



ABB. 1 Arten-, Formen- und Größenvielfalt berlin-brandenburgischer Diatomeen des Süßwassers im Lichtmikroskop.

Biodiversität und Sauerstoffproduktion in einer Glasschachtel

Kieselalgen – winzig, aber wichtig

JONAS ZIMMERMANN | NÉLIDA ABARCA | WOLF-HENNING KUSBER | OLIVER SKIBBE | REGINE JAHN

Kieselalgen (auch Diatomeen genannt, wissenschaftlich Bacillariophyta) sind mikroskopisch kleine eukaryotische Einzeller. Sie kommen in großer Zahl im Plankton sowie im Benthos aller marinen und limnischen Gewässer, aber auch aeroterrestrisch vor. Sie sind wichtige Primärproduzenten und erzeugen 25 Prozent des weltweiten Sauerstoffs. Innerhalb der Algen sind sie die artenreichste Gruppe (Abbildung 1) mit einer Diversität von geschätzt einer Viertelmillion Arten, von denen zurzeit nur zirka 10 Prozent bekannt und beschrieben sind. Ihr markantestes und namensgebendes Merkmal ist eine Zellwand aus Kieselsäure, die die einzelne Zelle wie eine Kiste mit Deckel umschließt und eine große Formenvielfalt mit vielen Details im Nanobereich zeigt. Auch die Evolution ihrer Stoffwechselwege und Plastiden weist spezifische Besonderheiten auf.

Sind Sie schon einmal in einem Gewässer auf Steinen mit einem olivgrünem Belag (Abbildung 2) ausgerutscht? Dann haben Sie bereits die Bekanntschaft mit Kieselalgen gemacht. Kieselalgen waren bereits zu Beginn des 18. Jahrhunderts mit Hilfe simpler Mikroskope sichtbar [1]. Die erste bekannte Abbildung einer Kieselalge ist in einem Brief aus dem Jahr 1703 an die Londoner Royal Society zu finden, die erste wissenschaftliche Beschreibung einer Kieselalgenart aus dem Kopenhagener Hafen fand aber erst gegen Ende des 18. Jahrhunderts durch den Naturforscher O. F. Müller statt: *Bacillaria paxillifera* – eine Art, deren Kolonien zu spektakulären Formveränderungen fähig sind (Abbildung 3, im Video zu sehen unter: https://www.europeana.eu/en/item/11627/ALGATERRA_BGBM_GERMANY_12) – wurde später zum wissenschaftlichen Namensgeber aller Kieselalgen. Bory de St.-Vincent beschrieb 1824 die unbewegliche Kieselalpengattung *Diatoma* und prägte damit den Trivialnamen Diatomeen. Für O. F. Müller gehörten die Kieselalgen zu den „Animalcula infusoria“, die von C. G. Ehrenberg, einem frühen

Pionier der systematischen Kieselalgenforschung sowie Begründer der Mikropaläontologie, ab den 1830er Jahren als „Infusionsthierchen“ bezeichnet wurden. Zu diesem Zeitpunkt wurden alle beweglichen Mikroorganismen von vornherein als Tiere klassifiziert. 1844 veröffentlichte F. T. Kützing eine Monografie über „kieselschalige Bacillarien“. Darin behandelte er Kieselalgen als Algen und stellte sie damit zu den Pflanzen.

In der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts war das Mikroskopieren von Kieselalgen bei wohlhabenden Bürger*innen sehr beliebt. Die Ästhetik dieser Organismengruppe wurde vor allem durch die Bildtafeln von Ernst Haeckel und die kunstvollen Salon-Legepräparate J. D. Möllers populär gemacht (Abbildung 4). Die eigentlich glasklaren Kieselschalen erstrahlen unter Dunkelfeldbeleuchtung vor dunklem Hintergrund. Durch Lichtinterferenz an den feinen Strukturen leuchten sie dabei in schillernden Farben. Auch Charles Darwin war 1866 von der Schönheit der Kieselalgen beeindruckt und widmete ihnen einige Zeilen in seinem bahnbrechenden Werk *On the Origin of Species*: „Few objects are more beautiful than the minute siliceous cases of the diatomaceæ: were these created that they might be examined and admired under the higher powers of the microscope? The beauty in this latter case, and in many others, is apparently wholly due to symmetry of growth“.

Morphologische Vielfalt der Kieselschalen

Die durchsichtigen Gehäuse der Kieselalgen bestehen im Wesentlichen aus zwei Teilen, einer Oberschale (► Epitheka) und einer Unterschale (► Hypotheka), die wie der Deckel und der Bodenteil einer Schachtel ineinander gesteckt sind (Abbildung 5a). Aufgrund dieser Zweiteiligkeit werden Kieselalgen auch als Diatomeen bezeichnet (altgriechisch *diätomos/diátomos* „zerschneidbar, trennbar“; *diá* „auseinander, durch“ *témnō* „schneiden“). Zwischen den beiden auch als ► Valven bezeichneten Schalen, die in ihrer Gesamtheit die ► Frustel darstellen, befinden sich noch als verbindende Elemente sogenannte ► Gürtelbänder, deren Aufgabe darin besteht, die beiden Valven auf flexible Weise zusammenzuhalten (Abbildung 5b). Die Form der Kieselschalen ist innerhalb der verschiedenen Kieselalgengruppen äußerst vielfältig: rund, flach, zylinderförmig, lang, einseitig oder beidseitig zugespitzt, gewölbt, gedreht (Abbildung 1). Auf und in den Schalen finden sich oft komplizierte Strukturen wie Rippen und Fortsätze. Außerdem gibt es Durchbrüche in der glasartigen, komplex aufgebauten Schale, die aus hydratisierter Kieselsäure ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) und organischen Komponenten besteht. Planktonbewohner sind eher filigran gebaut und haben oft lange Schwebefortsätze (Abbildung 6). Viele benthische Kieselalgen haben lange, schlitzförmige Schalendurchbrüche, die als Raphen bezeichnet werden. Sie ermöglichen den Zellen die gleitende Fortbewegung auf dem Substrat. Außerdem gibt es komplex angeordnete Reihen punktförmiger Schalendurchbrüche, die Poren oder Areolae



ABB. 2 Diatomeen bilden Biofilme z. B. auf Steinen.

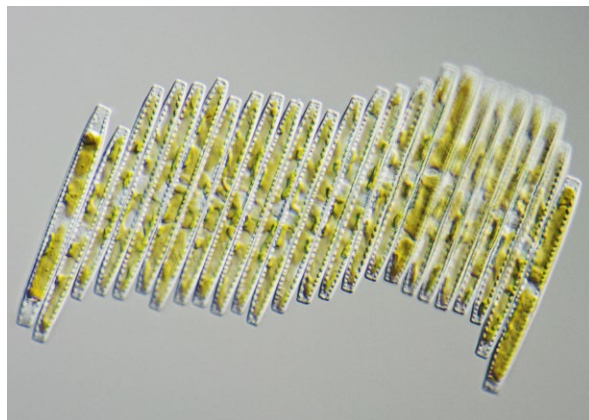


ABB. 3 Die erste wissenschaftlich beschriebene Kieselalge: *Bacillaria paxillifera* im Lichtmikroskop.

genannt werden. Unter dem Elektronenmikroskop ist erkennbar, dass diese Poren keine simplen Löcher sind, sondern siebartige Nanostrukturen enthalten (Abbildung 7a, b). Ähnliche Strukturen gibt es auch in den Gürtelbändern. Vermutlich dienen sie dem metabolischen Stoffaustausch und werden auch zur Ausscheidung von schleim- oder gallertartigen Substanzen eingesetzt.

IN KÜRZE

- Kieselalgen (wissenschaftlich Bacillariophyta, auch Diatomeen genannt) sind mikroskopisch kleine **eukaryotische Einzeller**.
- Sie sind wichtige Primärproduzenten, die **25 Prozent des weltweiten Sauerstoffs** generieren, und leben im Plankton sowie im Benthos aller marinen und limnischen Gewässer, aber auch in Böden.
- Ihre Morphologie ist sehr vielfältig und insbesondere durch die namensgebende **Zellhülle aus Kieselsäure** geprägt.
- Die Evolution ihrer Plastiden und auch ihrer Stoffwechselwege ist in ihrer Kombination **einzigartig innerhalb der Eukaryoten**.
- Kieselalgen sind die **artenreichste Gruppe innerhalb der Algen**, weltweit kann die Artendiversität nur geschätzt werden (zwischen 25.000 bis 250.000 Arten).
- Aufgrund ihrer großen Diversität, Individuendichte und ihrer artspezifischen Präferenz für Gewässertypen sind sie **ideale Bioindikatoren für Gewässergüte**.

Die mit einem grünen Pfeil markierten Begriffe werden im Glossar auf Seite 140 erklärt.

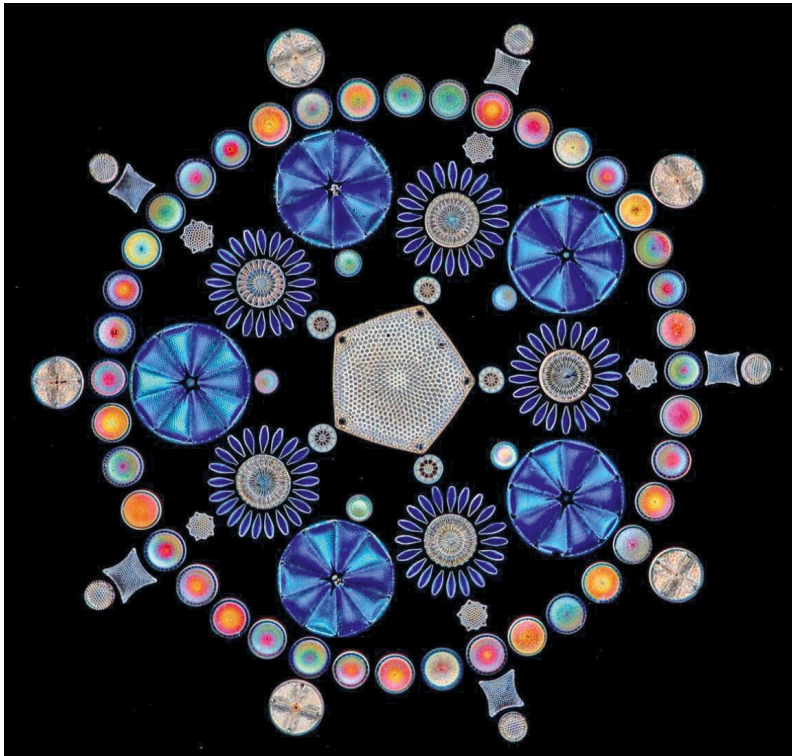


ABB. 4 Schalenpräparat gelegt von J. D. Möller, dargestellt im Dunkel-feld-Lichtmikroskop. Foto: Matthias Burba (Hamburg).

Immer wenn sich Kieselalgen vermehren, müssen sie im Inneren der umschlossenen Zelle zwei neue Kiesel-schalen bilden; im Laufe der Generationen werden die Schalen immer kleiner. Deshalb ist von Zeit zu Zeit ein Ausgleich nötig: Neue Schalen in maximaler Größe müssen angelegt werden. Das passiert meist im Rahmen der sexuellen Fortpflanzung durch Bildung einer sogenannten ► Auxospore. Manche Arten sind auch in der Lage, Auxosporen unabhängig von der sexuellen Fortpflanzung zu produzieren (Abbildung 8). Kieselalgen besitzen grünlich-braune Plastiden (Abbildung 9), in denen Carotinoidepig-

mente (z. B. β -Carotin, Diatoxanthin, Diadinoxanthin und Fucoxanthin) die grüne Farbe der Chlorophylle überlagern. Im Gegensatz zu den Chloroplasten der Landpflanzen und Grünalgen, die neben Chlorophyll *a* auch Chlorophyll *b* besitzen, haben die Plastiden der Kieselalgen eine Kombination von Chlorophyll *a* und *c*. Die Anzahl und Form der Plastiden variiert stark zwischen den Verwandtschaftskreisen (Abbildung 1).

Die große morphologische Vielfalt der Formen, Strukturen und Symmetrien der Kieselalgeschalen war seit dem 19. Jahrhundert die Grundlage ihrer Identifizierung und Klassifizierung; man folgte einem phänetischen oder morphologischen Artkonzept. Lange Zeit wurden Kieselalgen in die beiden Ordnungen Centrales (radiale Schalen-symmetrie, Zellen mit vielen Plastiden von geringer Größe) und Pennales (auch Pennate genannt; bilaterale Schalen-symmetrie, nur wenige große Plastiden, oft in Einzahl) eingeteilt. In neueren Klassifizierungen wie z.B. Round et al. [1] wurden drei Klassen innerhalb des Stammes Bacillariophyta aufgestellt und in einer aktuelleren Klassifikation [2] auf die vier Klassen Coscinodiscophyceae (radiär zentrisch), Mediophyceae (bipolar zentrisch), Fragilariophyceae (pennat araphid) und Bacillariophyceae (pennat raphid) erweitert. Diese Neugliederungen auf Basis zytologischer, morphologischer und molekularer Daten markieren wichtige Schritte auf dem Weg zu einem natürlichen System der Kieselalgen. Hinsichtlich ihrer Position innerhalb des Baumes des Lebens ordnet die jüngste Klassifikation auf der Grundlage eines phylogenomischen Ansatzes die Kieselalgen in die SAR-Supergruppe ein, eine aus den Stramenopiles, Alveolates und Rhizaria bestehende Untergruppe der Chromista. Kieselalgen werden innerhalb der Stramenopilen (Heterokonten) zusammen mit Braun- (Phaeophyta) und Goldalgen (Chrysophyta) - Gruppen, die neben Chlorophyll *a* auch *c* besitzen - aber auch mit heterotrophen Protisten platziert [3] (Abbildung 10).

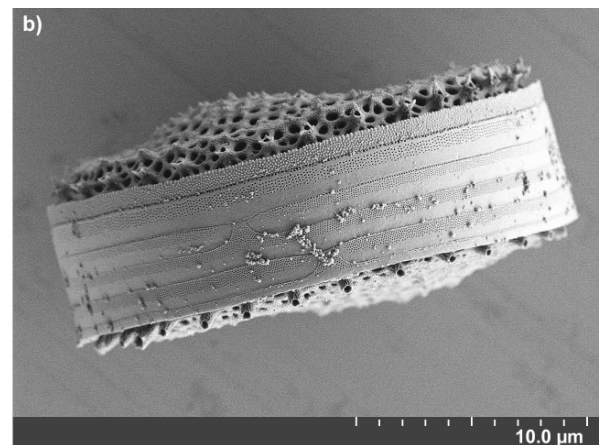
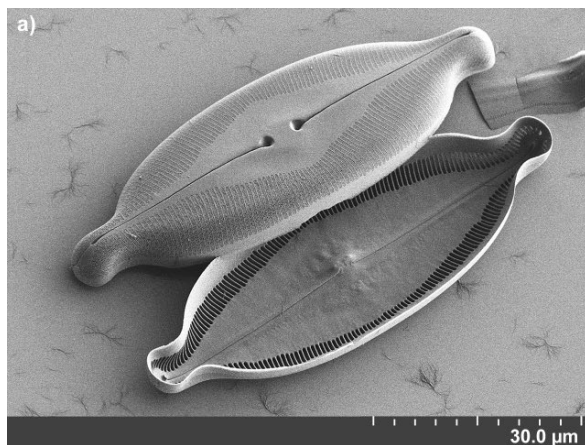


ABB. 5 Schachtelprinzip der Kieselalgen. a) Rasterelektronenmikroskopische Außen- und Innenansicht von Ober- und Unterschale der pennaten und raphentragenden Kieselalge *Caloneis amphibaena*. b) Gürtelbänder einer zentrischen Kieselalge der Gattung *Thalassiosira* in Seitenansicht (Rasterelektronenmikroskop).

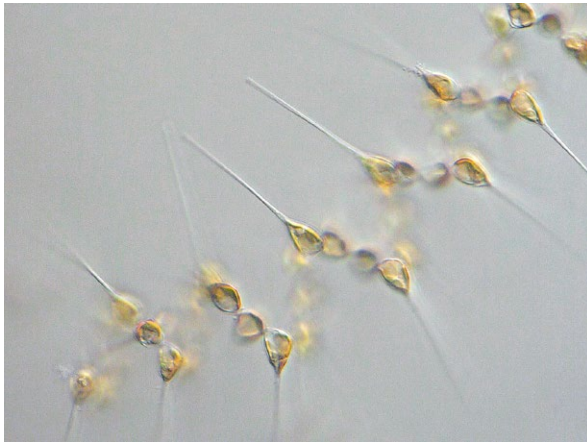


ABB. 6 Schwabefortsätze bei lebenden Kieselalgen der Art *Asterionellopsis glacialis* aus dem Watt bei Amrum im Lichtmikroskop.

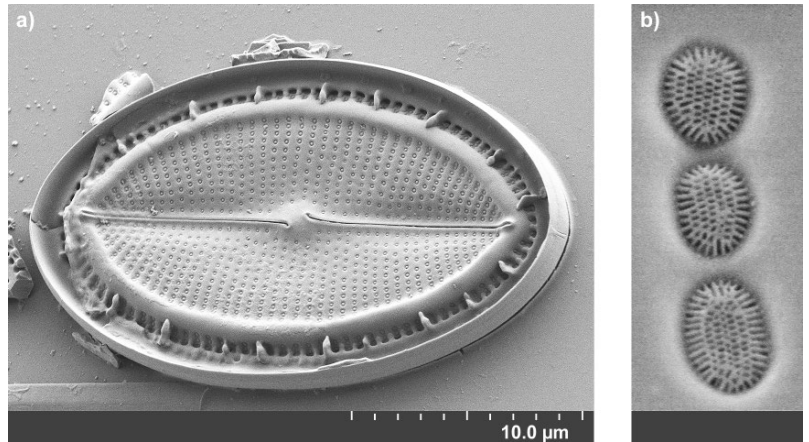


ABB. 7 Innenansicht einer Valve. a) Mit Raphe und angeheftetem Gürtelband, b) Porendetails bei *Cocconeis placentula* im Rasterelektronenmikroskop. Die Poren haben einen Durchmesser von ca. 200–250 nm.

Artenreich und weltweit verbreitet

Kieselalgen kommen in allen Gewässern der Erde vor, im Meer und Süßwasser, von den Tropen bis zu den Polen. Sie leben auch aeroterrestrisch in Böden und auf Oberflächen [1, 4]. Die Fotopigmente der Kieselalgen können blaues und grünes Licht gut nutzen. Deshalb findet man sie auch in tiefen Wasserzonen oder in beschatteten Bereichen von Gewässern, wo viele andere Algen nicht mehr existieren können. Wenige marine Arten kommen als Endosymbionten (z. B. in Foraminiferen) vor. Die Mehrzahl der aquatischen Kieselalgen lebt planktisch oder benthisch. Die benthischen Gemeinschaften können ► epilithisch, ► epiphytisch, ► epipsammisch, ► epizoisch, zwischen anderen Algen flottierend und mit Gallerten festgeheftet vorkommen [1]. Pennate (längliche) Kieselalgen, die eine Raphe in einer oder beiden Valven der Frustel besitzen können, dominieren benthische Habitate, da ihnen diese Struktur Mobilität zur Besiedlung dieser Habitate verleiht. Andererseits dominieren zentrische (runde) Diatomeen in der Wassersäule aufgrund ihrer Form sowie spezieller Fortsätze, die es ihnen erlauben, länger im Wasser schwebend zu verbleiben. Aber Vertreter beider Symmetrien leben auch in dem jeweils anderen Habitat. So ist z. B. *Bacillaria paxillifera* pennat, lebt aber planktisch; bei ihr ist es der Strömungswiderstand der Kolonie, der das Absinken verhindert. Gleiches gilt für viele raphenlose Pennales (*Tabellaria*, *Diatoma*, *Fragilaria*), die man im Süßwasserplankton findet. Auf der anderen Seite leben einige zentrische Arten sowie pennate Arten ohne Raphe auch im Benthos.

Der Kenntniszuwachs der Artendiversität ist hoch. So stieg die Anzahl bekannter Kieselalgentaxa des Süßwassers in Deutschland allein in den letzten 20 Jahren von 1437 auf 2103 [5]. Weltweit können wir die Artenzahlen nur schätzen, da viele Habitate wie das marine Benthos und abgelegene Süßwasserhabitate in den Tropen oder in Gebirgsregionen noch immer sehr schlecht erforscht sind.

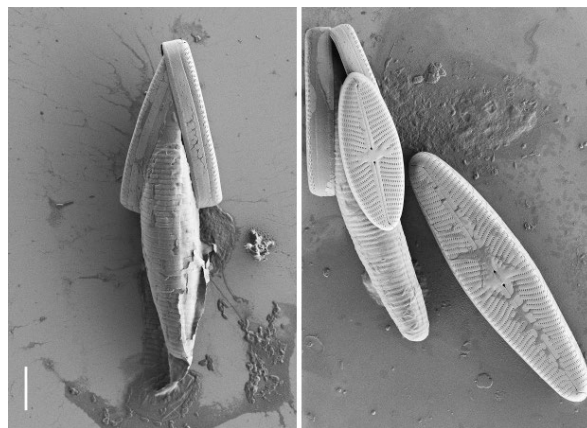


ABB. 8 Auxosporenbildung bei *Navicula reinhardtii* im Rasterelektronenmikroskop.

Die Gesamtzahl der zu erwartenden Kieselalgenarten schwankt zwischen konservativ geschätzten 25.000 Arten und mehr als 250.000 Arten, hochgerechnet aus den Ergebnissen von Einzelstudien, aus Kreuzungsexperimenten oder Abschätzungen molekularer Diversität, die einen hohen Anteil verborgener (kryptischer) Diversität erwarten lässt. Unsere eigenen Untersuchungen mit molekularen

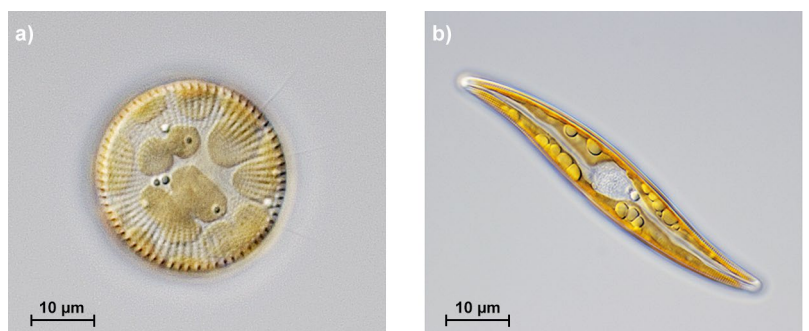
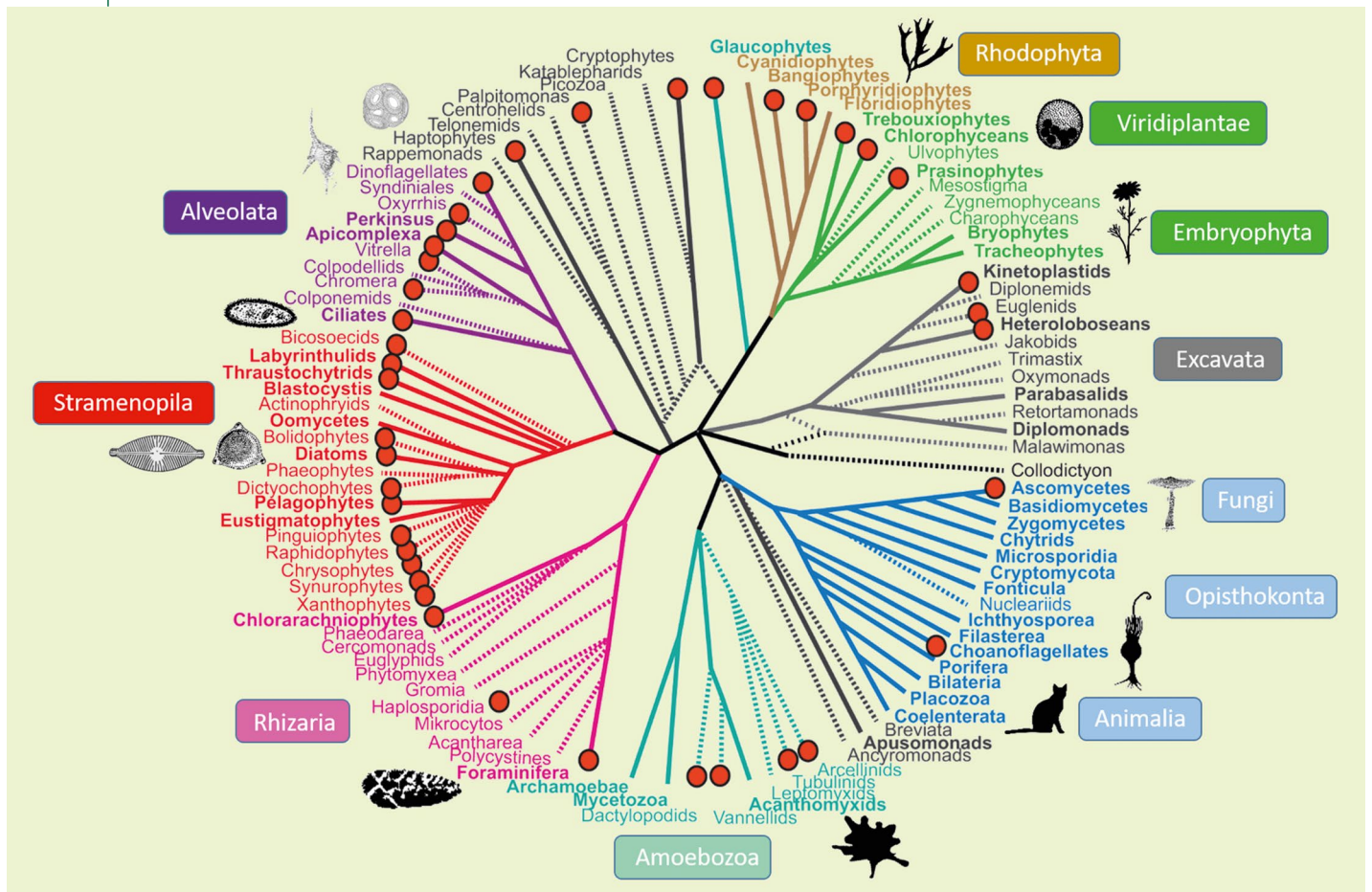


ABB. 9 Durch Carotinoidpigmente sind die Plastiden der Kieselalgen grünlich-braun gefärbt, hier zu sehen bei einer *Stephanodiscus*- (a) und einer *Gyrosigma*-Art (b).

ABB. 10 | BAUM DES EUKARYOTISCHEN LEBENS



Die Kieselalgen gehören zu den Stramenopila (rot). Abb. modifiziert nach [19].

und morphologischen Methoden deuten darauf hin, dass bisher nur zehn Prozent der zu erwartenden Kieselalgentaxa beschrieben worden sein könnten. So konnten z. B. mehr als ein Drittel der Kieselalgenarten in den bisher untersuchten Regionen Mexikos mit der aktuellen, meist europäischen Bestimmungsliteratur keiner bekannten Art zugeordnet werden; sie werden als neu für die Wissenschaft beschrieben [6].

Resultat mehrerer Endosymbioseereignisse

Die Kieselalgen sind eine recht junge Organismengruppe. Erst beginnend mit dem frühen Jura vor etwa 190 Millionen Jahren liegt ein umfangreicher Fossilienbeleg vor. Molekulare Berechnungen deuten jedoch auf einen früheren Ursprung während der Trias vor 240 Millionen Jahren hin. Dieser Unterschied von 60 Millionen Jahren zwischen den ältesten Fossilien und den Aussagen der molekularen Uhren lässt vermuten, dass die frühesten Diatomeen noch nicht verkieselt waren. Es wird davon ausgegangen, dass die frühesten Kieselalgen im Meer lebten und die erste größere Besiedlung von Süßwasserhabitaten im frühen Känozoikum stattfand, obwohl kleinere Besiedlungen von Süßwasserhabitaten bereits vor über 60 Mio Jahren im Mesozoikum stattgefunden haben könnten [7].

Die Vorfahren der Kieselalgen sind anscheinend in mehreren Endosymbioseereignissen entstanden. Die erste Endosymbiose ereignete sich vor etwa 1,5 Milliarden Jahren, indem ein eukaryotischer heterotropher Einzeller ein Cyanobakterium bei einer unvollständigen Phagozytose aufgenommen hatte und zum Vorfahren aller Glaucophyten, Chlorophyten und Rhodophyten sowie Landpflanzen wurde. Die zweite Endosymbiose ereignete sich etwa eine Milliarde Jahre später, als ein weiterer eukaryotischer heterotropher oder mixotropher Organismus eine Rhodophytenzelle aufnahm. Aus dem Rotalgenendosymbionten wurden schließlich die Plastiden der Chromista (einer großen Gruppe von Algen, deren Plastiden durch Carotinoide braun gefärbt sind, und zu denen neben den Bacillariophyta u. a. auch Haptophyta, Chrysophyceae, Xanthophyceae und Phaeophyceae gehören). Es gibt weitere Besonderheiten der Kieselalgen, die auf Endosymbiosen zurückzuführen sind. Dazu gehören beispielsweise ein vollständiger Harnstoffzyklus, vierschichtig von Membranen umhüllte Plastiden, sowie die Fähigkeit Fettsäuren zu produzieren und zu oxidieren, um Stoffwechselzwischenprodukte zu erzeugen [8–10]. Außerdem hatten zwei weitere bedeutende Ereignisse in der Evolution der Kieselalgen großen Einfluss auf ihr Genom: Während der ersten Endosymbiose fand ein

horizontaler Gentransfer von Chlamydien (obligat intrazelluläre Bakterien) statt. Die Entdeckung einer großen Anzahl von Grünalgenengen im Genom der Kieselalgen und anderen Chromista lässt vermuten, dass sie eine Zeitlang neben dem Rotalgen-Endosymbionten auch noch einen Grünalgen-Endosymbionten besaßen.

Kieselalgen als ▶ Bioindikatoren

Kieselalgen besitzen eine große Diversität, entwickeln hohe Individuendichten, sind weit verbreitet und haben einen kurzen Lebenszyklus. Ihre Position an der Basis aquatischer Nahrungsnetze und ihr spezifisches Vorkommen in bestimmten Gewässertypen sowie die relativ einfache Probenahme, Präparation, Quantifizierung und Archivierung machen Kieselalgen zu idealen Indikatoren der Wasserqualität [11]. Die hohe Beständigkeit der Kieselalgschalen ermöglicht es, ihr Vorkommen sogar in fossilen Sedimenten und Bohrkernen abzulesen und für paläoklimatische Untersuchungen zu nutzen. Schon vor mehr als hundert Jahren fiel den Gewässerkundlern Kolkwitz und Marsson in Berlin auf, dass das Auftreten bestimmter Arten bzw. Artengemeinschaften an die Gewässergüte gebunden ist. Sie entwickelten das erste System zur Bewertung von Gewässern (Saprobien-system), in dem die Kieselalgen eine wichtige Rolle spielten und schufen damit die Grundlage für das moderne Biomonitoring. Später wurde, beginnend mit Kolbe, ein Verfahren für die Indikation von Salzgehalten von Gewässern erarbeitet (Halobiensystem). Trotz verbesserter chemisch-physikalischer Untersuchungsmethoden im Laufe des letzten Jahrhunderts legte die EU-Wasser-rahmenrichtlinie (WRRL) von 2000 einen Fokus wieder auf Bioindikation vor allem trophischer Verhältnisse, da diese Methode nicht nur zeitlich punktuelle chemisch-physikalische Aussagen ermöglicht, sondern die Wirkungen längerfristiger Umwelteinflüsse auf Organismen indiziert. Zielsetzung der WRRL war es, einen Ordnungsrahmen für den Schutz der Gewässer zu schaffen, um dadurch einen guten ökologischen und chemischen Zustand der Gewässer zu erreichen. Um Veränderungen in Qualität und Quantität von Flora und Fauna zu erkennen, benötigt man Referenzzustände, d. h. Gewässer der einzelnen Gewässertypen in sehr gutem Zustand. Diese Gewässer gibt es kaum noch in Deutschland, aber vereinzelt helfen Auswertungen archivierter Proben in naturhistorischen Sammlungen oder von Sedimenten bei der Referenzerstellung weiter. Durch jahrzehntelange Kieselalgenanalysen haben wir inzwischen eine relativ gute Kenntnis über ökologische Präferenzen verschiedener Arten sowie von ihrem Vorkommen und Gefährdungsgrad in verschiedenen Gewässertypen [5, 12] (für die verschiedenen und weltweiten Entwicklungen der Bioindikation siehe [11]).

Bestimmungsmethoden im Wandel

Aufgrund vielfältiger Merkmale der Kieselalgschalen erscheint das Bestimmen von Kieselalgen im Gegensatz zu anderen Einzellern auf den ersten Blick relativ einfach. Da

die Merkmale der Kieselalgschale in einem hochauflösenden Lichtmikroskop gut zu sehen sind, spielen Lebendbeobachtung für die Bestimmung heutzutage kaum eine Rolle mehr. Es bedarf allerdings einiger spezifischer Präparationsschritte, um die entsprechenden Merkmale sichtbar zu machen. Durch chemische Oxidation wird das gesamte organische Material aus einer Probe entfernt, damit nur noch die Schalen der Kieselalgen übrig bleiben. Diese werden dann in einem hochbrechenden Medium (z. B. Naphrax) eingebettet, damit das Präparat bei höchster Vergrößerung unter Ölimmersion mikroskopisch untersucht werden kann. Wenn dann noch ein passendes Bestimmungsbuch zur Hand ist, sind die Diatomeen mit etwas Übung zumindest bis auf das Niveau der Gattung gut zu bestimmen. Die sichere Bestimmung bis zur Art verlangt dagegen jahrelange Erfahrung. Für die mitteleuropäischen Süßgewässer gibt es ein aktuelles Bestimmungsbuch für häufige Arten [12]. In anderen Regionen sind oft nur Teilfloren vorhanden bzw. Internetdatenbanken im Aufbau (z. B. Diatoms.org für Nordamerika, Jüttner et al. für England und Irland, <https://naturalhistory.museumwales.ac.uk/diatoms/Home.php>). Nach Einführung der Elektronenmikroskopie in den 1940er Jahren wurden Diatomeen zunächst im Transmissionselektronenmikroskop untersucht. Seit den 1980er Jahren wurde das Rasterelektronenmikroskop zu einem wichtigen Werkzeug bei der Untersuchung mikromorphologischer Strukturen von Kieselalgschalen. Mit den neuesten Feldemissionselektronenmikroskopen werden sogar Details im Nanobereich sichtbar, die bei der Identifizierung schwer bestimmbarer Arten hilfreich sein können (Abbildung 11).

Zur Erforschung der Verwandtschaftsbeziehungen der Kieselalgen werden seit den 2000er Jahren vermehrt molekulare Methoden genutzt. Die DNA-Sequenzen bestimmter Gene aus dem Zellkern (z. B. 18S und 28S) und aus den Plastiden (*rbcL*) entwickeln sich zu einem Standard für die molekulare ▶ Taxonomie. Die dazu benötigte DNA stammt entweder aus monoklonalen (unialgalen) Kulturen oder wird ggf. aus einzelnen Zellen einer spezifischen Art isoliert. Die erhaltenen DNA-Sequenzen einer Art werden mit Sequenzen anderer Isolate verglichen (aligniert) und diversen statistischen Verfahren unterzogen, um ihre Verwandtschaftsverhältnisse anhand des vorliegenden Merkmalsdatensatzes zu ergründen. Diese werden dann häufig in Kladogrammen visualisiert. Große Hürden für diese neue Methode sind die Einzelzellisolierung und das Erstellen von unialgalen Kulturen, denn das Isolieren einzelner meist kleiner Algen erfordert große Geschicklichkeit. Das Kultivieren von Zellen für die DNA-Sequenzierung ist mühselig und benötigt viel Zeit. Aber dieser Aufwand ist gerechtfertigt, da man anhand der Kulturen auch Erkenntnisse über die Schalenvariabilität (hinsichtlich Größe, Form und Musterung) einzelner Arten gewinnt, insbesondere wenn einige Kulturen Auxosporen bilden, d. h. sich ihre Zellen um das Vielfache vergrößern und somit wenig Ähnlichkeit mit den Ausgangszellen haben.

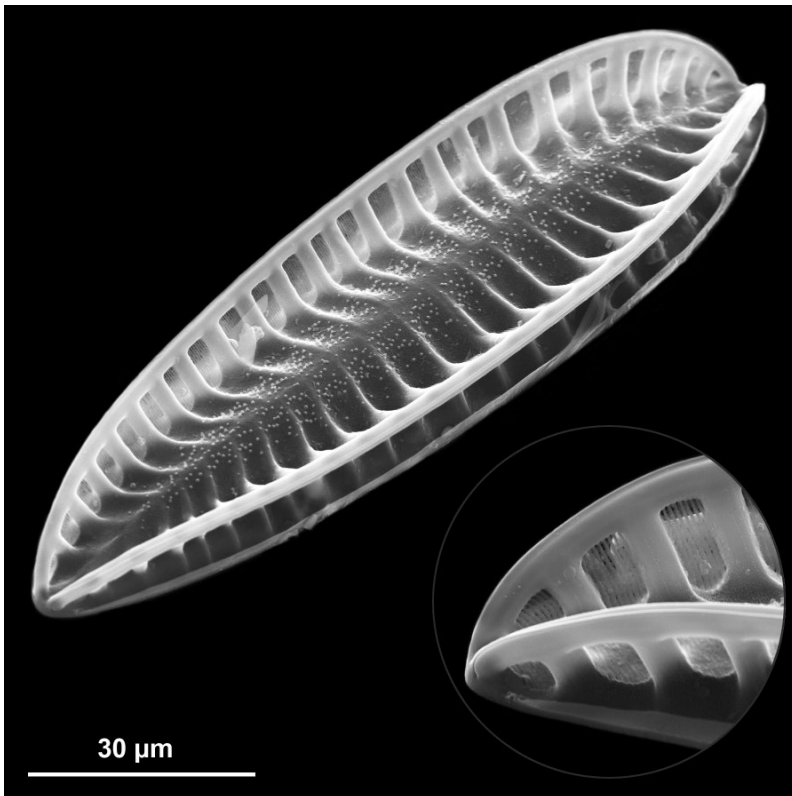


ABB. 11 Außenansicht (Rasterelektronenmikroskop) einer Valve von *Iconella* sp. mit umlaufender Raphe auf Stelzen. Detailaufnahme: Die Hohlräume zwischen den Stelzen sind mit verstärkenden aber leichten Strukturen gefüllt.

Der Vergleich von molekularen Daten und morphologischen Merkmalen hilft dabei, bestimmte Charakteristika einer Art als Bestimmungskriterium zu stützen oder in Frage zu stellen. Durch das Zusammenführen der molekularen Daten mit den morphologischen und mikromorphologischen Bildern in einer Internetdatenbank wird die Erstellung einer Referenzdatenbank (Reference Library) ermöglicht. Um allen Erfordernissen der Nutzenden in Praxis und Forschung sowie den Forschungsförderern gerecht zu werden, werden Sammlungsdaten mit Bildokumentation und Namensdaten sowie molekulare Forschungsprimärdaten in einer taxonomischen Datenbank (<http://www.algaterra.org>) zusammengeführt. Alle Datenbanken sind ohne Restriktion über das Internet abfragbar, und die relevanten Daten werden zusätzlich an internationale Datenbanken wie die Global Biodiversity Information Facility (GBIF) übermittelt.

GBOL²: German Barcoding of Life

► DNA-Barcoding und ► DNA-Metabarcoding für Umweltprouben bieten in der Anwendung, im Probanddurchsatz und hinsichtlich der Reproduzierbarkeit wesentliche Vorteile und werden deshalb zunehmend als Alternative zu den traditionellen, rein morphologiebasierten Bestimmungsmethoden eingesetzt. DNA-Barcoding nutzt einen kurzen genetischen Marker in der DNA eines Organismus

[13], um ihn eindeutig einer bestimmten Art, unabhängig von dem Stadium in seinem Lebenszyklus, zuzuordnen. Dies erreicht man durch den Vergleich mit einer Referenzdatenbank. Für das Metabarcoding von Umwelt-DNA (► eDNA) wird die in einer Umweltprobe vorhandene Barcode-DNA zunächst amplifiziert und danach einer Hochdurchsatzsequenzierung (High Throughput Sequencing, HTS) unterzogen. Nach der Sequenzierung wird eine Analysepipeline verwendet, die mehrere bioinformatische Verfahren kombiniert und zu einer Liste von ► Molecular Operational Taxonomic Units (MOTUs) führt. Die Liste der MOTUs kann dann den morphologisch sowie molekular identifizierten Taxoneinträgen aus DNA-Referenzbibliotheken zugeordnet werden, was zu einer Artenliste führt, die bei der Beurteilung der Wasserqualität verwendet werden kann. Gegenwärtig befinden sich sowohl taxonomieunabhängige als auch auf Supervised Machine Learning (SML) basierte Verfahren in Kombination mit eDNA-Metabarcoding in einer frühen Testphase und werden für zukünftige Anwendungen im sogenannten Next Generation Biomonitoring sehr interessant. Nichtsdestotrotz sind solche hochinnovativen Ansätze weiterhin auf robuste Eichdatensätze angewiesen, die auf chemischen, taxonomischen sowie ökologischen Daten basieren.

Innerhalb des vom Bundesministerium für Forschung geförderten Projekts GBOL² (2016–2019) konnten wir in den letzten Jahren mehr als 2000 Kieselalgenkulturen aus deutschen bzw. mitteleuropäischen Gewässern erstellen, die über 420 Arten aus 77 Gattungen umfassen. Da für Deutschland bisher 2103 Kieselalgentaxa (morphologisch) beschrieben sind [5], haben wir damit erst 1/5 der bekannten Kieselalgenflora Deutschlands mit molekularen Methoden erfasst. Eine grundlegende Erkenntnis für uns war, dass es eine deutlich größere genetische Artenvielfalt gibt, als ihre Morphologie erwarten lässt (Stichwort: cryptic species) [14]. Für einige Gruppen allerdings, die eine große morphologische Variabilität in ihrer Umrissform haben, konnte interessanterweise auch das Gegenteil gezeigt werden (Stichwort: overdescription) [15]. Da viele Kieselalgenarten zuerst in Deutschland beschrieben wurden, ist unser Datensatz international von großer Bedeutung, weil mit seiner Hilfe Funde auf anderen Kontinenten mit den mitteleuropäischen Konzepten verglichen werden können. Zusätzlich zu der Erstellung von Referenzbibliotheken und den höher auflösenden Artmerkmalen ermöglichen uns die erarbeiteten Daten, seit langem ungelöste phylogenetische Fragen zu klären.

Der Fall *Gomphonella olivacea*

Namen sind Schall und Rauch? Die häufigste *Gomphonema*-Art in Mitteleuropa ist keine *Gomphonema*! In den 2000er Jahren kooperierten wir mit Kollegen von der Universität Göttingen, die mit Hilfe DNA-basierter Methoden die Diatomeen (und Cyanobakterien) an den Sinterterrassen eines Mittelgebirgsbaches in Deutschland bestimmen wollten. Bei der Durchsicht der gefundenen Arten fiel uns



ABB. 12 Kolonie von *Gomphonella olivacea* auf kurzen Stielen.

auf, dass eine der wichtigsten Arten aus den Flüssen Mitteleuropas – *Gomphonema olivaceum* (Abbildung 12) – nicht auf der Taxaliste stand. Die naheliegende Annahme, dass das häufige aber unbestimmbare MOTU – nur mit dem allgemeinen Begriff Cymbellales bezeichnet – mit der gesuchten Art übereinstimmen könnte, wurde verworfen, weil dieses Cymbellales-MOTU nach molekularen Befunden keine *Gomphonema* sein konnte. Im BMBF-finanzierten Projekt GBOL² gelang es unserer Forschungsgruppe, einige Kulturen von *Gomphonema olivaceum* zu erstellen. Als der 18S-Sequenzvergleich eine Übereinstimmung von *Gomphonema olivaceum* mit diesem Cymbellales-MOTU ergab, war das Erstaunen groß. Wenn aber die Art *Gomphonema olivaceum* nach molekularen Befunden keine *Gomphonema* sein kann, wie im europäischen Raum bisher akzeptiert [12], zu welcher Gattung gehört sie dann? Vielleicht sollte sie doch *Gomphoneis olivacea* heißen, wie sie im englischsprachigen Raum nach Ultrastrukturbefunden der Forscherin Dawson seit den 1980er Jahren genannt wurde?

Um zu prüfen, ob die Art wirklich dieselbe ist, die der Erstbeschreiber meinte, muss der Typus angeschaut werden. Der Typus ist das Eichpräparat, das in jeder Neubeschreibung zitiert und in einer öffentlichen Sammlung hinterlegt sein muss. Datenbanken halfen uns, den Namen auf Prof. Hornemann zurückzuführen, der 1810 ein Bild mit dem Namen *Ulva olivacea* in der *Flora Danica* veröffentlicht hatte, das eine olivgrüne Gallertmasse zeigt. Die erste Reaktion der Kollegin aus dem Kopenhagener Herbarium war: „Das kann doch keine Diatomee sein!“ Unsere Bitte, uns das Material für weitere Untersuchungen zu schicken, löste eine Suche aus, denn das Material war 50 Jahre zuvor in die USA ausgeliehen worden, wo es glücklicherweise ein halbes Jahr später gefunden wurde. Unsere Spannung war groß, ob dieses vor über 200 Jahren gesammelte Material wirklich die gesuchte Art war. Ergebnis: Das heutige Artkonzept entspricht dem Typus! Wir

machten viele lichtmikroskopische Fotos der Population vom Typuspräparat sowie der aktuellen Kulturen und der Populationen, aus denen die Kulturen stammten, um die Morphometrie und die Variabilität der Valven zu dokumentieren. Außerdem wurden hoch auflösende Bilder der Valvendurchbrüche (Areolen) im Feldemissionselektronenmikroskop an nicht mit Gold bedampften Proben gemacht, wie sie vorher noch nicht möglich und daher nicht bekannt waren.

In der mehr als zweihundertjährigen Forschungsgeschichte wurde die Art mehrfach verschiedenen Gattungen zugeordnet. Rabenhorst hatte 1853 als Erster die Kombination *Gomphonella olivacea* vorgeschlagen, die in der Folgezeit wieder vergessen worden war. Es zeigte sich, dass die Art aufgrund der molekularen und morphologischen Daten nicht zur Gattung *Gomphonema* gehören konnte [15, 16]. Außerdem belegten die von uns gewonnenen Daten, dass sie auch nicht zur Gattung *Gomphoneis* gehören kann, insbesondere da diese Gattung in ihrem bisherigen Konzept nicht monophyletisch war [17]. Wir entschieden uns deshalb dafür, den Namen *Gomphonella olivacea* zu verwenden, die Artbezeichnung, die bereits eingeführt aber später wieder verworfen worden war. Die Art *Gomphonella olivacea* blieb nicht die einzige in dieser Gattung. So beschrieben wir weitere neue Arten aus unseren Kulturen: *Gomphonella acsiae* aus dem Plattensee (Ungarn), *Gomphonella coxiae* (aus Brandenburg) und *Gomphonella tegelensis*, eine Neobiontin für Deutschland, die 2009 erstmals im gut untersuchten Tegeler See in Berlin auftrat, nicht kultivierbar war, aber während GBOL² durch genetische und morphologische Untersuchung einzelner Zellen analysiert werden konnte [17, 18].

Zusammenfassung

Kieselalgen, auch Diatomeen genannt, sind meist photoautotrophe, mikroskopisch kleine, einzellige Eukaryoten und enorm wichtige Primärproduzenten, die mindestens 25 Prozent des globalen Sauerstoffs produzieren. Kieselalgen leben im Plankton sowie im Benthos aller marinen und limnischen Ökosysteme, aber auch teilweise in terrestrischen Ökosystemen. Herausragendes Merkmal der artspezifisch sehr vielfältigen Morphologie ist die namensgebende Zellwand aus Kieselsäure. Die Endosymbioseereignisse und die Evolution ihrer Plastiden sowie die spezifische Kombination von Stoffwechselwegen sind einzigartig. Die Artendiversität der Kieselalgen, die die artenreichste Gruppe der Algen repräsentieren, ist zu diesem Zeitpunkt nur grob zu schätzen. Sie wird mit Hilfe von Integrativer Taxonomie (Analyse von Kulturen, Morphologie, Genetik, etc.) erforscht. Kieselalgen sind aufgrund ihrer hohen Artendiversität, Individuendichte und des artspezifischen Vorkommens in allen Gewässertypen ideale Bioindikatoren für Gewässergüteeinschätzungen mit Hilfe von mikroskopischen und auch zunehmend DNA-basierten Verfahren.

GLOSSAR

Auxosporen: Werden gebildet, um die maximale Zellgröße einer Art/Population wiederherzustellen, da Diatomeen beim Vermehrungsteilen immer kleiner werden. Häufig, aber nicht immer, geht eine sexuelle Fortpflanzung damit einher.

Bioindikator: Organismus, der sehr empfindlich und spezifisch auf Änderungen in seinem Lebensraum reagiert und dadurch als Anzeiger für die Umweltqualität dienen kann.

DNA-Barcoding: Identifikation eines Organismus über einen DNA-Barcode. Bei diesem handelt es sich um ein kurzes Stück des Genoms (Gesamtheit aller Gene), das in allen zu untersuchenden Organismen vorkommt und in der Regel zur Artunterscheidung nutzbar ist. Voraussetzung für eine erfolgreiche Identifikation ist die eindeutige Zuordnung zu einem in einer öffentlich zugänglichen und wissenschaftlich kuratierten Datenbank hinterlegten Referenzbarcode, der idealerweise aus einem wissenschaftlich dokumentierten Belegexemplar der Art gewonnen wurde.

DNA-Metabarcoding: Hochdurchsatz-(HTS)-Methode zur DNA-basierten Identifikation von Organismen in einer Umweltprobe, über die die Zuordnung einer Vielzahl von Sequenzen (DNA-Barcodes) in dieser Umweltprobe zu Referenzdaten in einer Datenbank funktioniert. So kann verhältnismäßig schnell die Diversität in Ökosystemen nachgewiesen und/oder evaluiert werden.

eDNA: (environmental DNA, Umwelt-DNA): DNA, die aus einer Umweltprobe (z. B. Boden-, Biofilm-, Wasser- oder Luftprobe) und nicht aus einem einzelnen Individuum stammt. eDNA enthält Spuren von DNA verschiedener in der beprobten Umwelt vorkommender Organismen.

epilithisch: (altgr. *ἐπί* *epi* ‚auf‘, ‚über‘ und *λίθος* *lithos* ‚Stein‘) auf Gesteinsoberflächen (Steinen) vorkommende Organismen.

epiphytisch: (altgr. *ἐπί* *epi* ‚auf‘, ‚über‘ und *φυτόν* *phyton* ‚Pflanze‘) auf der Oberfläche von Pflanzen (d. h. im Wasser Seegras oder Algen) vorkommende Organismen.

epipsammisch: (altgr. *ἐπί* *epi* ‚auf‘, ‚über‘ und *ψάμμος* *psammos* ‚Sand‘) auf und in der obersten Sandschicht der Gewässer vorkommende Organismen.

Epitheka/Hypotheka: Bezeichnung für die obere und untere Schale, die gemeinsam die Frustel bzw. Zellwand bilden, die die Diatomeenzelle umhüllt. Sie werden innerhalb des äußeren Plasmalemmas ausgebildet.

epizoisch: (altgr. *ἐπί* *epi* ‚auf‘, ‚über‘ und *ζῶον* *zōon* ‚Lebewesen, Tier‘) auf der Oberfläche (d. h. Haut, Haar oder Federkleid, Exoskelett oder Gehäuse) von lebenden Tieren vorkommende Organismen.

Frustel: Gesamte schachtelförmige Zellhülle der Kieselalgen bzw. Diatomeen bestehend aus Epitheka und Hypotheka bzw. zwei Valven plus Gürtelbändern, besteht überwiegend aus Siliziumdioxid.

Gürtelbänder (Cingulum): Ein Bestandteil der Frustel. Das Gürtelband besteht meist aus mehreren ringförmigen Streifen (Copulae). Es befindet sich zwischen den beiden Schalenhälften und hält diese zusammen.

MOTU (Molecular Operational Taxonomic Unit): OTU ist eine operative Definition, die zur Klassifizierung von Gruppen eng verwandter Organismen verwendet wird. Heutzutage wird der Begriff „OTU“ jedoch auch in einem anderen Zusammenhang verwendet und bezieht sich auf Cluster von (unkultivierten oder unbekannt) Organismen, gruppiert nach der DNA-Sequenzähnlichkeit eines spezifischen taxonomischen Markergens (MOTU). MOTUs sind pragmatische Proxies für „Arten“ (mikrobielle oder metazoische) auf verschiedenen taxonomischen Ebenen in Abwesenheit traditioneller biologischer Klassifikationssysteme, wie sie für makroskopische Organismen zur Verfügung stehen.

Taxonomie: Wissenschaft der Entdeckung, Beschreibung, Klassifizierung und Benennung von Organismen.

Valve (Mehrzahl Valvae): lat. Flügel einer Tür, bei Diatomeen Bezeichnung einer einzelnen Kieselschale; eine Valve plus Gürtelbänder bilden die Epi- oder Hypotheka; zwei Valven plus Gürtelbänder bilden die Frustel.

Summary

Diatoms – tiny but important

Biodiversity and oxygen production in a glass box

Diatoms are mainly photoautotrophic, microscopic, unicellular eukaryotes and enormously important primary producers, producing at least 25 per cent of global oxygen. Diatoms live in plankton as well as in the benthos of all marine and limnic ecosystems, but also to some extent in terrestrial ecosystems. The outstanding feature of the species-specific very diverse diatom morphology is the cell wall made of silica. The endosymbiosis events and evolution of their plastids as well as the specific combination of metabolic pathways are unique. The species diversity of diatoms, which represent the most species-rich group of algae, can only be roughly estimated at this time. This species diversity is being explored using integrative taxonomy (analysis of cultures, morphology, genetics, etc.). Diatoms are ideal bioindicators for water quality assessments using microscopic and increasingly DNA-based methods due to their high species diversity, individual density and species-specific occurrence in all types of water bodies.

Schlagworte:

Integrative Taxonomie, DNA-Barcoding, Metabarcoding, Kieselalgen, Biomonitoring.

Literatur

- [1] F. E. Round et al. (1990). The diatoms. Biology, and morphology of the genera. Cambridge University Press, Cambridge.
- [2] E. J. Cox (2015). Diatoms, Diatomeae (Bacillariophyceae s.l., Bacillariophyta). In: W. Frey, editor. Syllabus of plant families 2/1. Photoautotrophic eukaryotic Algae. Borntraeger Science Publishers, Stuttgart, 64–103.
- [3] P. J. Keeling et al. (2014). The Marine Microbial Eukaryote Transcriptome Sequencing Project (MMETSP): Illuminating the Functional Diversity of Eukaryotic Life in the Oceans through Transcriptome Sequencing. PLOS Biology, doi.org/10.1371/journal.pbio.1001889
- [4] J. Seckbach, J. P. Kociolek (Hrsg.) (2011). The Diatom World. Springer, Dordrecht et al.
- [5] G. Hofmann et al. (2018). Rote Liste und Gesamtartenliste der limnischen Kieselalgen (Bacillariophyta) Deutschlands – In: D. Metzger et al. (Red.): Rote Liste gefährdeter Tiere, Pflanzen und Pilze Deutschlands. Band 7: Pflanzen. Landwirtschaftsverlag, Münster, Naturschutz und Biologische Vielfalt, 70 (7), 601–708.
- [6] D. Mora (2018). An integrative approach to epilithic diatom diversity analysis in tropical streams from the Lerma-Chapala Basin, Central Mexico. Dissertation, Freie Universität Berlin. urn:nbn:de:kobv:188-refubium-23033-5, http://dx.doi.org/10.17169/refubium-831
- [7] P.A. Sims, D.G. Mann, L.K. Medlin (2006). Evolution of the diatoms: insights from fossil, biological and molecular data, Phycologia 45, 361–402.
- [8] E. V. Armbrust (2009). The life of diatoms in the world's oceans. Nature 459, 185–192. https://doi.org/10.1038/nature08057.
- [9] A. E. Allen et al. (2011). Evolution and metabolic significance of the urea cycle in photosynthetic diatoms. Nature 473, 203–207, https://doi.org/10.1038/nature10074
- [10] R. G. Dorrell, A. G. Smith (2011). Do red and green make brown? Perspectives on plastid acquisitions within chromalveolates. Eukaryotic Cell 10, 856–868, https://doi.org/10.1128/EC.00326-10

- [11] J. P. Smol, E. F. Stoermer (Hrsg.) (2010), *The Diatoms. Applications for the Environmental and Earth Sciences*. Cambridge University Press, Cambridge, 2. Aufl.
- [12] G. Hofmann, M. Werum, H. Lange-Bertalot (2013). *Diatomeen im Süßwasser-Benthos von Mitteleuropa*. Koeltz Scientific Books, Königstein.
- [13] J. Zimmermann (2015). *DNA Barcoding and eDNA Barcoding in Diatoms*. Dissertation, Julius-Liebig-Universität Gießen. URN: urn:nbn:de:hebis:26-opus-112812, URL: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2015/11281/>
- [14] R. Jahn et al. (2017). *Planothidium lanceolatum* and *Planothidium frequentissimum* reinvestigated with molecular methods and morphology: four new species and the taxonomic importance of the sinus and cavum. - *Diatom Research* 32(1): 75–107, <http://dx.doi.org/10.1080/0269249X.2017.1312548>
- [15] N. Abarca et al. (2020). Defining the core group of the genus *Gomphonema* Ehrenberg with molecular and morphological methods, *Botany Letters*, <https://doi.org/10.1080/23818107.2019.1694980>
- [16] N. Abarca et al. (2014). Does the cosmopolitan diatom *Gomphonema parvulum* (Kützing) Kützing have a biogeography? *PLoS ONE* 9(1): e86885, doi:10.1371/journal.pone.0086885
- [17] O. Skibbe et al. (2018). *Gomphoneis tegelensis* sp. nov. (Bacillariophyceae): a morphological and molecular investigation based on selected single cells. *Diatom Research* 33: 251–262, <https://doi.org/10.1080/0269249X.2018.1518835>
- [18] R. Jahn et al. (2019). *Gomphonella olivacea* (Bacillariophyceae) – a new phylogenetic position for a well-known taxon, its typification, new species and combinations. *Plant Ecol. Evol.* 152(2): 219–247, doi:10.5091/pleveo.2019.1603

Die Autor*innen



Jonas Zimmermann ist seit 2019 Leiter der BGBM-Forschungsgruppe Diatomeen, Freie Universität Berlin. Er studierte Biologie an der Freien Universität Berlin und promovierte 2015 an der Justus-Liebig-Universität Gießen (Dissertation über Etablierung von DNA-Barcoding und Metabarcoding für Diatomeen) und war seitdem Postdoc in verschiedenen Diatomeenprojekten am BGBM (u.a. GBOL², DNAqua-Net, GeDNA). Seine Forschungsschwerpunkte sind die integrative Taxonomie der Kieselalgen, die Implementierung bzw. Verbesserung von eDNA-Metabarcoding für die Bewertung der Wasserqualität im Kontext der EU-Wasserrahmenrichtlinie anhand von Kieselalgen sowie der Aufbau einer taxonomisch kuratierten Kieselalgen-Referenzdatenbank.



Nérida Abarca ist seit 2019 Algenkuratorin und Co-Leiterin der BGBM-Forschungsgruppe Diatomeen an der Freien Universität Berlin. Sie studierte Biologie an der Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacan, Mexico, und machte dort 2000 ihren Abschluss (Diplomarbeit: Pleistozäne Evolution des Paleosees von Zacapu, basierend auf dem Register von fossilen Diatomeen). 2010 promovierte sie an der Freien Universität (Dissertation über die Biodiversität der Diatomeen im Lerma-Einzugsgebiet in Mexiko) und war seitdem Postdoc in verschiedenen Diatomeenprojekten am BGBM (u.a. GBOL²). Ihre Forschungsschwerpunkte sind die Phylogenie und Taxonomie von Diatomeen mit morphologischen und molekularen Methoden sowie der Aufbau einer taxonomisch kuratierten Kieselalgen-Referenzdatenbank.



Wolf-Henning Kusber ist Datenkurator der BGBM-Forschungsgruppe Diatomeen, Freie Universität Berlin. Er studierte Biologie und Germanistik an der Freien Universität. Nach seiner Assistentenzeit arbeitete er in Algen- und Biodiversitätsinformatischen Projekten (u. a. Digitalisierung Afrikanischer Diatomeen, Erstellung Roter Listen, AlgaTerra, GBIF-D). Seit 2016 baut er die Internetdatenbank PhycoBank auf, dem internationalen Registrierungssystem für Algennamen und -typen. Er ist Mitherausgeber des International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code).



Oliver Skibbe ist Projektmitarbeiter der BGBM-Forschungsgruppe Diatomeen, Freie Universität Berlin, und für die Isolation und Kultivierung von Kieselalgen verantwortlich. Er studierte Biologie an der Freien Universität Berlin und promovierte dort 1999. Die Dissertation beschäftigte sich mit der ökologischen Rolle von planktischen Protozoen (Ciliata) im Nahrungsnetz eines Berliner Sees. Sein besonderes Interesse gilt den Anpassungen und der Lebensweise einzelliger Organismen.



Regine Jahn hat die BGBM-Forschungsgruppe Diatomeen an der Freien Universität Berlin aufgebaut und hatte bis zu ihrer Pensionierung 2019 deren Leitung inne. Sie hat in West-Berlin und in den USA studiert, 1990 an der Freien Universität Berlin promoviert und war am BGBM in verschiedenen Positionen fast 30 Jahre lang tätig. Ihre Forschungsschwerpunkte sind Nomenklatur und integrative Taxonomie der Diatomeen sowie der Aufbau einer Diatomeen-Kulturen-Sammlung als Grundlage für eine taxonomisch kuratierte Kieselalgen-Referenzdatenbank.

Korrespondenz:

Dr. Jonas Zimmermann
Forschungsgruppe Diatomeen
Botanischer Garten und Botanisches Museum
Freie Universität Berlin
Königin-Luise-Str. 6–8
14195 Berlin
E-Mail: j.zimmermann@bgbm.org