetzung der Membran kaum untersucht und eine Modellvorstellung konnte sich bisher nicht etablieren. Identische Streßfaktoren lösen allerdings sowohl die Bildung von Streßproteinen als auch eine Veränderung der Lipidzusammensetzung aus. Untersuchungen zu diesem Komplex fanden an hitzegeschockten Tomaten (LURIE et al. 1997) und an transgenen Tabakpflanzen statt (Bultynck et al. 1997). Durch den Hitzeschock erhöhte sich in den hitzegeschockten Tomaten neben den Hitzeschockproteinen auch der Anteil der ungesättigten Fettsäuren und Sterole (LURIE et al. 1997). Letzteres ist erstaunlich, da die Membranfluidität erhöht wird. In den Tabakpflanzen veränderte sich der Anteil der ungesättigten Fettsäuren nicht signifikant und die Sterole nur im Verhältnis zwischen Stigma- und Sitosterol (Bultynck et al. 1997). Streßproteine wurden meines Wissens in Eisdiatomeen bisher nicht untersucht.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Komposition der Lipide analysiert. Es wäre auch möglich nicht das Endprodukt, sondern den Syntheseweg zu untersuchen. Um die metabolischen Wege zu beschreiben, ist eine Untersuchung der beteiligten Enzyme unerlässlich. Mit Dicloformethyl oder  $\gamma$ -Ketotriazole als Inhibitoren des Phospholipid- bzw. Sterolsynthesewegs können diese Regulationen untersucht werden. Dicloformethyl hemmt die Acetyl-CoA-Carboxylase und somit auch die Fettsäure- und Phospholipidbiosynthese und  $\gamma$ -Ketotriazole hemmt die 14 $\alpha$ -Demethylase der Phytosterole (BURDEN et al. 1990).

Da allerdings nicht nur die aktuellen Verhältnisse in einer Membran, sondern auch die Synthese und der Lipidtransport temperaturabhängig sind, wird das Bild außerordentlich komplex. In Lauchsämlingen ist es gelungen die Synthese, den Transport und den Verbleib von Lipiden in den Membranen zu verfolgen. In Lauchsämlingen ist bei niedrigen Temperaturen (12 oder 16°C) der Transport von PE und PS in die Plasmamembran reduziert, der Transport von PC und PI aber nicht. Der Vesikeltransport zwischen Golgiapparat und Plasmalemma ist reduziert, während der zwischen ER und Golgiapparat nicht reduziert ist. Somit scheint es, daß niedrige Temperaturen einen spezifischen Effekt auf den Transport von Vesikeln mit einer bestimmten Lipidzusammensetzung haben. Dies kann zu einer geänderten Morphologie des ER-Golgiapparat-Plasmalemma-Synthesewegs führen. Außerdem wird angenommen, daß die unterschiedlichen Phospholipide der Plasmamembran nicht demselben Syntheseweg folgen oder nicht über die selben Mechanismen zur Plasmamembran der Lauchsämlinge transportiert werden (STURBOIS-BALCERZAK et al. 1995). Bei diesem Vergleich muß allerdings berücksichtigt werden, daß niedrige Temperaturen bei Lauchsämlingen zu einer extremen Wachstumsverzögerung führen und für Eisdiatomeen lebensnotwendig sind.

Wird der Mechanismus der Adaptation nicht auf der physiologischen, sondern auf der genetischen Ebene diskutiert, stellt sich die Frage nach der Übertragung einer größeren Temperaturtoleranz.

Mit Hilfe genetischer Techniken wurde demonstriert, daß Kältetoleranz durch Desaturase-Gene auf kältesensitive Organismen übertragen werden kann. Eine Zunahme der Kältetoleranz war verbunden mit dem vermehrten Auftreten von ungesättigten Fettsäuren. Es gibt Beweise, daß die Menge an ungesättigten Lipiden durch die Höhe der Expressionsrate des Desaturasegens reguliert ist. Der Auslöser für die Expression dieses Desaturasegens ist vielleicht die Abnahme der Membranfluidität, welche einen sensitiven Mechanismus aktiviert, um ein Signal in Gang zu setzen. Die Natur dieses Signals ist allerdings noch nicht bekannt (QUINN 1998).

Im Fall der untersuchten Eisdiatomeen stellt sich nicht die Frage, wie die Expression des Desaturasegens aktiviert wird, sondern auf welche Weise sie inhibiert wird. Ist der sensitive Mechanismus ein Ein- und Ausschalter oder gibt

es zwei unterschiedliche Mechanismen? Oder aber ist der regulierte Abbau der Doppelbindungen gestört?

Der physikalische Zustand einer Membran und die Expression des Fettsäure-desaturasegens unterliegen wahrscheinlich einer Feedback-Regulation. Es stellt sich die Frage, welcher Art die Temperaturmessung ist und wie der Übertragungsweg der Signaltransduktion der regulativen Elemente der Gene aussieht. Was aktiviert bzw. was inhibiert eine Genexpression?

Und „last but not least“ steht für alle Organismen eine vollständige Erklärung für die Veränderungen in der Lipidzusammensetzung in den Membranen noch aus. Die Theorie der homeoviskosen Adaptation bietet keine ausreichende Erklärung für viele Phänomene. Vielleicht müssen wir uns sogar von dem Gedanken befreien, daß die Veränderung der Lipidkomposition in erster Linie Adaptation an die Temperatur darstellt. Der Schutz vor Sauerstoffradikalen könnte ebenso bedeutend sein (GUERZONI et al. 1997).

Wie bereits in der Einführung zur homeoviskosen Adaptation (Abschnitt 1.2.2) gezeigt wurde, bewirken viele Veränderungen der Membran, z.B. eine Änderung der Sterolkonzentration, eine Regelung der Membranfluidität. Da aber in bezug auf die Membranfluidität andere Veränderungen effektvoller wären, kann davon ausgegangen werden, daß neben der Membranfluidität auch andere physikalischen Eigenschaften der Membran aufrecht erhalten werden müssen, um die volle Funktionsfähigkeit zu erhalten.



### Literatur

- Ackman, R.G., Tocher, C.S., and McLachlan, J. (1968)  
Marine phytoplankter fatty acids. *J.Fish.Res.Bd.Can.* 25:1603-1620
- Alberdi, M., Corcuera, L.J., Maldonado, C., Barrientos, M., Fernandes, J., and Henriquez, O. (1993)  
Cold acclimation in cultivars of *Avena sativa*. *Phytochemistry* 33(1):57-60
- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Watson, J.D. (1989)  
*Molecular biology of the cell*, New York, London: Garland Publishing
- Arao, T., Sakaki, T., and Yamada, M. (1994)  
Biosynthesis of polyunsaturated lipids in the diatom, *Phaeodactylum tricorutum*. *Phytochemistry* 36(3):629-635
- Bajpai, P. and Bajpai, P.K. (1993)  
Eicosapentaenoic acid (EPA) production from microorganisms: a review. *Journal of Biotechnology* 30:161-183
- Ballantine, J.A., Lavis, A., and Morris, R.J. (1979)  
Sterols of the phytoplankton-effects of illumination and growth stage. *Phytochemistry* 18:1459-1466
- Barrett, S.M., Volkman, J.K., Dunstan, G.A., and LeRoi, J.-M. (1995)  
Sterols of 14 species of marine diatoms (Bacillariophyta). *J.Phycol.* 31:360-369
- Bartsch, A. (1989)  
Die Eisalgenflora des Weddellmeeres (Antarktis):  
Artenzusammensetzung und Biomasse sowie Ökophysiologie  
ausgewählter Arten. *Berichte zur Polarforschung* 63:1-110
- Berenberg, C.J. and Patterson, G.W. (1981)  
The relationship between dietary phytosterols and the sterols of wild  
and cultivated oysters. *Lipids* 16:276-278
- Berge, J.-P., Gouygou, J.-P., Dubacq, J.-P., and Durand, P. (1995)  
Reassessment of lipid composition of the diatom, *Skeletonema costatum*. *Phytochemistry* 39(5):1017-1021
- Betouhim, E., Kahan, D., and Eckstein, B. (1977)  
Influence of temperature on sterols of *Ochromonas danica*. *Comp. Biochem. Physiol.* 58(b):243-248
- Bonfils, J.-P., Sauvaire, Y., and Maurin, L. (1996)  
Evidence of cycloiridals as membrane constituents: effects on fluidity  
patterns compared to those of cholesterol. *Planta* 200:353-357

- Boutry, J.-L. and Barbier, M. (1974)  
La diatomee marine *Chaetoceros simplex calcitrans* Paulsen et son environnement, I. *Mar. Chem.* 2:217-227
- Bultynck, L., Geuns, J.M.C., van Ginkel, G., and Caubergs, R.J. (1997)  
Properties of plasma membranes of *Phsp 70-ipt* transformed tobacco (*nicotiana tabacum*). *Phytochemistry* 45(7):1337-1341
- Burden, R.S., Cooke, D.T., and James, C.S. (1990)  
Co-ordinate regulation of sterol and phospholipid biosynthesis in oat shoot plasma membranes. In: *Plant lipid biochemistry, structure and utilisation: the procedure of the 9th international symposium on plant lipids*, edited by Quinn, P. London: Portland Press Limited, 335-338.
- Clarke, K.J. and Leeson, E.A. (1985)  
Plasmalemma structure in freezing tolerant unicellular algae. *Protoplasma* 129:120-126
- Cobelas, M.A. (1989)  
Lipids in microalge. A review II. Environment. *Grasas y Aceites* 40(3):213-223
- Cobelas, M.A. and Lechado, J.Z. (1989)  
Lipids in microalge. A review I. Enviroment. *Grasas y Aceites* 40(2):118-145,
- Conte, M.H. and Eglinton, G. (1993)  
Alkenone and alkenoate distributions within the euphotic zone of the eastern North Atlantic: correlation with production temperature. *Deep-Sea Research* 40:1935-1961
- Conte, M.H., Thompson, A., and Eglinton, G. (1994a)  
Primary production of lipid biomarker compounds by *Emiliana huxleyi*: results from an experimental mesocosm study in fjords of southern Norway. *Sarsia*
- Conte, M.H., Volkman, J.K., and Eglinton, G. (1994b)  
Lipid biomakers of the Haptophyta. In: *The haptophyte Algae*, edited by Green, J.C. and Leadbeater, B.S.C. Oxford: Systematics Association by Clarendon Press, 351-377.
- Davis, P.J., Fleming, B.D., Coolbear, K.P., and Keogh, K.M.V. (1981)  
Gel to liquid-crystalline transiton temperatures of water dispensions of two pairs of positional isomers of unsaturated mixed acid phosphatidylcholines. *Biochemistry* 20:3633-3636
- Dieckmann, G.S. and Kipfstuhl, S. (1995)  
Unterwassereis und grüne Eisberge. In: *Biologie der Polarmeere - Erlebnisse und Ergebnisse*, edited by Hempel, G. and Hempel, I. Jena: Gustav Fischer, 86-94

- Djerassi, C. (1981)  
Recent studies in the marine sterol field. *Pure & Applied Chemistry* 53:873-890
- Dunstan, G.A., Volkman, J.K., Barrett, S.M., and Garland, C.D. (1993)  
Changes in the lipid composition and maximisation of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. *Journal of applied phycology* 5:71-83
- Dunstan, G.A., Volkman, J.K., Barrett, S.M., Leroi, J., and Jeffrey, S.W. (1994)  
Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatoms. *Phytochemistry* 35:155-161
- Ehrenberg, C.G. (1853)  
Über neue Anschauungen des kleinsten nördlichen Polarlebens. *Monatsber. Akad. Wiss. Berlin* 522-529
- Eicken, H. (1995)  
Wie polar wird ein Polarmeer durch das Meereis? In: *Biologie der Polarmeere - Erlebnisse und Ergebnisse*, edited by Hempel, G. and Hempel, I. Jena: Gustav Fischer, 58-76
- Elliton, D.H. (1998)  
Physikal geography - geographical evolution. In: *Key Environments - Antarctica*, edited by Bonner, W.N. Oxford: Pergamon Press, 39-61
- El-Sayed, S.Z. and Fryxell, G.A. (1993)  
Phytoplankton. *Antarctic Microbiology* 1:65-122
- Engelke, M. (1990)  
Fluidität der mikrosomalen Membran und Multienzymwechselwirkung im mikrosomalen Monooxygensystem unter Lösungsmiteleinfluß. Dissertation an der Universität-Bremen 1-135
- Falbe, J. and Regnitz, M. (Editors) (1995)  
*Römpp, Chemie Lexikon*, Stuttgart: Thieme
- Faraday, C.D., Spanswick, R.M., and Bisson, M.A. (1996)  
Plasma membrane isolation from freshwater and salttolerant species of Chara: antibody cross-reactions and phosphohydrolase activities. *Journal of experimental botany* 47(297):589-594
- Fryxell, G.A. (1989)  
Marine phytoplankter at the Weddell Sea ice edge: seasonal changes at the specific level. *Polar Biology* 10:1-18
- Garrison, D.L. and Buck, K.R. (1985)  
Sea-ice algal communities in the Weddell Sea: species composition in the ice and plankton assemblages. In: *Marine Biology of polar regions and effects of stress on marine organisms*, edited by Gray, J.S. and Christiansen, M.E. John Wiley & Sons Ltd, 103-123

- Garrison, D.L. and Thomsen, H.A. (1993a)  
Polarstern"ANT X/3" austral autumn in the ice 1992: Sea-ice community studies. *Antartic Journal* 126-128
- Garrison, D.L., Buck, K.R., and Growing, M.M. (1993b)  
Winter plankton assemblage in the ice edge zone of the Weddell and Scotia seas: composition, biomass and spatial distribution. *Deep Sea Res.* 40:311-338
- Garrison, D.L., Sullivan, C.W., and Ackley, S.F. (1986)  
Sea ice microbial communities in Antarctica. *BioScience* 36:243-250
- Gersonde, R. (1984)  
Siliceous Microorganisms in sea ice and their record in sediments in the southern Weddell Sea (Antarctica). *8th Diatom-Symposium* :549-565
- Gillan, F.T., McFadden, G.I., Wetherbee, R., and Johns, R.B. (1981)  
Sterols and fatty acids of an antarctic sea ice diatom, *Stauroneis amphioxys*. *Phytochemistry* 20(8):1935-1937
- Goad, L.J. (1978)  
The Sterols of Marine Invertebrates: Composition, Biosynthese, and Metabolites. In: *Marine Natural Products*, edited by Scheuer, P.J. New-York: Academic Press, 75-172.
- Goad, L.J. (1985)  
Biosynthesis and interconversion of sterols in plants and marine invertebrates steroids and isoprenoids: Part B. *Methods Enzymology* 111:311-332
- Grandmougin-Ferjani, A., Schuler-Muller, I., and Hartmann, M.-A. (1997)  
Sterol Modulation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity from corn roots reconstituted into soybean lipids. *Plant Physiol.* 113:163-174
- Grossi, S.M. and Sullivan, C.W. (1985)  
Sea ice microbial communities. 5. The vertical zonation of diatoms in an Antarctic fast-ice community. *Journal of Phycology* 21:401-409
- Grossi, S.M., Kottmeier, S.T., and Sullivan, C.W. (1984)  
Seaice microbial communities. 3. Seasonal abundance of microalge and associated bacteria, McMurdo Sound, Antarctica. *Microbiol. Ecol.* 10:231-242
- Guerzoni, M.E., Ferruzzi, M., Sinigaglia, M., and Criscuoli, G.C. (1997)  
Increased cellular fatty acid desaturation as a possible key in thermotolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Can. J. Microbiol.* 43:569-576
- Hagen, W. (1988)  
Zur Bedeutung der Lipide im antarktischen Zooplankton. *Berichte zur Polarforschung* 49:1-129

- Hanke, G. (1995)  
Vorkommen, Verteilung und Umsatz biogener organischer  
Spurenstoffe: Sterole in antarktischen Gewässern. *Berichte zur  
Polarforschung* 165:165pp
- Harwood, J.L. and Jones, A.L. (1989)  
Lipidmetabolism in algae. *Advances in botanical research* 16:1-53
- Hartmann, M.-A. (1998)  
Plant sterols and the membrane environment. *Trends in plant science*  
3(5):170-175,.
- Hasle, G.R. and Syvertsen, E.E. (1996)  
Marine Diatoms. In: *Identifying marine diatoms and dinoflagellates*,  
edited by Tomas, C.R. Academic Press Inc, 5-385
- Havaux, M. (1998)  
Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends in plant  
science* 3(4):147-151
- Hazel, J.R. (1995)  
Thermal adaptation in biological membranes: Is homeoviscous  
adaptation the explanation? *Ann. Rev. Physiol.* 57:19-42
- Hazel, J.R. and Williams, E.E. (1990)  
The role of alterations in membrane lipid composition in enabling  
physiological adaptation of organisms to their physical environment.  
*Prog. Lipid Res.* 29:167-227
- Heldt, H.-W. (1996)  
Glycerolipide wirken als Membranbausteine und als Kohlenstoff-  
speicher. In: *Pflanzenbiochemie*, edited by Heldt, H.-  
W.Heidelberg:Spektrum, 355-391.
- Horner, R.A., Ackley, S.F., Dieckmann, G.S., Gulliksen, B., Hoshiai, T., Legendre,  
L., Melnikov, I.A., Reeburgh, W.S., Spindler, M., and Sullivan, C.W. (1992)  
Ecology of sea ice biota. 1. Habitat, terminology, and methodology.  
*Polar Biology* 12:417-427,.
- Horner, R.A., Syvertsen, E.E., Thomas, D.P., and Lange, C. (1988)  
Proposed terminology and reporting units for sea ice algal assemblages.  
*Polar Biol.* 8:249-253
- Holte, L.L., Perters, S.A., Sinnwell, T.M., and Gawrisch, K. (1995)  
<sup>2</sup>H nuclear magnetic resonance order parameter profiles suggest a  
change of molecular shape for phosphatidylcholines containing a  
polyunsaturated acyl chain. *Biophysical J.* 68:2396-2403
- Hübel, A. (1992)  
Die Hitzeschockantwort - Wie funktioniert das zelluläre Thermometer?  
*Biologie in unserer Zeit* 22:281-285

- Kanazawa, A., Yoshioka, M., and Teshima, S.-I. (1971)  
The occurrence of brassicasterol in the diatoms *Cyclotella nana* and *Nitzschia closterium*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 37:889-903
- Kang, S.-H. and Fryxell, G.A. (1992)  
*Fragilariopsis cylindrus* (Grunow) Krieger: The most abundant diatom in water column assemblages of Antarctic marginal ice-edge zones. *Polar Biol.* 12:609-627
- Kang, S.-H. and Fryxell, G.A. (1991)  
Most abundant diatom species in water column assemblages from five leg 119 drill sites in Prydz Bay, Antarctica: distributional patterns. In: *Proceedings of the Ocean drilling Program*, edited by Barron, J. and Larson, B. College Station TX, 645-666.
- Kang, S.-H. and Fryxell, G.A. (1993)  
Phytoplankton in the Weddell Sea, Antarctica: composition, abundance and distribution in water-column assemblages of the marginal ice-edge zone during austral autumn. *Marine Biology* 116:335-348
- Kates, M., Tremblay, P., Anderson, R., and Volcani, B.E. (1978)  
Identification of free and conjugated sterol in a non-photosynthetic diatom, *Nitzschia alba* as 24-methylene cholesterol. *Lipids* 13:34-41
- Kitano, M., Matsukawa, R., and Karube, I. (1997)  
Changes in eicosapentaenoic acid content of *Navicula saprophila*, *Rhodomonas salina* and *Nitzschia* sp. under mixotrophic conditions. *Journal of applied phycology* 9:559-563
- Klöser, H. (1990)  
Verbreitung von Mikroplankton-Organismen nordwestlich der Antarktischen Halbinsel unter dem Einfluß sich ändernder Umweltbedingungen im Herbst. *Berichte zur Polarforschung* 77:1-255
- Kojima, M., Suzuki, H., Ohnishi, M., and Ito, S. (1998)  
Effects of growth temperature on lipids of adzuki bean cells. *Phytochemistry* 47(8):1483-1487
- Krebs, W.N. (1983)  
Ecology of neritic marine diatoms, Arthur Harbor, Antarctica. *micropaleontology* :267-297
- Larsson, C., Widell, S., and Kjellbom, P. (1987)  
Preparation of high-purity plasma membranes. *Meth.Enzymol.* 148:558-569
- Lee, A.G. (1991)  
Lipids and their effects on membrane proteins: Evidence against a role for fluidity. *Prog. Lipid Res.* 30:323-348

- Lichtenthaler, H.K. (1998)  
Der 1-Desoxy-D-xylulose-Biosyntheseweg pflanzlicher Isoprenoide.  
*Biospektrum* 2:49-52
- Lin, D.S., Ilias, A.M., Conner, W.E., Caldwell, R.S., Corey, H.T., and Davies, G.D.J. (1983)  
Composition and biosynthesis of sterols in selected marine phytoplankton. *Lipids* 17:818-824
- Los, D.A. (1997)  
Fatty acid desaturases: Adaptive expression and principles of regulation. *Russian journal of plant physiology* 44(4):458-469
- Lurie, S., Laaminim, M., Lapsker, Z., and Fallik, E. (1997)  
Heat treatments to decrease chilling injury in tomato fruits. Effects on lipid, pericarp lesions and fungal growth. *Physiologia Plantarum* 100:297-302
- Lynch, D.V. and Thompson, G.A. (1982)  
Low temperature-induced alterations in the chloroplast and microsomal membranes of *Dunaliella salina*. *Plant Physiol.* 69:1369-1375
- Marlowe, I.T., Green, J.C., Neal, A.C., Brassell, S.C., Eglinton, G., and Course, P.A. (1984)  
Longchain (n-C37-C39) alkenones in the Prymnesiophyceae. Distribution of alkenones and other lipids and their taxonomic significance. *Br. Phycol. J.* 19:203-216
- Mathieu, C., Motta, C., Hartmann, M.-A., Thonat, C., and Boyer, N. (1995)  
Changes in plasma membrane fluidity of *Bryonia dioica* internodes during thigmomorphogenesis. *BBA* 1235:249-255
- Maxwell, J.R., Mackenzie, A.S., and Volkman, J.K. (1980)  
Configuration at C-24 in Steranes and Sterols. *Nature* 286:694-697
- McConville, M.J. (1985)  
Chemical composition and biochemistry of sea ice microalgae. In: *Sea ice biota*, edited by Horner, R.A. Boca Raton: CRC Press, 105-130.
- McConville, M.J. and Wetherbee, R. (1983)  
The bottom-ice microalgae community from annual ice in the inshore waters of East-Antarctica. *Journal of Phycology* 19:431-439.
- McElhaney, R.N. (1984)  
The structure and function of the *Acholeplasma laidlawii* plasma membrane. *BBA* 779:1-42
- Medlin, L.K. and Hasle, G.R. (1990)  
Some *Nitzschia* and related diatom species from fast ice samples in the Arctic and Antarctic. *Polar Biol.* 10:451-479

- Michelangeli, F., Henderson, I., East, J.M., and Lee, A.G. (1989)  
Interaction of sterols with phospholipid bilayers and the (Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>)-ATPase. *Biochem Soc Trans* 17:1095-1096
- Morris, R.J. and Carre, C. (1984)  
Observation on the biochemical composition of an unusual diatom bloom. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 64:721-722
- Mortensen, S.H., Borsheim, K.Y., Rainuzzo, J.R., and Knutsen, G. (1988)  
Fatty acid and elemental composition of the marine diatom *Chaetoceros gracilis* Schütt. Effects of silicate deprivation, temperature and light intensity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 122:173-185
- Mühlebach, A. (1999)  
Sterole im herbstlichen Weddelmeer (Antarktis) Großräumige Verteilung, Vorkommen und Verteilung. *Berichte zur Polarforschung* (in Press)
- Nichols, P.D., Palmisano, A.C., Rayner, M.S., Smith, G.A., and White, D.C. (1990)  
Occurrence of novel C30 sterols in Antarctic sea-ice diatom communities during a spring bloom. *Org. Geochem.* 15(5):503-508
- Nichols, P.D., Palmisano, A.C., Smith, G.A., and White, D.C. (1986)  
Lipids of the antarctic sea ice diatom *Nitzschia cylindrus*. *Phytochemistry* 25(7):1649-1653
- Nishimura, M. and Koyama, T. (1977)  
The occurrence of stanols in various living organisms and the behaviours of sterols in contemporary sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 41:379-385
- Nöthig, E.-M. (1988)  
Untersuchungen zur Ökologie des Phytoplanktons im südöstlichen Weddelmeer im Januar/Februar 1985. *Berichte zur Polarforschung* 53
- Nothnagel, J. (1995)  
Der Einfluß von Salinität und Lichtintensität auf die Osmolytkonzentration, die Zellvolumina und die Wachstumsraten der antarktischen Eisdiatomeen *Chaetoceros* sp. und *Navicula* sp. unter besonderer Berücksichtigung der Aminosäure Prolin. *Berichte zur Polarforschung* 161:1-114
- Opote, F.I. (1974a)  
Lipid and fatty-acid composition of diatoms. *Journal of experimental botany* 25(87):823-835
- Opote, F.I. (1974b)  
Physiological studies of the sulpholipids of diatoms. *Journal of experimental botany* 25(87):798-809
- Orcutt, D.M. and Patterson, G.W. (1975)  
Sterol, fatty acid and elemental composition of diatoms grown in chemically defined media. *Biochem. Physiol.* 50B:579-583

- Parrish, C.C. and Wangersky, P.J. (1990)  
Growth and lipid class composition of marine diatom, *Chaetoceros gracilis*, in laboratory and mass culture turbidostats. *Journal of plankton research* 12(5):1011-1021
- Patrick, R. and Reimer C.W. (1975)  
The Diatoms of the United States II, Part 1. Acad. Nat. Sci. Philad. ,  
Monogr. 13, 213pp.
- Quinn, P.J. and Williams, W.P. (1983)  
The structural role of lipids in photosynthetic membranes. *BBA*  
737:223-266
- Quinn, P.J. (1988)  
Effects of temperature on cell membranes. In: *Symposia of the society for experimental biology. Number XXXVII. Plants and temperature*,  
edited by Long, S.P. and Woodward, F.I. Cambridge: Society for  
experimental biology, ,p. 237-258
- Quinn, P.J. (1998)  
The role of lipids in stability of plant membranes, 13<sup>th</sup> International  
Symposium on Plant Lipids (in press)
- Rakowski, K.J., Behzadipour, M., Ratajczak, R., and Kluge, M. (1998)  
Effect of seed freezing and storage conditions on plasma membrane  
properties of norway spruce (*Picea abies* Karst.) seedlings. *Bot. Acta*  
111:236-240
- Rohmer, M., Kokke, W., Feical, W., and Djerassi, C. (1980)  
Isolation of two new C30 Steroles, (24 E)-24-N-Propylidenecholesterol  
and 24-N-Propylcholesterol, from a cultured Chrysophyte. *Steroids*  
35:219-231
- Round, F.E., Crawford, R.M., and Mann, D.G. (1990)  
*The Diatoms. Biology and Morphology of the Genera*  
Cambridge: Cambridge University Press
- Scharek, R. (1991)  
Die Entwicklung des Phytoplanktons im östlichen Weddelmeer  
(antarktisch) beim Übergang vom Spätwinter zum Frühjahr. *Berichte zur  
Polarforschung* 94:1-195
- Schomburg, M. and Kluge, M. (1994)  
Phenotypic adaptation to elevated temperatures of tonoplast fluidity in  
the CAM plant *Kalanchoe daigremontiana* is caused by membrane  
proteins. *Bot. Acta* 107:328-332
- Schwender, J., Zeidler, J., Gröner, R., Müller, C., Focke, M., Braun, S.,  
Lichtenthaler, F.W., and Lichtenthaler, H.K. (1997)  
Incorporation of 1-deoxy-D-xylulose into isoprene and phytol by higher  
plants and algae. *FEBS Letters* 414:129-134

- Selstam, E. (1990)  
Phase structure of lipids of the photosynthetic membrane. In: *Plant lipid biochemistry, structure and utilisation: the procedure of the 9th international symposium on plant lipids*, edited by Quinn, P. London: Portland Press Limited, 39-46.
- Sengbusch, P. (1998)  
Botanik online: [http://www.rrz.uni-hamburg.de/biologie/b\\_online](http://www.rrz.uni-hamburg.de/biologie/b_online)
- Sinensky, M. (1974)  
Homeoviscous adaption - a homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71:522-525
- Slotte, J.P. (1995)  
Effect of sterol structure on molecular interactions and lateral domain formation in monolayers containing dipalmitoyl phosphatidylcholine. *BBA* 1237:127-134
- Spindler, M. (1995)  
Eislebensgemeinschaften im Nord- und Südpolarmeer: ein Vergleich. In: *Biologie der Polarmeere - Erlebnisse und Ergebnisse*, edited by Hempel, G. and Hempel, I., Jena: Gustav Fischer, 78-85
- Spindler, M. and Dieckmann, G.S. (1991)  
Das Meereis als Lebensraum. In: *Biologie der Meere*, edited by Hempel, G. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag GmbH, p. 102-111
- Springer, M., Franke, H., and Pulz, O. (1994)  
Increase of the content of polyunsaturated fatty acids in *Porphyidium cruentum* by low-temperature stress and acetate supply. *J. Plant Physiol.* 143:534-537
- Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H., Schimper, A.F.W. (Gründungsautoren) Sitte, P., Ziegler, H., Ehrendorfer, F., and Bresinsky, A. (Autoren der 33. Auflage) (1991)  
*Lehrbuch der Botanik für Hochschulen*, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag
- Stryer, L. (1990)  
*Biochemie*, Heidelberg: Spektrum Verlag
- Sturbois-Balcerzak, B., Morré, D.M., Loreau, O., Noel, J.-P and Moreau, P (1995)  
Effects of low temperatures on the transfer of phospholipids to the plasma membrane and on the morphology of the ER-Golgi apparatus-plasma membrane pathway of leek cells. *Plant Physiol. Biochem.* 33(6):625-637

- Sullivan, C.W. (1978)  
Isolation and characterization of diatom membranes. In: *Handbook of phycollogical methods Vol. 3. Physiological and biochemical methods*, edited by Hellebust, J.A. and Craigie, J.S., Cambridge University Press, 39-55
- Surjus, A. and Durand, M. (1996)  
Lipid changes in soybean root membranes in response to salt treatment. *Journal of experimental botany* 47(294):17-23
- Tardent, P. (1993)  
*Meesesbiologie*, Stuttgart: Thieme Verlag
- Tardy, F. and Havaux, M. (1997)  
Thylakoid membrane fluidity and termosability during the operation of the xanthophyll cycle in higher-plant chloroplast. *BBA* 1330:179-193
- Thompson, P.A., Guo, M.-X., Harrison, P.J., and Whyte, J.N.C. (1992)  
Effects of variation in temperature. II. on the fatty acid composition of eight species of marine phytoplankton. *J. Phycol.* 28:488-497
- Thiele, O.W. (1979)  
*Lipide, Isoprenoide mit Steroiden*, Stuttgart: Thieme Verlag
- Tsitsa-Tzardis, E., Patterson, G.W., Wikfors, G.H., Gladu, P.K., and Harrison, D. (1993)  
Sterols of *Chaetoceros* and *Skeletonema*. *Lipids* 28(5):465-467,
- van den Hoek, C. (1993)  
*Algen*, Stuttgart: Thieme Verlag
- Venken, M., Geuns, J., Caubergs, R., and de Greef, J. (1990)  
Sterol composition of plasma membrane of senescing oat leaves. In: *Plant lipid biochemistry structure and nutilisation: The procedure of the 9th international meeting on plant lipids*. edited by Quinn, P. London: Portland Press Limited, 329-331
- Véron, B., Billard, C., Dauguet, J.-C., and Hartmann, M.-A. (1996)  
Sterol Composition of *Pheodactylum tricornutum* as influenced by growth temperature and light spectral quality. *Lipids* 31(9):
- Véron, B., Dauguet, J.-C., and Billard, C. (1996)  
Sterolic biomarkers in marine phytoplankton. 1. Free and conjugated of *Pavlova lutheri* (Haptophyta). *Eur. J. Phycol.* 31:211-215
- Véron, B., Dauguet, J.-C., and Billard, C. (1998)  
Sterolic biomarkers in marine phytoplankton. II. Free and conjugated sterols of seven species used in mariculture. *J. Phycol.* 34:273-279
- Volkman, J.K. (1986)  
A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Org. Geochem.* 9(2):83-99

- Volkman, J.K., Eglinton, G., and Corner, E.D.S. (1980)  
Sterols and fatty acids of the marine diatom *Biddulphia sinensis*.  
*Phytochemistry* 19:1809-1813
- Wanzek, M. (1994)  
Der Einfluß unterschiedlicher Temperaturen auf Wachstum,  
Photosynthese, Respiration und ausgewählte Inhaltsstoffe der  
antarktischen Diatomeen *Entomoneis kufferathii* MANGUIN und  
*Nitzschia lecointei* VAN HEURCK
- Watanabe, K. (1988)  
Sub-ice microalgal strands in the Antarctic coastal fast ice area near  
Syowa Station. *Japanese Journal of Phycology* 36:221-226
- Watanabe, K., Satoh, H., and Hoshiai, T. (1990)  
Seasonal variation in ice algal assemblages in the fast ice near Syowa  
station in 1983/84. In: *Antarctic ecosystems. Ecological change and  
conservation*, edited by Kerry, K.R. and Hempel, G. Berlin: Springer-  
Verlag, 136-142.
- Weissenberger, J. (1992)  
Die Lebensbedingungen in den Solekanälchen des antarktischen  
Meereises. *Berichte zur Polarforschung* 111: 1-124
- Welch, W.J. (1993)  
Stress-Proteine. *Spektrum der Wissenschaft* Juli 93:40-47
- Williams, E.E. (1998)  
Membrane Lipids: What membrane physical properties are conserved  
during physiochemically-induced membrane restructuring? *Amer Zool.*  
38:280-290
- Yeagle, P.L. (1985)  
Cholesterol and the cell membrane. *BBA* 822:267-287
- Yongmanitchai, W. and Ward, O.P. (1989)  
Omega-3-fatty acids: alternative source of eicosapentaenoic acid.  
*Process Biochem.* Aug.117-125,
- Yongmanitchai, W. and Ward, O.P. (1993)  
Molecular species of triacylglycerols from the freshwater diatom,  
*Phaeodactylum tricornutum*. *Phytochemistry* 32(5):1137-1139
- Yu, Z.-W., Tsvetkova, N.M., Tsonev, L.I., and Quinn, P.J. (1995)  
Phase behaviour of distearoylphosphatidylethanolamine in glycerol - a  
thermal and x-ray diffraction study. *BBA* 1237:135-142
- Zhukova, N.V. and Aizdaicher, N.A. (1995)  
Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae.  
*Phytochemistry* 39(2):351-356

## Anhang

### Abkürzungsverzeichnis

ACP	Acylcarrierprotein
ATP	Adenosintriphosphat
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
BSFTA	N,O-bis-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid
CAM	Crassulaceen-Säurestoffwechsel
CoA	Coenzym A
DMSP	Dimethylsulfoniumpropionat
DGDG	Digalaktosyldiacylglycerol
DOXP	Deoxy-D-xylulose-5-phosphat
ER	Endoplasmatisches Retikulum
GAP	D-glyceraldehyde-3-phosphate
GC	Gaschromatograph/Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatograph mit angeschlossenem Massenspektrometer
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HSP	Hitzeschockprotein bzw. Streßprotein (high stress protein)
HSF	Hitzeschockfaktor bzw. Streßfaktor
IPP	Isopentenylpyrophosphat
MGDG	Monogalaktosyldiacylglycerol
MUFA	einfach ungesättigte Fettsäure (monounsaturated fatty acid)
NAD	Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid
NADP	Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NMR	kernmagnetische Resonanz (nuclear magnetic resonance)
IPP	3-Isopentenylpyrophosphat
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PI	Phosphatidylinositol
PG	Phosphatidylglycerin
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäure (polyunsaturated fatty acid)
SAM	S-Adenosylmethionin
SAE	S-Adenosylethionin
SFA	gesättigte Fettsäure (saturated fatty acid)
SQDG	Sulphoquinovosyldiacylglycerol
TBARS	thiobarbitursäure-reaktive Substanz (thiobarbituric acid reactiv substance)

Tabelle 18: Gegenüberstellung der Systematiken von Diatomeen nach van den HOEK, ROUND et al. und HASLE und SYVERTSEN

<b>Abteilung:</b> Heterokontophyta	<b>Systematik nach VAN DEN HOEK (1993)</b>
<b>Klasse:</b> Bacillariophyceae	
<b>Ordnung:</b> Centrales, Pennales	

<b>Abteilung:</b> Bacillariophyta	<b>Systematik nach ROUND et al. (1990)</b>
<b>Klasse:</b> Coccinodiscophyceae (= Centrales)	
<b>Unterklasse:</b> Thalassiosirophycidae, Coccinodiscophycidae, Biddulphiophycidae, Lithodesmiophycidae, Corethrophyidae, Cymatosirophycidae, Rhizosoleniophycidae, Chaetocerotophycidae	
<b>Klasse:</b> Fragilariophyceae (= Pennales; ohne Raphe)	
<b>Unterklasse:</b> Fragilariophycidae	
<b>Klasse:</b> Bacillariophyceae (=Pennales; mit Raphe)	
<b>Unterklasse:</b> Eunotiophycidae, Bacillariophycidae	

<b>Abteilung:</b> Heterokontophyta	<b>Systematik nach HASLE und SYVERTSEN (1996)</b>
<b>Klasse:</b> Bacillariophyceae	
<b>Ordnung:</b> Biddulphiales (centrische Diatomeen)	
<b>Unterordnung:</b> Coccinodiscineae	
<b>Familie:</b> Thalassiosiraceae, Melosiraceae, Leptocylindraceae, Coccinodiscaceae, Stellarimaceae, Hemidiscaceae, Asterolapraceae, Heliopeltaceae	
<b>Unterordnung:</b> Rhizosoleniineae	
<b>Familie:</b> Rhizosoleniaceae	
<b>Unterordnung:</b> Biddulphiineae	
<b>Familie:</b> Hemiaulaceae, Cymatosiraceae, Chaetocerotaceae, Lithodesmiaceae, Eupodiscaceae	
<b>Ordnung:</b> Bacillariales (= pennale Diatomeen)	
<b>Unterordnung:</b> Fragilariineae (=pennale Diatomeen ohne Raphe)	
<b>Familie:</b> Fragilariaceae, Rhaphoneidaceae, Toxariaceae, Thalassionemataceae	
<b>Unterordnung:</b> Bacillariineae (=pennale Diatomeen mit Raphe)	
<b>Familie:</b> Achnantheaceae, Phaeodactylaceae, Naviculaceae, Bacillariaceae	

Tabelle 19: Diplom- und Doktorarbeiten in der Meeresbotanik der Universität Bremen zur Ökophysiologie von *Entomoneis kufferathii*. Die Alge wurde 1986 im Rahmen des „Winter Weddell Sea Project“ (WVSP) aus Packeisproben isoliert, die durch Wissenschaftler des Forschungsschiffes „Polarstern“ während der Antarktisexpedition ANT V2/3 genommen wurden.

AutorIn	Titel	
Baumgarten Mabel	Untersuchungen zur Photoinhibition an der antarktischen Eisdiatomee <i>Entomoneis kufferathii</i> .	Diplomarbeit
Gilbert Dr., Matthias	Photosynthese mariner Algen: Chloroplastenisolation aus <i>Emiliania</i> und <i>Entomoneis</i> .	Post-poc
Gleitz, Markus	Vergleichende ökophysiologische Untersuchungen über den Kohlenstoff-Metabolismus in Freilandpopulationen antarktischer Eisalgen (Photosynthese und Heterotrophie).	Diplomarbeit
Grabowski, Vanessa	Temperatur-, licht- und wachstumsbedingte Veränderungen im Fettsäuregehalt und in der Fettsäurezusammensetzung der antarktischen Eisdiatomeen <i>Chaetoceros</i> sp., <i>Entomoneis kufferathii</i> und <i>Nitzschia lecointei</i>	Diplomarbeit
Hecht, Susanne	Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung bei antarktischen Eisalgen in Abhängigkeit von der Temperatur	Diplomarbeit
Heinemann, Ute	Einfluß von Temperatur, Bestrahlungsstärke und Wasserstoffperoxid aus den Gesamtgehalt und Redoxstatus von Ascorbat und Glutathion in der antarktischen Eisalge <i>Entomoneis kufferathii</i> MANGUIN (Barclariophyceae)	Diplomarbeit
Jakobi, Ruth	Feinstrukturuntersuchungen an Eisdiatomeen	Diplomarbeit
Schriek, Raimund	Enzymatischer Oxidationsschutz an antarktischen Eisdiatomeen, insbesondere <i>E. kufferathii</i> Manguin: Einfluß von Licht und Temperatur	Dissertation
Tepperwien, Roman	Etablierung und Anwendung von Dichtegradientenzentrifugation und Polymer-2-Phasen-System für die Isolierung und den elektronenmikroskopischen Nachweis subzellulärer Membranen bei der Eisalge <i>Entomoneis kufferathii</i> MANGUIN	Diplomarbeit
Thiel, Cornelia	DMSF Gehalt und Artenzusammensetzung von Eisalgenpopulationen (EPOS 1): Eisgesellschaften.	Diplomarbeit
Wanzek, Michael	Der Einfluß unterschiedlicher Temperaturen auf Wachstum, Photosynthese, Respiration und ausgewählte Inhaltsstoffe der antarktischen Diatomeen <i>Entomoneis kufferathii</i> MANGUIN und <i>Nitzschia lecointei</i> VAN HEURCK	Dissertation Berichte zur Polarforschung

Tabelle 20: Diplom- und Doktorarbeiten der Universität Bremen – Abteilung Meeresbotanik zur Ökophysiologie von *Nitzschia lecoincei*. *Nitzschia lecoincei* stammt aus Eisbohrkernen, die 1988 in der Weddell See während der Antarktisexpedition ANT VII/4 (EPOS leg 3) gezogen wurden.

AutorIn	Titel	
Gleitz, Markus	Vergleichende ökophysiologische Untersuchungen über den Kohlenstoff-Metabolismus in Freilandpopulationen antarktischer Eisalgen (Photosynthese und Heterotrophie).	Diplomarbeit
Grabowski, Vanessa	Temperatur-, licht- und wachstumsbedingte Veränderungen im Fettsäuregehalt und in der Fettsäurezusammensetzung der antarktischen Eisdiatomeen <i>Chaetoceros</i> sp., <i>Entomoneis kufferathii</i> und <i>Nitzschia lecoincei</i>	Diplomarbeit
Hecht, Susanne	Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung bei antarktischen Eisalgen in Abhängigkeit von der Temperatur	Diplomarbeit
Janssen, Mareke	Wasserstoffperoxid, Entstehung und seine biologische Wirkung bei Eisalgen	Diplomarbeit
Meyerdierks Doris	Zur Ökophysiologie des Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP) - Gehaltes temperierter und polarer Phytoplanktongemeinschaften im Vergleich mit Laborkulturen der Coccolithophoride <i>Emiliania huxleyi</i> und der antarktischen Diatomee <i>Nitzschia lecoincei</i> .	Dissertation Berichte zur Polarforschung
Plettner, Ina	Der Einfluß von Stickstoffmangel auf die Eisdiatomee <i>Nitzschia lecoincei</i> bei verschiedenen Salinitäten: Freie Aminosäuren und Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP).	Diplomarbeit
Rott, Barbara	Untersuchungen zur Schwachlichtadaptation der antarktischen Eisalge <i>Nitzschia lecoincei</i> (van Heurck) mit Berücksichtigung des Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP) - Gehaltes.	Diplomarbeit
Sasse, Susanne	Ökophysiologische Untersuchungen an der antarktischen Diatomee <i>Nitzschia lecoincei</i> (van Heurck): Photosynthese und DMSP - Gehalt in Abhängigkeit von Temperatur und Salinität.	Diplomarbeit
Thiel, Cornelia	DMSP Gehalt und Artenzusammensetzung von Eisalgenpopulationen (EPOS 1): Eisgesellschaften.	Diplomarbeit
Wanzek, Michael	Der Einfluß unterschiedlicher Temperaturen auf Wachstum, Photosynthese, Respiration und ausgewählte Inhaltsstoffe der antarktischen Diatomeen <i>Entomoneis kufferathii</i> MANGUIN und <i>Nitzschia lecoincei</i> VAN HEURCK	Dissertation Berichte zur Polarforschung

Tabelle 21: Diplom- und Doktorarbeiten der Meeresbotanik, Universität Bremen zur Ökophysiologie von *Chaetoceros* sp.. Auch diese Alge wurde 1986 im Rahmen des „Winter Weddell Sea Project“ (WWSP) aus Packeisproben isoliert (Antarktisexpedition ANT V2/3).

AutorIn	Titel	
Gleitz, Markus	Vergleichende ökophysiologische Untersuchungen über den Kohlenstoff-Metabolismus in Freilandpopulationen antarktischer Eisalgen (Photosynthese und Heterotrophie).	Diplomarbeit
Grabowski, Vanessa	Temperatur-, licht- und wachstumsbedingte Veränderungen im Fettsäuregehalt und in der Fettsäurezusammensetzung der antarktischen Eisdiatomeen <i>Chaetoceros</i> sp., <i>Entomoneis kufferathii</i> und <i>Nitzschia lecointei</i>	Diplomarbeit
Hecht, Susanne	Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung bei antarktischen Eisalgen in Abhängigkeit von der Temperatur	Diplomarbeit
Nothnagel, Jürgen	Ökophysiologische Untersuchungen an Eisalgen der Gattung <i>Chaetoceros</i> : Ionenhaushalt und organische Osmolyte.	Diplomarbeit
Nothnagel, Jürgen	Der Einfluß von Salinität und Lichtintensität auf die Osmolytenkonzentrationen, die Zellvolumina und die Wachstumsraten der antarktischen Eisdiatomeen <i>Chaetoceros</i> sp. und <i>Navicula</i> sp. Unter besonderer Berücksichtigung der Aminosäure Prolin	Dissertation Berichte zur Polarforschung
Springer, Karin	Der Einfluß von Salinität auf die antarktische Eisdiatomee <i>Chaetoceros</i> sp.: Gehalt an organischen Säuren und Aminosäuren, insbesondere Glutamat.	Diplomarbeit
Thiel, Cornelia	DMSP Gehalt und Artenzusammensetzung von Eisalgenpopulationen (EPOS 1): Eisgesellschaften.	Diplomarbeit
Wanzek, Michael	Ökophysiologische Untersuchungen an Eisalgen der Gattung <i>Chaetoceros</i> : Photosynthese und Atmung.	Diplomarbeit

Tabelle 22: Zusammensetzung der f/2  $\beta$ -Nährlösung (GUILLARD, 1975)**Hauptnährstoffe**

Zusammensetzung	mg/L Seewasser	$\mu\text{M/L}$
$\text{NaNO}_3$	75	88
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5	36,3
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$	30	107

**Spurenstoffe**

Zusammensetzung	mg/L Seewasser	$\mu\text{M/L}$
$\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_6 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	3	8,9
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	16,8	80,1
$\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,01	0,04
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,022	0,08
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,01	0,05
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,18	0,9
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,006	0,03

**Vitamine**

Zusammensetzung	$\mu\text{g/L}$ Seewasser
Thiamin HCl	100
Biotin	0,5
Vitamin B12 (Cyanocobalamin)	0,5

Tabelle 23: Zusammensetzung des Protoplastenisolationsmediums (SULLIVAN 1978)

**Protoplastenisolationsmedium:**

Zusammensetzung	g/L Seewasser
Bacto-tryptone (Difco)	1
Bacto-yeastextract (Difco)	0,5
NaCl	30

Mit NaOH oder HCl auf pH 7.8 einstellen

Tabelle 24: Zusammensetzung des Aufschlußpuffers (...)

**Aufschlußpuffer**

Zusammensetzung	g/L Seewasser	mM/L
NaF (Natriumfluorid)		10
EDTA		5
Saccharose		250
Natriumascorbat		5
Hepes		50

Mit NaOH oder HCl auf pH 7.8 einstellen

Tabelle 25: Zusammensetzung des Fettsäurestandards

Wissenschaftlicher Name	Abkürzung
Tetradecansäure	14:0
Hexadecansäure	16:0
Myristylalkohol	14:0 A
<i>cis</i> -9-Hexadecensäure	16:1(n-7)
<i>cis</i> -11-Hexadecensäure	16:1(n-5)
<i>all-cis</i> -7,10-Hexadecadiensäure	16:2(n-6)
<i>all-cis</i> -7,10,13-Hexadecatriensäure	16:3(n-3)
Cetylalkohol	16:0 A
<i>all-cis</i> -6,9,12,15-Hexadecatetraensäure	16:4(n-1)
Palmitoylalkohol	16:1(n-7) A
Octadecansäure	18:0
<i>cis</i> -9-Octadecensäure	18:1(n-9)
<i>cis</i> -11-Octadecensäure	18:1(n-7)
<i>all-cis</i> -9,12-Octadecadiensäure	18:2(n-6)
Nonadecansäure	19:0
<i>all-cis</i> -9,12,15-Octadecatriensäure	18:3(n-3)
<i>all-cis</i> -6,9,12,15-Octadecatetraensäure	18:4(n-3)
Eicosansäure	20:0
<i>cis</i> -11-Eicosensäure	20:1(n-9)
<i>cis</i> -13-Eicosensäure	20:1(n-7)
<i>all-cis</i> -5,8,11,14-Eicosatetraensäure	20:4(n-6)
<i>all-cis</i> -8,11,14,17-Eicosatetraensäure	20:4(n-3)
Arachylalkohol	20:1(n-9) A
<i>all-cis</i> -5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure	20:5(n-3)
<i>cis</i> -11-Docosensäure	22:1(n-11)
<i>cis</i> -13-Docosensäure	22:1(n-9)
Eurucylalkohol	22:1(n-9) A
<i>all-cis</i> -7,10,13,16,19-Docosahexaensäure	22:5(n-3)
<i>all-cis</i> -4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure	22:6(n-3)



## Danksagung

In der Wissenschaft liegen zwei bisher nicht erklärte Phänomene vor, das der Fragen und das der Zeit. Bei dem Versuch eine Frage zu beantworten, findet man selten eindeutige Antworten, aber auf jeden Fall eine Menge neuer Fragen. Das Phänomen der Zeit stellt sich folgendermaßen dar: Stunden (zum Beispiel die der Lipidanalysen) dehnen sich anscheinend unendlich in Raum und Zeit aus, aber drei Jahre vergehen wie im Flug.

Ich möchte allen danken die mit mir diese Phänomene durchlebten.

Herr Prof. Gunter O. Kirst ließ mir alle Freiheiten, um auf die Frage der Temperaturadaptation bei Eisdiatomeen eine Antwort zu suchen und viele Fragen zu finden. Trotz seiner vielfältigen anderen Aufgaben war er immer zu spontanen Diskussionen bereit und trug durch viele Anregungen zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Herr PD. Gerhard Kattner vom Alfred-Wegener-Institut danke ich für die Möglichkeit die Fettsäure- und Sterolanalysen in seinem Labor durchzuführen und für die Übernahme des Korreferates.

Diese Arbeit wäre in dieser Form ohne die Unterstützung einiger Kolleginnen und Kollegen nicht entstanden.

Eine Vielzahl der ökophysiologischen Untersuchungen führte ich mit Vanessa Grabowski durch. Sie stellte mir alle Daten aus ihre Diplomarbeit zum Thema: *Temperatur-, licht- und wachstumsbedingte Veränderungen im Fettsäuregehalt und in der Fettsäurezusammensetzung der antarktischen Eisdiatomeen Chaetoceros sp., Entomoneis kufferathii und Nitzschia lecointei* zur Verfügung. Ihre fachliche Kompetenz, ihr fröhliches Wesen und ihr Engagement führten zu einer sehr guten Zusammenarbeit.

Anneke Mühlebach, aus der Arbeitsgruppe Weber am AWI, danke ich für die qualitative Bestimmung der Sterole mittels GC-MS.

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Kattner für die freundliche Aufnahme, für Material und Gerät sowie für die große Hilfsbereitschaft bei der Durchführung der Fettsäure- und Sterolmessungen. Carola Albers hat so manches mal dem GC den letzten Schuß Hexan und mir einen Keks spendiert.

Antje Gutowski, Maren Kiesewetter, Elke Zeise und Claus Mäulen danke ich für die kritische Durchsicht meiner Arbeit.

Bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe „Meeresbotanik“, auch wenn sie hier nicht namentlich genannt werden, möchte ich mich für das Interesse an dieser Arbeit und die kritischen Diskussionen, vor allem aber auch für das gute Arbeitsklima herzlich bedanken.

## **Folgende Hefte der Reihe „Berichte zur Polarforschung“ sind bisher erschienen:**

- \* **Sonderheft Nr. 1/1981** – „Die Antarktis und ihr Lebensraum“  
Eine Einführung für Besucher – Herausgegeben im Auftrag von SCAR
- Heft Nr. 1/1982** – „Die Filchner-Schelfeis-Expedition 1980/81“  
zusammengestellt von Heinz Köhnen
- \* **Heft-Nr. 2/1982** – „Deutsche Antarktis-Expedition 1980/81 mit FS ‚Meteor‘“  
First International BIOMASS Experiment (FIBEX) – Liste der Zooplankton- und Mikronektonnetzfüge  
zusammengestellt von Norbert Klages.
- Heft Nr. 3/1982** – „Digitale und analoge Krill-Echolot-Rohdatenerfassung an Bord des Forschungsschiffes ‚Meteor‘“ (im Rahmen von FIBEX 1980/81, Fahrtabschnitt ANT III), von Bodo Morgenstern
- Heft Nr. 4/1982** – „Filchner-Schelfeis-Expedition 1980/81“  
Liste der Planktonfänge und Lichtstärkemessungen  
zusammengestellt von Gerd Hubold und H. Eberhard Drescher
- \* **Heft Nr. 5/1982** – „Joint Biological Expedition on RRS ‚John Biscoe‘, February 1982“  
by G. Hempel and R. B. Heywood
- \* **Heft Nr. 6/1982** – „Antarktis-Expedition 1981/82 (Unternehmen ‚Eiswarte‘)“  
zusammengestellt von Gode Gravenhorst
- Heft Nr. 7/1982** – „Marin-Biologisches Begleitprogramm zur Standorterkundung 1979/80 mit MS ‚Polar-  
sirkel‘ (Pre-Site Survey)“ – Stationslisten der Mikronekton- und Zooplanktonfänge sowie der Bodenfischerei  
zusammengestellt von R. Schneppenheim
- Heft Nr. 8/1983** – „The Post-Fibex Data Interpretation Workshop“  
by D. L. Cram and J.-C. Freytag with the collaboration of J. W. Schmidt, M. Mall, R. Kresse, T. Schwinghammer
- \* **Heft Nr. 9/1983** – „Distribution of some groups of zooplankton in the inner Weddell Sea in summer 1979/80“  
by I. Hempel, G. Hubold, B. Kaczmaruk, R. Keller, R. Weigmann-Haass
- Heft Nr. 10/1983** – „Fluor im antarktischen Ökosystem“ – DFG-Symposium November 1982  
zusammengestellt von Dieter Adelung
- Heft Nr. 11/1983** – „Joint Biological Expedition on RRS ‚John Biscoe‘, February 1982 (II)“  
Data of micronekton and zooplankton hauls, by Uwe Piatkowski
- Heft Nr. 12/1983** – „Das biologische Programm der ANTARKTIS-I-Expedition 1983 mit FS ‚Polarstern‘“  
Stationslisten der Plankton-, Benthos- und Grundsleppnetzfüge und Liste der Probennahme an Robben  
und Vögeln, von H. E. Drescher, G. Hubold, U. Piatkowski, J. Plötz und J. Voß
- \* **Heft Nr. 13/1983** – „Die Antarktis-Expedition von MS ‚Polarbjörn‘ 1982/83“ (Sommerkampagne zur  
Atka-Bucht und zu den Kraul-Bergen), zusammengestellt von Heinz Köhnen
- \* **Sonderheft Nr. 2/1983** – „Die erste Antarktis-Expedition von FS ‚Polarstern‘ (Kapstadt, 20. Januar 1983 –  
Rio de Janeiro, 25. März 1983)“, Bericht des Fahrtleiters Prof. Dr. Gotthilf Hempel
- Sonderheft Nr. 3/1983** – „Sicherheit und Überleben bei Polarexpeditionen“  
zusammengestellt von Heinz Köhnen
- \* **Heft Nr. 14/1983** – „Die erste Antarktis-Expedition (ANTARKTIS I) von FS ‚Polarstern‘ 1982/83“  
herausgegeben von Gotthilf Hempel
- Sonderheft Nr. 4/1983** – „On the Biology of Krill *Euphausia superba*“ – Proceedings of the Seminar  
and Report of the Krill Ecology Group, Bremerhaven 12.–16. May 1983, edited by S. B. Schnack
- Heft Nr. 15/1983** – „German Antarctic Expedition 1980/81 with FRV ‚Walther Herwig‘ and RV ‚Meteor‘“ –  
First International BIOMASS Experiment (FIBEX) – Data of micronekton and zooplankton hauls  
by Uwe Piatkowski and Norbert Klages
- Sonderheft Nr. 5/1984** – „The observatories of the Georg von Neumayer Station“, by Ernst Augstein
- Heft Nr. 16/1984** – „FIBEX cruise zooplankton data“  
by U. Piatkowski, I. Hempel and S. Rakusa-Suszczewski
- Heft Nr. 17/1984** – „Fahrtbericht (cruise report) der ‚Polarstern‘-Reise ARKTIS I, 1983“  
von E. Augstein, G. Hempel und J. Thiede
- Heft Nr. 18/1984** – „Die Expedition ANTARKTIS II mit FS ‚Polarstern‘ 1983/84“,  
Bericht von den Fahrtabschnitten 1, 2 und 3, herausgegeben von D. Fütterer
- Heft Nr. 19/1984** – „Die Expedition ANTARKTIS II mit FS ‚Polarstern‘ 1983/84“,  
Bericht vom Fahrtabschnitt 4, Punta Arenas–Kapstadt (Ant-II/4), herausgegeben von H. Köhnen
- Heft Nr. 20/1984** – „Die Expedition ARKTIS II des FS ‚Polarstern‘ 1984, mit Beiträgen des FS ‚Valdivia‘  
und des Forschungsflugzeuges ‚Falcon 20‘ zum Marginal Ice Zone Experiment 1984 (MIZEX)“  
von E. Augstein, G. Hempel, J. Schwarz, J. Thiede und W. Weigel
- Heft Nr. 21/1985** – „Euphausiid larvae in plankton samples from the vicinity of the Antarctic Peninsula,  
February 1982“ by Sigrid Marschall and Elke Mizdalski
- Heft Nr. 22/1985** – „Maps of the geographical distribution of macrozooplankton in the Atlantic sector of  
the Southern Ocean“ by Uwe Piatkowski
- Heft Nr. 23/1985** – „Untersuchungen zur Funktionsmorphologie und Nahrungsaufnahme der Larven  
des Antarktischen Krills *Euphausia superba* Dana“ von Hans-Peter Marschall

- Heft Nr. 24/1985** – „Untersuchungen zum Periglazial auf der König-Georg-Insel Südshetlandinseln/ Antarktika. Deutsche physiogeographische Forschungen in der Antarktis. – Bericht über die Kampagne 1983/84“ von Dietrich Barsch, Wolf-Dieter Blümel, Wolfgang Flügel, Roland Mäusbacher, Gerhard Stablein, Wolfgang Zick
- \* **Heft-Nr. 25/1985** – „Die Expedition ANTARKTIS III mit FS ‚Polarstern‘ 1984/1985“ herausgegeben von Gotthilf Hempel.
- \* **Heft-Nr. 26/1985** – "The Southern Ocean"; A survey of oceanographic and marine meteorological research work by Hellmer et al.
- Heft Nr. 27/1986** – „Spatpleistozäne Sedimentationsprozesse am antarktischen Kontinentalhang vor Kapp Norvegia, östliche Weddell-See“ von Hannes Grobe
- Heft Nr. 28/1986** – „Die Expedition ARKTIS III mit ‚Polarstern‘ 1985“ mit Beiträgen der Fahrtteilnehmer, herausgegeben von Rainer Gersonde
- \* **Heft Nr. 29/1986** – „5 Jahre Schwerpunktprogramm ‚Antarktisforschung‘ der Deutschen Forschungsgemeinschaft.“ Rückblick und Ausblick. Zusammengestellt von Gotthilf Hempel, Sprecher des Schwerpunktprogramms
- Heft Nr. 30/1986** – "The Meteorological Data of the Georg-von-Neumayer-Station for 1981 and 1982" by Marianne Gube and Friedrich Obleitner
- Heft Nr. 31/1986** – „Zur Biologie der Jugendstadien der Notothenioidei (Pisces) an der Antarktischen Halbinsel“ von A. Kellermann
- Heft Nr. 32/1986** – „Die Expedition ANTARKTIS IV mit FS ‚Polarstern‘ 1985/86“ mit Beiträgen der Fahrtteilnehmer, herausgegeben von Dieter Fütterer
- Heft Nr. 33/1987** – „Die Expedition ANTARKTIS-IV mit FS ‚Polarstern‘ 1985/86 – Bericht zu den Fahrtabschnitten ANT-IV/3–4“ von Dieter Karl Fütterer
- Heft Nr. 34/1987** – „Zoogeographische Untersuchungen und Gemeinschaftsanalysen an antarktischem Makroplankton“ von U. Piatkowski
- Heft Nr. 35/1987** – „Zur Verbreitung des Meso- und Makrozooplanktons in Oberflächenwasser der Weddell See (Antarktis)“ von E. Boysen-Ennen
- Heft Nr. 36/1987** – „Zur Nahrungs- und Bewegungsphysiologie von *Salpa thompsoni* und *Salpa fusiformis*“ von M. Reinke
- Heft Nr. 37/1987** – "The Eastern Weddell Sea Drifting Buoy Data Set of the Winter Weddell Sea Project (WWSP)" 1986 by Heinrich Hoeber und Marianne Gube-Lehnhardt
- Heft Nr. 38/1987** – "The Meteorological Data of the Georg von Neumayer Station for 1983 and 1984" by M. Gube-Lehnhardt
- Heft Nr. 39/1987** – „Die Winter-Expedition mit FS ‚Polarstern‘ in die Antarktis (ANT V/1–3)“ herausgegeben von Sigrid Schnack-Schiel
- Heft Nr. 40/1987** – "Weather and Synoptic Situation during Winter Weddell Sea Project 1986 (ANT V/2) July 16–September 10, 1986" by Werner Rabe
- Heft Nr. 41/1988** – „Zur Verbreitung und Ökologie der Seegurken im Weddellmeer (Antarktis)“ von Julian Gutt
- Heft Nr. 42/1988** – "The zooplankton community in the deep bathyal and abyssal zones of the eastern North Atlantic" by Werner Beckmann
- Heft Nr. 43/1988** – "Scientific cruise report of Arctic Expedition ARK IV/3" Wissenschaftlicher Fahrtbericht der Arktis-Expedition ARK IV/3, compiled by Jörn Thiede
- Heft Nr. 44/1988** – "Data Report for FV 'Polarstern' Cruise ARK IV/1, 1987 to the Arctic and Polar Fronts" by Hans-Jürgen Hirche
- Heft Nr. 45/1988** – „Zoogeographie und Gemeinschaftsanalyse des Makrozoobenthos des Weddellmeeres (Antarktis)“ von Joachim Voß
- Heft Nr. 46/1988** – "Meteorological and Oceanographic Data of the Winter-Weddell-Sea Project 1986 (ANT V/3)" by Eberhard Fahrbach
- Heft Nr. 47/1988** – „Verteilung und Herkunft glazial-mariner Gerölle am Antarktischen Kontinentalrand des östlichen Weddellmeeres“ von Wolfgang Oskierski
- Heft Nr. 48/1988** – „Variationen des Erdmagnetfeldes an der GvN-Station“ von Arnold Brodscholl
- \* **Heft Nr. 49/1988** – „Zur Bedeutung der Lipide im antarktischen Zooplankton“ von Wilhelm Hagen
- Heft Nr. 50/1988** – „Die gezeitenbedingte Dynamik des Ekström-Schelfeises, Antarktis“ von Wolfgang Kobarg
- Heft Nr. 51/1988** – „Ökomorphologie nototheniider Fische aus dem Weddellmeer, Antarktis“ von Werner Ekau
- Heft Nr. 52/1988** – „Zusammensetzung der Bodenfauna in der westlichen Fram-Straße“ von Dieter Piepenburg
- \* **Heft Nr. 53/1988** – „Untersuchungen zur Ökologie des Phytoplanktons im südöstlichen Weddellmeer (Antarktis) im Jan./Febr. 1985“ von Eva-Maria Nöthig
- Heft Nr. 54/1988** – „Die Fischfauna des östlichen und südlichen Weddellmeeres: geographische Verbreitung, Nahrung und trophische Stellung der Fischarten“ von Wiebke Schwarzbach
- Heft Nr. 55/1988** – "Weight and length data of zooplankton in the Weddell Sea in austral spring 1986 (Ant V/3)" by Elke Mizdalski
- Heft Nr. 56/1989** – "Scientific cruise report of Arctic expeditions ARK IV/1, 2 & 3" by G. Krause, J. Meincke und J. Thiede

- Heft Nr. 57/1989** – „Die Expedition ANTARKTIS V mit FS ‚Polarstern‘ 1986/87“  
Bericht von den Fahrtabschnitten ANT V/4–5 von H. Miller und H. Oerter
- \* **Heft Nr. 58/1989** – „Die Expedition ANTARKTIS VI mit FS ‚Polarstern‘ 1987/88“  
von D. K. Fütterer
- Heft Nr. 59/1989** – „Die Expedition ARKTIS V/1a, 1b und 2 mit FS ‚Polarstern‘ 1988“  
von M. Spindler
- Heft Nr. 60/1989** – „Ein zweidimensionales Modell zur thermohalinen Zirkulation unter dem Schelfeis“  
von H. H. Hellmer
- Heft Nr. 61/1989** – „Die Vulkanite im westlichen und mittleren Neuschwabenland, Vestfjella und Ahlmannryggen, Antarktika“ von M. Peters
- \* **Heft-Nr. 62/1989** – “The Expedition ANTARKTIS VII/1 and 2 (EPOS I) of RV ‘Polarstern’ in 1988/89”, by I. Hempel
- Heft Nr. 63/1989** – „Die Eisalgenflora des Weddellmeeres (Antarktis): Artenzusammensetzung und Biomasse sowie Ökophysiologie ausgewählter Arten“ von Annette Bartsch
- Heft Nr. 64/1989** – “Meteorological Data of the G.-v.-Neumayer-Station (Antarctica)” by L. Helmes
- Heft Nr. 65/1989** – „Expedition Antarktis VII/3 in 1988/89“ by I. Hempel, P. H. Schalk, V. Smetacek
- Heft Nr. 66/1989** – „Geomorphologisch-glaziologische Detailkartierung des arid-hochpolaren Borgmassivet, Neuschwabenland, Antarktika“ von Karsten Brunk
- Heft-Nr. 67/1990** – „Identification key and catalogue of larval Antarctic fishes“, edited by Adolf Kellermann
- Heft-Nr. 68/1990** – „The Expedition Antarktis VII/4 (Epos leg 3) and VII/5 of RV ‘Polarstern’ in 1989“, edited by W. Arntz, W. Ernst, I. Hempel
- Heft-Nr. 69/1990** – „Abhängigkeiten elastischer und rheologischer Eigenschaften des Meereises vom Eisgefüge“, von Harald Hellmann
- Heft-Nr. 70/1990** – „Die beschalteten benthischen Mollusken (Gastropoda und Bivalvia) des Weddellmeeres, Antarktis“, von Stefan Hain
- Heft-Nr. 71/1990** – „Sedimentologie und Paläomagnetik an Sedimenten der Maudkuppe (Nordöstliches Weddellmeer)“, von Dieter Cordes.
- Heft-Nr. 72/1990** – „Distribution and abundance of planktonic copepods (Crustacea) in the Weddell Sea in summer 1980/81“, by F. Kurbjeweit and S. Ali-Khan
- Heft-Nr. 73/1990** – „Zur Frühdiagenese von organischem Kohlenstoff und Opal in Sedimenten des südlichen und östlichen Weddellmeeres“, von M. Schlüter
- Heft-Nr. 74/1990** – „Expeditionen ANTARKTIS-VIII/3 und VIII/4 mit FS ‚Polarstern‘ 1989“  
von Rainer Gersonde und Gotthilf Hempel
- Heft-Nr. 75/1991** – „Quartäre Sedimentationsprozesse am Kontinentalhang des Süd-Orkey-Plateaus im nordwestlichen Weddellmeer (Antarktis)“, von Sigrun Grünig
- Heft-Nr. 76/1990** – „Ergebnisse der faunistischen Arbeiten im Benthal von King George Island (Südshetlandinseln, Antarktis)“, von Martin Rauschert
- Heft-Nr. 77/1990** – „Verteilung von Mikroplankton-Organismen nordwestlich der Antarktischen Halbinsel unter dem Einfluß sich ändernder Umweltbedingungen im Herbst“, von Heinz Klöser
- Heft-Nr. 78/1991** – „Hochauflösende Magnetostratigraphie spätquartärer Sedimente arktischer Meeresgebiete“, von Norbert R. Nowaczyk
- Heft-Nr. 79/1991** – „Ökophysiologische Untersuchungen zur Salinitäts- und Temperaturtoleranz antarktischer Grünalgen unter besonderer Berücksichtigung des  $\beta$ -Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP) - Stoffwechsels“, von Ulf Karsten
- Heft-Nr. 80/1991** – „Die Expedition ARKTIS VII/1 mit FS ‚Polarstern‘ 1990“, herausgegeben von Jörn Thiede und Gotthilf Hempel
- Heft-Nr. 81/1991** – „Paläoglaziologie und Paläozeanographie im Spätquartär am Kontinentalrand des südlichen Weddellmeeres, Antarktis“, von Martin Melles
- Heft-Nr. 82/1991** – „Quantifizierung von Meeresseigenschaften: Automatische Bildanalyse von Dünnschnitten und Parametrisierung von Chlorophyll- und Salzgehaltsverteilungen“, von Hajo Eicken
- Heft-Nr. 83/1991** – „Das Fließen von Schelfeisen - numerische Simulationen mit der Methode der finiten Differenzen“, von Jürgen Determann
- Heft-Nr. 84/1991** – „Die Expedition ANTARKTIS-VIII/1-2, 1989 mit der Winter Weddell Gyre Study der Forschungsschiffe ‚Polarstern‘ und ‚Akademik Fedorov‘“, von Ernst Augstein, Nikolai Bagriantsev und Hans Werner Schenke
- Heft-Nr. 85/1991** – „Zur Entstehung von Unterwassereis und das Wachstum und die Energiebilanz des Meereises in der Atka Bucht, Antarktis“, von Josef Kipfstuhl
- Heft-Nr. 86/1991** – „Die Expedition ANTARKTIS-VIII mit ‚FS Polarstern‘ 1989/90. Bericht vom Fahrtabschnitt ANT-VIII / 5“, von Heinz Miller und Hans Oerter
- Heft-Nr. 87/1991** – “Scientific cruise reports of Arctic expeditions ARK VI / 1-4 of RV ‘Polarstern’ in 1989“, edited by G. Krause, J. Meincke & H. J. Schwarz
- Heft-Nr. 88/1991** – „Zur Lebensgeschichte dominanter Copepodenarten (*Calanus finmarchicus*, *C. glacialis*, *C. hyperboreus*, *Metridia longa*) in der Framstraße“, von Sabine Diel

- Heft-Nr. 89/1991** – „Detaillierte seismische Untersuchungen am östlichen Kontinentalrand des Weddell-Meeress vor Kapp Norvegia, Antarktis“, von Norbert E. Kaul
- Heft-Nr. 90/1991** – „Die Expedition ANTARKTIS-VIII mit FS „Polarstern“ 1989/90. Bericht von den Fahrtabschnitten ANT-VIII/6-7“, herausgegeben von Dieter Karl Fütterer und Otto Schrems
- Heft-Nr. 91/1991** – „Blood physiology and ecological consequences in Weddell Sea fishes (Antarctica)“, by Andreas Kunzmann
- Heft-Nr. 92/1991** – „Zur sommerlichen Verteilung des Mesozooplanktons im Nansen-Becken, Nordpolarmeer“, von Nicolai Mumm
- Heft-Nr. 93/1991** – „Die Expedition ARKTIS VII mit FS „Polarstern“, 1990. Bericht vom Fahrtabschnitt ARK VII/2“, herausgegeben von Gunther Krause
- Heft-Nr. 94/1991** – „Die Entwicklung des Phytoplanktons im östlichen Weddellmeer (Antarktis) beim Übergang vom Spätwinter zum Frühjahr“, von Renate Scharek
- Heft-Nr. 95/1991** – „Radioisotopenstratigraphie, Sedimentologie und Geochemie jungquartärer Sedimente des östlichen Arktischen Ozeans“, von Horst Bohrmann
- Heft-Nr. 96/1991** – „Holozäne Sedimentationsentwicklung im Scoresby Sund, Ost-Grönland“, von Peter Marienfeld
- Heft-Nr. 97/1991** – „Strukturelle Entwicklung und Abkühlungsgeschichte der Heimefrontfjella (Westliches Dronning Maud Land/Antarktika)“, von Joachim Jacobs
- Heft-Nr. 98/1991** – „Zur Besiedlungsgeschichte des antarktischen Schelfes am Beispiel der Isopoda (Crustacea, Malacostraca)“, von Angelika Brandt
- Heft-Nr. 99/1992** – „The Antarctic ice sheet and environmental change: a three-dimensional modelling study“, by Philippe Huybrechts
- \* **Heft-Nr. 100/1992** – „Die Expeditionen ANTARKTIS IX/1-4 des Forschungsschiffes „Polarstern“ 1990/91“, herausgegeben von Ulrich Bathmann, Meinhard Schulz-Baldes, Eberhard Fahrbach, Victor Smetacek und Hans-Wolfgang Hubberten
- Heft-Nr. 101/1992** – „Wechselbeziehungen zwischen Schwermetallkonzentrationen (Cd, Cu, Pb, Zn) im Meewasser und in Zooplanktonorganismen (Copepoda) der Arktis und des Atlantiks“, von Christa Pohl
- Heft-Nr. 102/1992** – „Physiologie und Ultrastruktur der antarktischen Grünalge *Prasiola crispa* ssp. *antarctica* unter osmotischem Stress und Austrocknung“, von Andreas Jacob
- Heft-Nr. 103/1992** – „Zur Ökologie der Fische im Weddellmeer“, von Gerd Hubold
- Heft-Nr. 104/1992** – „Mehrkanaelige adaptive Filter für die Unterdrückung von multiplen Reflexionen in Verbindung mit der freien Oberfläche in marinen Seismogrammen“, von Andreas Rosenberger
- Heft-Nr. 105/1992** – „Radiation and Eddy Flux Experiment 1991 (REFLEX I)“, von Jörg Hartmann, Christoph Kottmeier und Christian Wamser
- Heft-Nr. 106/1992** – „Ostracoden im Epipelagial vor der Antarktischen Halbinsel - ein Beitrag zur Systematik sowie zur Verbreitung und Populationsstruktur unter Berücksichtigung der Saisonalität“, von Rüdiger Kock
- Heft-Nr. 107/1992** – „ARCTIC '91: Die Expedition ARK-VIII/3 mit FS „Polarstern“ 1991“, von Dieter K. Fütterer
- Heft-Nr. 108/1992** – „Dehnungsbeben an einer Störungszone im Ekström-Schelfeis nördlich der Georg-von-Neumayer Station, Antarktis. – Eine Untersuchung mit seismologischen und geodätischen Methoden“, von Uwe Nixdorf.
- Heft-Nr. 109/1992** – „Spätquartäre Sedimentation am Kontinentalrand des südöstlichen Weddellmeeres, Antarktis“, von Michael Weber.
- Heft-Nr. 110/1992** – „Sedimentfazies und Bodenwasserstrom am Kontinentalhang des nordwestlichen Weddellmeeres“, von Isa Brehme.
- Heft-Nr. 111/1992** – „Die Lebensbedingungen in den Solekanälen des antarktischen Meereises“, von Jürgen Weissenberger.
- Heft-Nr. 112/1992** – „Zur Taxonomie von rezenten benthischen Foraminiferen aus dem Nansen Becken, Arktischer Ozean“, von Jutta Wollenburg.
- Heft-Nr. 113/1992** – „Die Expedition ARKTIS VIII/1 mit FS „Polarstern“ 1991“, herausgegeben von Gerhard Kattner.
- \* **Heft-Nr. 114/1992** – „Die Gründungsphase deutscher Polarforschung, 1865-1875“, von Reinhard A. Krause.
- Heft-Nr. 115/1992** – „Scientific Cruise Report of the 1991 Arctic Expedition ARK VIII/2 of RV „Polarstern“ (EPOS II)“, by Eike Racher.
- Heft-Nr. 116/1992** – „The Meteorological Data of the Georg-von-Neumayer-Station (Antarctica) for 1988, 1989, 1990 and 1991“, by Gert König-Langlo.
- Heft-Nr. 117/1992** – „Petrogenese des metamorphen Grundgebirges der zentralen Heimefrontfjella (westliches Dronning Maud Land / Antarktis)“, von Peter Schulze.
- Heft-Nr. 118/1993** – „Die mafischen Gänge der Shackleton Range / Antarktika: Petrographie, Geochemie, Isotopengeochemie und Paläomagnetik“, von Rüdiger Hotten.
- \* **Heft-Nr. 119/1993** – „Gefrierschutz bei Fischen der Polarmeere“, von Andreas P.A. Wöhrmann.
- \* **Heft-Nr. 120/1993** – „East Siberian Arctic Region Expedition '92: The Laptev Sea - its Significance for Arctic Sea-Ice Formation and Transpolar Sediment Flux“, by D. Dethleff, D. Nürnberg, E. Reimnitz, M. Saarlo and Y. P. Sacchenko. – „Expedition to Novaja Zemlja and Franz Josef Land with RV „Dalnie Zelentsy““, by D. Nürnberg and E. Groth.

- \* **Heft-Nr. 121/1993** – „Die Expedition ANTARKTIS X/3 mit FS 'Polarstern' 1992“, herausgegeben von Michael Spindler, Gerhard Dieckmann und David Thomas.
- Heft-Nr. 122/1993** – „Die Beschreibung der Korngestalt mit Hilfe der Fourier-Analyse: Parametrisierung der morphologischen Eigenschaften von Sedimentpartikeln“, von Michael Diepenbroek.
- \* **Heft-Nr. 123/1993** – „Zerstörungsfreie hochauflösende Dichteuntersuchungen mariner Sedimente“, von Sebastian Gerland.
- Heft-Nr. 124/1993** – „Umsatz und Verteilung von Lipiden in arktischen marinen Organismen unter besonderer Berücksichtigung unterer trophischer Stufen“, von Martin Graeve.
- Heft-Nr. 125/1993** – „Ökologie und Respiration ausgewählter arktischer Bodenfischarten“, von Christian F. von Dorrien.
- Heft-Nr. 126/1993** – „Quantitative Bestimmung von Paläoumweltparametern des Antarktischen Oberflächenwassers im Spätquartär anhand von Transferfunktionen mit Diatomeen“, von Ulrich Zielinski
- Heft-Nr. 127/1993** – „Sedimenttransport durch das arktische Meereis: Die rezente lithogene und biogene Materialfracht“, von Ingo Wollenburg.
- Heft-Nr. 128/1993** – „Cruise ANTARKTIS X/3 of RV 'Polarstern': CTD-Report“, von Marek Zwierz.
- Heft-Nr. 129/1993** – „Reproduktion und Lebenszyklen dominanter Copepodenarten aus dem Weddellmeer, Antarktis“, von Frank Kurbjeweit
- Heft-Nr. 130/1993** – „Untersuchungen zu Temperaturregime und Massenhaushalt des Filchner-Ronne-Schelfeises, Antarktis, unter besonderer Berücksichtigung von Anfrier- und Abschmelzprozessen“, von Klaus Grosfeld
- Heft-Nr. 131/1993** – „Die Expedition ANTARKTIS X/5 mit FS 'Polarstern' 1992“, herausgegeben von Rainer Gersonde
- Heft-Nr. 132/1993** – „Bildung und Abgabe kurzketziger halogener Kohlenwasserstoffe durch Makroalgen der Polarregionen“, von Frank Laturnus
- Heft-Nr. 133/1994** – „Radiation and Eddy Flux Experiment 1993 (REFLEX II)“, by Christoph Kottmeier, Jörg Hartmann, Christian Wamser, Axel Bochert, Christof Lüpkes, Dietmar Freese and Wolfgang Cohrs
- \* **Heft-Nr. 134/1994** – „The Expedition ARKTIS-IX/1“, edited by Hajo Eicken and Jens Meincke
- Heft-Nr. 135/1994** – „Die Expeditionen ANTARKTIS X/6-8“, herausgegeben von Ulrich Bathmann, Victor Smetacek, Hein de Baar, Eberhard Fahrbach und Gunter Krause
- Heft-Nr. 136/1994** – „Untersuchungen zur Ernährungsökologie von Kaiserpinguinen (*Aptenodytes forsteri*) und Königspinguinen (*Aptenodytes patagonicus*)“, von Klemens Pütz
- \* **Heft-Nr. 137/1994** – „Die känozoische Vereisungsgeschichte der Antarktis“, von Werner U. Ehrmann
- Heft-Nr. 138/1994** – „Untersuchungen stratosphärischer Aerosole vulkanischen Ursprungs und polarer stratosphärischer Wolken mit einem Mehrwellenlängen-Lidar auf Spitzbergen (79° N, 12° E)“, von Georg Beyerle
- Heft-Nr. 139/1994** – „Charakterisierung der Isopodenfauna (Crustacea, Malacostraca) des Scotia-Bogens aus biogeographischer Sicht: Ein multivariater Ansatz“, von Holger Winkler.
- Heft-Nr. 140/1994** – „Die Expedition ANTARKTIS X/4 mit FS 'Polarstern' 1992“, herausgegeben von Peter Lemke
- Heft-Nr. 141/1994** – „Satellitenaltimetrie über Eis – Anwendung des GEOSAT-Altimeters über dem Ekströmisen, Antarktis“, von Clemens Heidland
- Heft-Nr. 142/1994** – „The 1993 Northeast Water Expedition. Scientific cruise report of RV 'Polarstern' Arctic cruises ARK IX/2 and 3, USCG 'Polar Bear' cruise NEWP and the NEWLand expedition“, edited by Hans-Jürgen Hirche and Gerhard Kattner
- Heft-Nr. 143/1994** – „Detaillierte refraktionsseismische Untersuchungen im inneren Scoresby Sund Ost-Grönland“, von Notker Fechner
- Heft-Nr. 144/1994** – „Russian-German Cooperation in the Siberian Shelf Seas: Geo-System Laptev Sea“, edited by Heidemarie Kassens, Hans-Wolfgang Hubberten, Sergey M. Pryamikov und Rüdiger Stein
- \* **Heft-Nr. 145/1994** – „The 1993 Northeast Water Expedition. Data Report of RV 'Polarstern' Arctic Cruises IX/2 and 3“, edited by Gerhard Kattner and Hans-Jürgen Hirche.
- Heft-Nr. 146/1994** – „Radiation Measurements at the German Antarctic Station Neumayer 1982-1992“, by Torsten Schmidt and Gert König-Langlo.
- Heft-Nr. 147/1994** – „Krustenstrukturen und Verlauf des Kontinentalrandes im Weddell Meer / Antarktis“, von Christian Hübscher.
- Heft-Nr. 148/1994** – „The expeditions NORILSK/TAYMYR 1993 and BUNGER OASIS 1993/94 of the AWI Research Unit Potsdam“, edited by Martin Melles.
- \*\* **Heft-Nr. 149/1994** – „Die Expedition ARCTIC' 93. Der Fahrtabschnitt ARK-IX/4 mit FS 'Polarstern' 1993“, herausgegeben von Dieter K. Fütterer.
- Heft-Nr. 150/1994** – „Der Energiebedarf der Pygoscelis-Pinguine: eine Synopse“, von Boris M. Culik.
- Heft-Nr. 151/1994** – „Russian-German Cooperation: The Transdrift I Expedition to the Laptev Sea“, edited by Heidemarie Kassens and Valeriy Y. Karpuy.
- Heft-Nr. 152/1994** – „Die Expedition ANTARKTIS-X mit FS 'Polarstern' 1992. Bericht von den Fahrtabschnitten / ANT-X / 1a und 2“, herausgegeben von Heinz Miller.
- Heft-Nr. 153/1994** – „Aminosäuren und Huminstoffe im Stickstoffkreislauf polarer Meere“, von Ulrike Hubberten.
- Heft-Nr. 154/1994** – „Regional und seasonal variability in the vertical distribution of mesozooplankton in the Greenland Sea“, by Claudio Richter.

- Heft-Nr. 155/1995** – "Benthos in polaren Gewässern", herausgegeben von Christian Wiencke und Wolf Arntz.
- Heft-Nr. 156/1995** – "An adjoint model for the determination of the mean oceanic circulation, air-sea fluxes and mixing coefficients", by Reiner Schlitzer.
- Heft-Nr. 157/1995** – "Biochemische Untersuchungen zum Lipidstoffwechsel antarktischer Copepoden", von Kirsten Fahl.
- \*\* Heft-Nr. 158/1995** – "Die Deutsche Polarforschung seit der Jahrhundertwende und der Einfluß Erich von Drygalskis", von Cornelia Lüdecke.
- Heft-Nr. 159/1995** – "The distribution of  $\delta^{18}\text{O}$  in the Arctic Ocean: Implications for the freshwater balance of the halocline and the sources of deep and bottom waters", by Dorothea Bauch.
- \* Heft-Nr. 160/1995** – "Rekonstruktion der spätquartären Tiefenwasserzirkulation und Produktivität im östlichen Südatlantik anhand von benthischen Foraminiferenvergesellschaftungen", von Gerhard Schmiedl.
- Heft-Nr. 161/1995** – "Der Einfluß von Salinität und Lichtintensität auf die Osmolytkonzentrationen, die Zellvolumina und die Wachstumsraten der antarktischen Eisdiatomeen *Chaetoceros* sp. und *Navicula* sp. unter besonderer Berücksichtigung der Aminosäure Prolin", von Jürgen Nothnagel.
- Heft-Nr. 162/1995** – "Meereistransportiertes lithogenes Feinmaterial in spätquartären Tiefseesedimenten des zentraler östlichen Arktischen Ozeans und der Framstraße", von Thomas Letzig.
- Heft-Nr. 163/1995** – "Die Expedition ANTARKTIS-XI/2 mit FS "Polarstern" 1993/94", herausgegeben von Rainer Gersonde.
- Heft-Nr. 164/1995** – "Regionale und altersabhängige Variation gesteinsmagnetischer Parameter in marinen Sedimenten der Arktis", von Thomas Frederichs.
- Heft-Nr. 165/1995** – "Vorkommen, Verteilung und Umsatz biogener organischer Spurenstoffe: Sterole in antarktischen Gewässern", von Georg Hanke.
- Heft-Nr. 166/1995** – "Vergleichende Untersuchungen eines optimierten dynamisch-thermodynamischen Meereismode mit Beobachtungen im Weddellmeer", von Holger Fischer.
- Heft-Nr. 167/1995** – "Rekonstruktionen von Paläo-Umweltparametern anhand von stabilen Isotopen und Faunen-Vergesellschaftungen planktischer Foraminiferen im Südatlantik", von Hans-Stefan Niebler
- Heft-Nr. 168/1995** – "Die Expedition ANTARKTIS XII mit FS 'Polarstern' 1993/94. Bericht von den Fahrtabschnitten ANT XII/1 und 2", herausgegeben von Gerhard Kattner und Dieter Karl Fütterer.
- Heft-Nr. 169/1995** – "Medizinische Untersuchung zur Circadianrhythmik und zum Verhalten bei Überwinterern auf eine antarktischen Forschungsstation", von Hans Wortmann.
- Heft-Nr. 170/1995** – DFG-Kolloquium: Terrestrische Geowissenschaften - Geologie und Geophysik der Antarktis.
- Heft-Nr. 171/1995** – "Strukturentwicklung und Petrogenese des metamorphen Grundgebirges der nördlichen Heimelfrontfjella (westliches Dronning Maud Land/Antarktika)", von Wilfried Bauer.
- Heft-Nr. 172/1995** – "Die Struktur der Erdkruste im Bereich des Scoresby Sund, Ostgrönland: Ergebnisse refraktionsseismischer und gravimetrischer Untersuchungen", von Holger Mandler.
- Heft-Nr. 173/1995** – "Paläozoische Akkretion am paläopazifischen Kontinentalrand der Antarktis in Nordvictorialand – P-T-D-Geschichte und Deformationsmechanismen im Bowers Terrane", von Stefan Matzer.
- Heft-Nr. 174/1995** – "The Expedition ARKTIS-X/2 of RV 'Polarstern' in 1994", edited by Hans-W. Hubberten.
- Heft-Nr. 175/1995** – "Russian-German Cooperation: The Expedition TAYMYR 1994", edited by Christine Siegert and Dmitry Bolshiyarov.
- Heft-Nr. 176/1995** – "Russian-German Cooperation: Laptev Sea System", edited by Heidemarie Kassens, Dieter Piepenburg, Jörn Thiede, Leonid Timokhov, Hans-Wolfgang Hubberten and Sergey M. Priamikov.
- Heft-Nr. 177/1995** – "Organischer Kohlenstoff in spätquartären Sedimenten des Arktischen Ozeans: Terrigener Eintrag und marine Produktivität", von Carsten J. Schubert.
- Heft-Nr. 178/1995** – "Cruise ANTARKTIS XII/4 of RV 'Polarstern' in 1995: CTD-Report", by Jüri Sildam.
- Heft-Nr. 179/1995** – "Benthische Foraminiferenfaunen als Wassermassen-, Produktions- und Eisdrifanzeiger im Arktischen Ozean", von Jutta Wollenburg.
- Heft-Nr. 180/1995** – "Biogenopal und biogenes Barium als Indikatoren für spätquartäre Produktivitätsänderungen am antarktischen Kontinentalhang, atlantischer Sektor", von Wolfgang J. Bonn.
- Heft-Nr. 181/1995** – "Die Expedition ARKTIS X/1 des Forschungsschiffes 'Polarstern' 1994", herausgegeben von Eberhard Fahrbach.
- Heft-Nr. 182/1995** – "Laptev Sea System: Expeditions in 1994", edited by Heidemarie Kassens.
- Heft-Nr. 183/1996** – "Interpretation digitaler Parasound Echolotaufzeichnungen im östlichen Arktischen Ozean auf der Grundlage physikalischer Sedimenteigenschaften", von Uwe Bergmann.
- Heft-Nr. 184/1996** – "Distribution and dynamics of inorganic nitrogen compounds in the troposphere of continental, coastal, marine and Arctic areas", by Maria Dolores Andrés Hernández.
- Heft-Nr. 185/1996** – "Verbreitung und Lebensweise der Aphroditiden und Polynoiden (Polychaeta) im östlichen Weddel meer und im Lazarevmeer (Antarktis)", von Michael Stiller.
- Heft-Nr. 186/1996** – "Reconstruction of Late Quaternary environmental conditions applying the natural radionuclides  $^{230}\text{Th}$ ,  $^{10}\text{Be}$ ,  $^{231}\text{Pa}$  and  $^{238}\text{U}$ : A study of deep-sea sediments from the eastern sector of the Antarctic Circumpolar Current System", by Martin Frank.
- Heft-Nr. 187/1996** – "The Meteorological Data of the Neumayer Station (Antarctica) for 1992, 1993 and 1994", by Gert König-Langlo and Andreas Herber.
- Heft-Nr. 188/1996** – "Die Expedition ANTARKTIS-XI/3 mit FS 'Polarstern' 1994", herausgegeben von Heinz Miller und Hannes Grobe.
- Heft-Nr. 189/1996** – "Die Expedition ARKTIS-VII/3 mit FS 'Polarstern' 1990", herausgegeben von Heinz Miller und Hannes Grobe.

- Heft-Nr. 190/1996** – “Cruise report of the Joint Chilean-German-Italian Magellan ‘Victor Hensen’ Campaign in 1994”, edited by Wolf Arntz and Matthias Gorny.
- Heft-Nr. 191/1996** – “Leitfähigkeits- und Dichtemessung an Eisbohrkernen”, von Frank Wilhelms.
- Heft-Nr. 192/1996** – “Photosynthese-Charakteristika und Lebensstrategie antarktischer Makroalgen”, von Gabriele Weykam.
- Heft-Nr. 193/1996** – “Heterogene Reaktionen von  $N_2O_5$  und HBr und ihr Einfluß auf den Ozonabbau in der polaren Stratosphäre”, von Sabine Seisel.
- Heft-Nr. 194/1996** – “Ökologie und Populationsdynamik antarktischer Ophiuroiden (Echinodermata)”, von Corinna Dahm.
- Heft-Nr. 195/1996** – “Die planktische Foraminifere *Neogloboquadrina pachyderma* (Ehrenberg) im Weddellmeer, Antarktis”, von Doris Berberich.
- Heft-Nr. 196/1996** – “Untersuchungen zum Beitrag chemischer und dynamischer Prozesse zur Variabilität des stratosphärischen Ozons über der Arktis”, von Birgit Heese.
- Heft-Nr. 197/1996** – “The Expedition ARKTIS-XI/2 of ‘Polarstern’ in 1995”, edited by Gunther Krause.
- Heft-Nr. 198/1996** – “Geodynamik des Westantarktischen Riftsystems basierend auf Apatit-Spaltspuranalysen”, von Frank Lisker.
- Heft-Nr. 199/1996** – “The 1993 Northeast Water Expedition. Data Report on CTD Measurements of RV ‘Polarstern’ Cruises ARKTIS IX/2 and 3”, by Gereon Budéus and Wolfgang Schneider.
- Heft-Nr. 200/1996** – “Stability of the Thermohaline Circulation in analytical and numerical models”, by Gerrit Lohmann
- Heft-Nr. 201/1996** – “Trophische Beziehungen zwischen Makroalgen und Herbivoren in der Potter Cove (King George-Insel, Antarktis)”, von Katrin Iken.
- Heft-Nr. 202/1996** – “Zur Verbreitung und Respiration ökologisch wichtiger Bodentiere in den Gewässern um Svalbard (Arktis)”, von Michael K. Schmid.
- Heft-Nr. 203/1996** – “Dynamik, Rauigkeit und Alter des Meereises in der Arktis - Numerische Untersuchungen mit einem großskaligen Modell”, von Markus Harder.
- Heft-Nr. 204/1996** – “Zur Parametrisierung der stabilen atmosphärischen Grenzschicht über einem antarktischen Schelfeis”, von Dörthe Handorf.
- Heft-Nr. 205/1996** – “Textures and fabrics in the GRIP ice core, in relation to climate history and ice deformation”, by Thorsteinn Thorsteinsson.
- Heft-Nr. 206/1996** – “Der Ozean als Teil des gekoppelten Klimasystems: Versuch der Rekonstruktion der glazialen Zirkulation mit verschiedenen komplexen Atmosphärenkomponenten”, von Kerstin Fieg.
- Heft-Nr. 207/1996** – “Lebensstrategien dominanter antarktischer Oithonidae (Cyclopoida, Copepoda) und Oncaeidae (Poecilostomatoida, Copepoda) im Bellingshausenmeer”, von Cornelia Metz.
- Heft-Nr. 208/1996** – “Atmosphäreneinfluß bei der Fernerkundung von Meereis mit passiven Mikrowellenradiometern”, von Christoph Oelke.
- Heft-Nr. 209/1996** – “Klassifikation von Radarsatellitendaten zur Meereisererkennung mit Hilfe von Line-Scanner-Messungen”, von Axel Bochert.
- Heft-Nr. 210/1996** – “Die mit ausgewählten Schwämmen (Hexactinellida und Demospongiae) aus dem Weddellmeer, Antarktis, vergesellschaftete Fauna”, von Kathrin Kunzmann.
- Heft-Nr. 211/1996** – “Russian-German Cooperation: The Expedition TAYMYR 1995 and the Expedition KOLYMA 1995 by Dima Yu. Bolshiyarov and Hans-W. Hubberten.
- Heft-Nr. 212/1996** – “Surface-sediment composition and sedimentary processes in the central Arctic Ocean and along the Eurasian Continental Margin”, by Ruediger Stein, Gennadij I. Ivanov, Michael A. Levitan, and Kirsten Fahl.
- Heft-Nr. 213/1996** – “Gonadenentwicklung und Eiproduktion dreier *Calanus*-Arten (Copepoda): Freilandbeobachtung, Histologie und Experimente”, von Barbara Niehoff.
- Heft-Nr. 214/1996** – “Numerische Modellierung der Übergangszone zwischen Eisschild und Eisschelf”, von Christoph Mayer.
- Heft-Nr. 215/1996** – “Arbeiten der AWI-Forschungsstelle Potsdam in Antarktika, 1994/95”, herausgegeben von Ulrich Wand.
- Heft-Nr. 216/1996** – “Rekonstruktion quartärer Klimaänderungen im atlantischen Sektor des Südpolarmeeres anhand von Radiolarien”, von Uta Brathauer.
- Heft-Nr. 217/1996** – “Adaptive Semi-Lagrange-Finite-Elemente-Methode zur Lösung der Flachwassergleichungen: Implementierung und Parallelisierung”, von Jörn Behrens.
- Heft-Nr. 218/1997** – “Radiation and Eddy Flux Experiment 1995 (REFLEX III)”, by Jörg Hartmann, Axel Bochert, Dietmar Freese, Christoph Kottmeier, Dagmar Nagel and Andreas Reuter.
- Heft-Nr. 219/1997** – “Die Expedition ANTARKTIS-XII mit FS ‘Polarstern’ 1995. Bericht vom Fahrtabschnitt ANT-XII/3” herausgegeben von Wilfried Jokot und Hans Oerter.
- Heft-Nr. 220/1997** – “Ein Beitrag zum Schwerfeld im Bereich des Weddellmeeres, Antarktis. Nutzung von Altimetermessungen des GEOSAT und ERS-1”, von Tilo Schöne.
- Heft-Nr. 221/1997** – “Die Expeditionen ANTARKTIS-XIII/1-2 des Forschungsschiffes ‘Polarstern’ 1995/96”, herausgegeben von Ulrich Bathmann, Mike Lucas and Victor Smetacek.
- Heft-Nr. 222/1997** – “Tectonic Structures and Glaciomarine Sedimentation in the South-Eastern Weddell Sea from Seismic Reflection Data”, by László Oszkó.

- Heft-Nr. 223/1997** – “Bestimmung der Meereisdicke mit seismischen und elektromagnetisch-induktiven Verfahren”, von Christian Haas.
- Heft-Nr. 224/1997** – “Troposphärische Ozonvariationen in Polarregionen”, von Silke Wessel.
- Heft-Nr. 225/1997** – “Biologische und ökologische Untersuchungen zur kryopelagischen Amphipodenfauna des arktischen Meereises”, von Michael Poltermann.
- Heft-Nr. 226/1997** – “Scientific Cruise Report of the Arctic Expedition ARK-XI/1 of RV 'Polarstern' in 1995”, edited by Eike Rachor.
- Heft-Nr. 227/1997** – “Der Einfluß kompatibler Substanzen und Kyroprotektoren auf die Enzyme Malatdehydrogenase (MDH) und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) aus *Acrosiphonia arctica* (Chlorophyta) der Arktis“, von Katharina Kück.
- Heft-Nr. 228/1997** – “Die Verbreitung epibenthischer Mollusken im chilenischen Beagle-Kanal”, von Katrin Linse.
- Heft-Nr. 229/1997** – “Das Mesozooplankton im Laptevmeer und östlichen Nansen-Becken - Verteilung und Gemeinschaftsstrukturen im Spätsommer”, von Hinrich Hanssen.
- Heft-Nr. 230/1997** – “Modell eines adaptierbaren, rechnergestützten, wissenschaftlichen Arbeitsplatzes am Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung”, von Lutz-Peter Kurdelski.
- Heft-Nr. 231/1997** – “Zur Ökologie arktischer und antarktischer Fische: Aktivität, Sinnesleistungen und Verhalten”, von Christopher Zimmermann.
- Heft-Nr. 232/1997** – “Persistente chlororganische Verbindungen in hochantarktischen Fischen”, von Stephan Zimmermann.
- Heft-Nr. 233/1997** – “Zur Ökologie des Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP)-Gehaltes temperierter und polarer Phytoplanktongemeinschaften im Vergleich mit Laborkulturen der Coccolithophoride *Emiliana huxleyi* und der antarktischen Diatomee *Nitzschia lecontei*“, von Doris Meyerdierts.
- Heft-Nr. 234/1997** – “Die Expedition ARCTIC '96 des FS 'Polarstern' (ARK XII) mit der Arctic Climate System Study (ACSYS)“, von Ernst Augstein und den Fahrteilnehmern.
- Heft-Nr. 235/1997** – “Polonium-210 und Blei-210 im Südpolarmeer: Natürliche Tracer für biologische und hydrographische Prozesse im Oberflächenwasser des Antarktischen Zirkumpolarstroms und des Weddellmeeres“, von Jana Friedrich.
- Heft-Nr. 236/1997** – “Determination of atmospheric trace gas amounts and corresponding natural isotopic ratios by means of ground-based FTIR spectroscopy in the high Arctic“, by Arndt Meier.
- Heft-Nr. 237/1997** – “Russian-German Cooperation: The Expedition TAYMYR / SEVERNAYA ZEMLYA 1996“, edited by Martin Melles, Birgit Hagedorn and Dmitri Yu. Bolshiyonow.
- Heft-Nr. 238/1997** – “Life strategy and ecophysiology of Antarctic macroalgae“, by Iván M. Gómez.
- Heft-Nr. 239/1997** – “Die Expedition ANTARKTIS XIII/4-5 des Forschungsschiffes 'Polarstern' 1996“, herausgegeben von Eberhard Fahrbach und Dieter Gerdes.
- Heft-Nr. 240/1997** – “Untersuchungen zur Chrom-Speziation im Meerwasser, Meereis und Schnee aus ausgewählten Gebieten der Arktis“, von Heide Giese.
- Heft-Nr. 241/1997** – “Late Quaternary glacial history and paleoceanographic reconstructions along the East Greenland continental margin: Evidence from high-resolution records of stable isotopes and ice-rafted debris“, by Seung-Il Nam.
- Heft-Nr. 242/1997** – “Thermal, hydrological and geochemical dynamics of the active layer at a continuous permafrost site, Taymyr Peninsula, Siberia“, by Julia Boike.
- Heft-Nr. 243/1997** – “Zur Paläoozeanographie hoher Breiten: Stellvertreterdaten aus Foraminiferen“, von Andreas Mackensen.
- Heft-Nr. 244/1997** – “The Geophysical Observatory at Neumayer Station, Antarctica. Geomagnetic and seismological observations in 1995 and 1996“, by Alfons Eckstaller, Thomas Schmidt, Viola Gaw, Christian Müller and Johannes Rogenhagen.
- Heft-Nr. 245/1997** – “Temperaturbedarf und Biogeographie mariner Makroalgen - Anpassung mariner Makroalgen an tiefe Temperaturen“, von Bettina Bischoff-Bäsmann.
- Heft-Nr. 246/1997** – “Ökologische Untersuchungen zur Fauna des arktischen Meereises“, von Christine Friedrich.
- Heft-Nr. 247/1997** – “Entstehung und Modifizierung von marinen gelösten organischen Substanzen“, von Berit Kirchhoff.
- Heft-Nr. 248/1997** – “Laptev Sea System: Expeditions in 1995“, edited by Heidemarie Kassens.
- Heft-Nr. 249/1997** – “The Expedition ANTARKTIS XIII/3 (EASIZ I) of RV 'Polarstern' to the eastern Weddell Sea in 1996“, edited by Wolf Arntz and Julian Gutt.
- Heft-Nr. 250/1997** – “Vergleichende Untersuchungen zur Ökologie und Biodiversität des Mega-Epibenthos der Arktis und Antarktis“, von Andreas Starmans.
- Heft-Nr. 251/1997** – “Zeitliche und räumliche Verteilung von Mineralvergesellschaftungen in spätquartären Sedimenten des Arktischen Ozeans und ihre Nützlichkeit als Klimaindikatoren während der Glazial/Interglazial-Wechsel“, von Christoph Vogt.
- Heft-Nr. 252/1997** – “Solitäre Ascidien in der Potter Cove (King George Island, Antarktis). Ihre ökologische Bedeutung und Populationsdynamik“, von Stephan Kühne.
- Heft-Nr. 253/1997** – “Distribution and role of microprotozoa in the Southern Ocean“, by Christine Klaas.
- Heft-Nr. 254/1997** – “Die spätquartäre Klima- und Umweltgeschichte der Bunger-Oase, Ostantarktis“, von Thomas Kulbe.

**Heft-Nr. 255/1997** – “Scientific Cruise Report of the Arctic Expedition ARK-XIII/2 of RV ‘Polarstern’ in 1997”, edited by Ruediger Stein and Kirsten Fahl.

**Heft-Nr. 256/1998** – “Das Radionuklid Tritium im Ozean: Meßverfahren und Verteilung von Tritium im Südatlantik und im Weddellmeer”, von Jürgen Sültenfuß.

**Heft-Nr. 257/1998** – “Untersuchungen der Saisonalität von atmosphärischem Dimethylsulfid in der Arktis und Antarktis von Christoph Kleefeld.

**Heft-Nr. 258/1998** – “Bellingshausen- und Amundsenmeer: Entwicklung eines Sedimentationsmodells”, von Frank-Oliver Nitsche.

**Heft-Nr. 259/1998** – “The Expedition ANTARKTIS-XIV/4 of RV ‘Polarstern’ in 1997”, by Dieter K. Fütterer.

**Heft-Nr. 260/1998** – “Die Diatomeen der Laptevsee (Arktischer Ozean): Taxonomie und biogeographische Verbreitung von Holger Cremer.

**Heft-Nr. 261/1998** – “Die Krustenstruktur und Sedimentdecke des Eurasischen Beckens, Arktischer Ozean: Resultate aus seismischen und gravimetrischen Untersuchungen”, von Estella Weigelt.

**Heft-Nr. 262/1998** – “The Expedition ARKTIS-XIII/3 of RV ‘Polarstern’ in 1997”, by Gunther Krause.

**Heft-Nr. 263/1998** – “Thermo-tektonische Entwicklung von Oates Land und der Shackleton Range (Antarktis) basierend auf Spaltspuranalysen”, von Thorsten Schäfer.

**Heft-Nr. 264/1998** – “Messungen der stratosphärischen Spurengase ClO, HCl, O<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O und OH mittels flugzeugtragener Submillimeterwellen-Radiometrie”, von Joachim Urban.

**Heft-Nr. 265/1998** – “Untersuchungen zu Massenhaushalt und Dynamik des Ronne Ice Shelves, Antarktis“, von Astrid Lambrecht.

**Heft-Nr. 266/1998** – “Scientific Cruise Report of the Kara Sea Expedition of RV ‘Akademik Boris Petrov’ in 1997“, edited by Jens Matthiessen and Oleg Stepanets.

**Heft-Nr. 267/1998** – “Die Expedition ANTARKTIS-XIV mit FS ‘Polarstern’ 1997. Bericht vom Fahrtabschnitt ANT-XIV/3 herausgegeben von Wilfried Jokat und Hans Oerter.

**Heft-Nr. 268/1998** – “Numerische Modellierung der Wechselwirkung zwischen Atmosphäre und Meereis in der arktischen Eisrandzone“, von Gerit Birnbaum.

**Heft-Nr. 269/1998** – “Katabatic wind and Boundary Layer Front Experiment around Greenland (KABEG ‘97)“, by Günther Heinemann.

**Heft-Nr. 270/1998** – “Architecture and evolution of the continental crust of East Greenland from integrated geophysical studies“, by Vera Schindwein.

**Heft-Nr. 271/1998** – “Winter Expedition to the Southwestern Kara Sea - Investigations on Formation and Transport of Turbid Sea-Ice“, by Dirk Dethleff, Peter Loewe, Dominik Weiel, Hartmut Nies, Gesa Kuhlmann, Christian Bahe and Gennady Tarasov.

**Heft-Nr. 272/1998** – “FTIR-Emissionsspektroskopische Untersuchungen der arktischen Atmosphäre“, von Edo Becke

**Heft-Nr. 273/1998** – “Sedimentation und Tektonik im Gebiet des Agulhas Rückens und des Agulhas Plateaus (‘SETA-RAP’)“, von Gabriele Uenzelmann-Neben.

**Heft-Nr. 274/1998** – “The Expedition ANTARKTIS XIV/2“, by Gerhard Kattner.

**Heft-Nr. 275/1998** – “Die Auswirkung der ‘NorthEastWater’-Polynya auf die Sedimentation vor NO-Grönland und Untersuchungen zur Paläo-Ozeanographie seit dem Mittelweichsel“, von Hanne Notholt.

**Heft-Nr. 276/1998** – “Interpretation und Analyse von Potentialfelddaten im Weddellmeer, Antarktis: der Zerfall des Superkontinents Gondwana“, von Michael Studinger.

**Heft-Nr. 277/1998** – “Koordiniertes Programm Antarktisforschung“. Berichtskolloquium im Rahmen des Koordinierter Programms “Antarktisforschung mit vergleichenden Untersuchungen in arktischen Eisgebieten“, herausgegeben von Hubert Miller.

**Heft-Nr. 278/1998** – “Messung stratosphärischer Spurengase über Ny-Ålesund, Spitzbergen, mit Hilfe eines bodengebundenen Mikrowellen-Radiometers“, von Uwe Raffalski.

**Heft-Nr. 279/1998** – “Arctic Paleo-River Discharge (APARD). A New Research Programme of the Arctic Ocean Science Board (AOSB)“, edited by Ruediger Stein.

**Heft-Nr. 280/1998** – “Fernerkundungs- und GIS-Studien in Nordostgrönland“, von Friedrich Jung-Rothenhäusler.

**Heft-Nr. 281/1998** – “Rekonstruktion der Oberflächenwassermassen der östlichen Laptevsee im Holozän anhand aquatischen Palynomorphen“, von Martina Kunz-Pirring.

**Heft-Nr. 282/1998** – “Scavenging of <sup>231</sup>Pa and <sup>230</sup>Th in the South Atlantic: Implications for the use of the <sup>231</sup>Pa/<sup>230</sup>Th ratio as a paleoproductivity proxy“, by Hans-Jürgen Walter.

**Heft-Nr. 283/1998** – “Sedimente im arktischen Meereis - Eintrag, Charakterisierung und Quantifizierung“, von Frank Lindemann.

**Heft-Nr. 284/1998** – “Langzeitanalyse der antarktischen Meereisbedeckung aus passiven Mikrowellendaten“, von Christian H. Thomas.

**Heft-Nr. 285/1998** – “Mechanismen und Grenzen der Temperaturanpassung beim Pierwurm *Arenicola marina* (L.)“, von Angela Sommer.

**Heft-Nr. 286/1998** – “Energieumsätze benthischer Filtrierer der Potter Cove (King George Island, Antarktis)“, von Jens Kowalke.

**Heft-Nr. 287/1998** – “Scientific Cooperation in the Russian Arctic: Research from the Barents Sea up to the Laptev Sea“, edited by Eike Rachor.

- Heft-Nr. 288/1998** – "Alfred Wegener. Kommentiertes Verzeichnis der schriftlichen Dokumente seines Lebens und Wirkens", von Ulrich Wutzke.
- Heft-Nr. 289/1998** – "Retrieval of Atmospheric Water Vapor Content in Polar Regions Using Spaceborne Microwave Radiometry", by Jungang Miao.
- Heft-Nr. 290/1998** – "Strukturelle Entwicklung und Petrogenese des nördlichen Kristallgürtels der Shackleton Range, Antarktis: Proterozoische und Ross-orogene Krustendynamik am Rand des Ostantarktischen Kratons", von Axel Brommer.
- Heft-Nr. 291/1998** – "Dynamik des arktischen Meereises - Validierung verschiedener Rheologieansätze für die Anwendung in Klimamodellen", von Martin Kreyscher.
- Heft-Nr. 292/1998** – "Anthropogene organische Spurenstoffe im Arktischen Ozean. Untersuchungen chlorierter Biphenyle und Pestizide in der Laptevsee, technische und methodische Entwicklungen zur Probenahme in der Arktis und zur Spurenstoffanalyse", von Sven Utschakovski.
- Heft-Nr. 293/1998** – "Rekonstruktion der spätquartären Klima- und Umweltgeschichte der Schirmacher Oase und des Wohlthat Massivs (Ostantarktika)", von Markus Julius Schwab.
- Heft-Nr. 294/1998** – "Besiedlungsmuster der benthischen Makrofauna auf dem ostgrönländischen Kontinentalhang", von Klaus Schnack.
- Heft-Nr. 295/1998** – "Gehäuseuntersuchungen an planktischen Foraminiferen hoher Breiten: Hinweise auf Umweltveränderungen während der letzten 140.000 Jahre", von Harald Hommers.
- Heft-Nr. 296/1998** – "Scientific Cruise Report of the Arctic Expedition ARK-XIII/1 of RV 'Polarstern' in 1997", edited by Michael Spindler, Wilhelm Hagen and Dorothea Stübing.
- Heft-Nr. 297/1998** – "Radiometrische Messungen im arktischen Ozean - Vergleich von Theorie und Experiment", von Klaus-Peter Johnsen.
- Heft-Nr. 298/1998** – "Patterns and Controls of CO<sub>2</sub> Fluxes in Wet Tundra Types of the Taimyr Peninsula, Siberia - the Contribution of Soils and Mosses", by Martin Sommerkorn.
- Heft-Nr. 299/1998** – "The Potter Cove coastal ecosystem, Antarctica. Synopsis of research performed within the frame of the Argentinean-German Cooperation at the Dallmann Laboratory and Jubany Station (King George Island, Antarctic 1991-1997)", by Christian Wiencke, Gustavo Ferreyra, Wolf Arntz & Carlos Rinaldi.
- Heft-Nr. 300/1999** – "The Kara Sea Expedition of RV 'Akademik Boris Petrov' 1997: First results of a Joint Russian-German Pilot Study", edited by Jens Matthiessen, Oleg V. Stepanets, Ruediger Stein, Dieter K. Fütterer, and Eric M. Galimov.
- Heft-Nr. 301/1999** – "The Expedition ANTARKTIS XV/3 (EASIZ II)", edited by Wolf E. Arntz and Julian Gutt.
- Heft-Nr. 302/1999** – "Sterole im herbstlichen Weddellmeer (Antarktis): Großräumige Verteilung, Vorkommen und Umsatz", von Anneke Mühlebach.
- Heft-Nr. 303/1999** – "Polare stratosphärische Wolken: Lidar-Beobachtungen, Charakterisierung von Entstehung und Entwicklung", von Jens Biele.
- Heft-Nr. 304/1999** – "Spätquartäre Paläoumweltbedingungen am nördlichen Kontinentalrand der Barents- und Kara-See. Eine Multi-Parameter-Analyse", von Jochen Knies.
- Heft-Nr. 305/1999** – "Arctic Radiation and Turbulence Interaction Study (ARTIST)", by Jörg Hartmann, Frank Albers, Stefania Argentini, Axel Bochert, Ubaldo Bonafé, Wolfgang Cohrs, Alessandro Conidi, Dietmar Freese, Teodoro Georgiadis, Alessandro Ippoliti, Lars Kaleschke, Christof Lüpkes, Uwe Maixner, Giangiuseppe Mastrantonio, Fabrizio Ravegnan, Andreas Reuter, Giuliano Trivellone and Abgelo Viola.
- Heft-Nr. 306/1999** – "German-Russian Cooperation: Biogeographic and biostratigraphic investigations on selected sediment cores from the Eurasian continental margin and marginal seas to analyze the Late Quaternary climatic variability", edited by Robert F. Spielhagen, Max S. Barash, Gennady I. Ivanov, and Jörn Thiede.
- Heft-Nr. 307/1999** – "Struktur und Kohlenstoffbedarf des Makrobenthos am Kontinentalhang Ostgrönlands", von Dan Seiler.
- Heft-Nr. 308/1999** – "ARCTIC '98: The Expedition ARK-XIV/1a of RV 'Polarstern' in 1998", edited by Wilfried Jokat.
- Heft-Nr. 309/1999** – "Variabilität der arktischen Ozonschicht: Analyse und Interpretation bodengebundener Millimeterwellenmessungen", von Björn-Martin Sinnhuber.
- Heft-Nr. 310/1999** – "Rekonstruktion von Meeresdrift und terrigenem Sedimenteintrag im Spätquartär: Schwermineralassoziationen in Sedimenten des Laptev-See-Kontinentalrandes und des zentralen Arktischen Ozeans", von Marion Behrends.
- Heft-Nr. 311/1999** – "Parameterisierung atmosphärischer Grenzschichtprozesse in einem regionalen Klimamodell der Arktis", von Christoph Abegg.
- Heft-Nr. 312/1999** – "Solare und terrestrische Strahlungswechselwirkung zwischen arktischen Eisflächen und Wolken", von Dietmar Freese.
- Heft-Nr. 313/1999** – "Snow accumulation on Ekströmsen, Antarctica", by Elisabeth Schlosser, Hans Oerter and Wolfgang Graf.
- Heft-Nr. 314/1999** – "Die Expedition ANTARKTIS XV/4 des Forschungsschiffes 'Polarstern' 1998", herausgegeben von Eberhard Fahrbach.
- Heft-Nr. 315/1999** – "Expeditions in Siberia in 1998", edited by Volker Rachold.
- Heft-Nr. 316/1999** – "Die postglaziale Sedimentationsgeschichte der Laptevsee: schwermineralogische und sedimentpetrographische Untersuchungen", von Bernhard Peregovich.
- Heft-Nr. 317/1999** – "Adaptation an niedrige Temperaturen: Lipide in Eisdiatomeen", von Heidi Lehmal.

\* vergriffen / out of print.

\*\* nur noch beim Autor / only from the author.

