

**UV-Schutz- und Reparaturmechanismen bei antarktischen Diatomeen und *Phaeocystis antarctica***

**Mechanisms of UV protection and repair in Antarctic diatoms and *Phaeocystis antarctica***

---

**Lieselotte Riegger**

Ber. Polarforsch. Meeresforsch. 381 (2001)  
ISSN 0176 - 5027

**Lieselotte Riegger**  
Biologische Ozeanographie  
Alfred-Wegener-Institut  
für Polar- und Meeresforschung  
Am Handelshafen 12  
27570 Bremerhaven

*Die vorliegende Arbeit ist die inhaltlich unveränderte  
Fassung einer Dissertation, die im Juli 1999 dem  
Fachbereich 2 (Biologie/Chemie) der Universität Bremen  
vorgelegt wurde.*

# INHALTSVERZEICHNIS

|   |     |
|---|-----|
| ABKÜRZUNGEN, SYMBOLE & EINHEITEN .....  | III |
| ZUSAMMENFASSUNG .....   | 1   |
| SUMMARY .....   | 4   |
| 1 EINLEITUNG .....  | 7   |
| 1.1 Motivation.....   | 7   |
| 1.2 Das Strahlungsklima im Südpolarmeer .....   | 10  |
| 1.3 UV-Schädigung und –Schutzmechanismen.....   | 12  |
| 1.3.1 Biologische Wirkung von Strahlung im UV-Bereich.....  | 12  |
| 1.3.2 DNA-Schädigung und Reparatur.....   | 14  |
| 1.3.3 UV-absorbierende Substanzen.....  | 19  |
| 1.3.4 Wirkungsspektren.....   | 22  |
| 2 FRAGESTELLUNG .....   | 23  |
| 3 MATERIAL & METHODEN.....  | 25  |
| 3.1 Algenkulturen und Kulturmedium.....   | 25  |
| 3.2 Expositionen mit verschiedenen Bestrahlungsquellen .....  | 26  |
| 3.2.1 Lampentypen und Lichtfelder.....  | 26  |
| 3.2.2 Bestrahlungsexperimente Teil I .....  | 32  |
| 3.2.3 Der Sonnenscheinsimulator .....   | 36  |
| 3.2.4 Bestrahlungsexperimente Teil II.....  | 38  |
| 3.3 Meß- und Auswertungsmethoden.....   | 41  |
| 3.3.1 Zellzahl, Zellgröße und morphologische Zellveränderungen .....                                  | 41  |
| 3.3.2 Bestimmung von Wachstumsrate und Überlebensrate .....   | 42  |
| 3.3.3 Quantifizierung und Identifizierung von UV-absorbierenden Substanzen .....                      | 43  |
| 3.3.4 Chlorophyll- und Photosynthesemessungen.....  | 47  |
| 3.3.5 Wirkungskurven für MAA-Bildung und Photoinhibition .....  | 48  |
| 3.3.6 Bestimmung der Cyclobutyl-Pyrimidindimere (CPD).....  | 49  |
| 4 ERGEBNISSE .....  | 57  |
| 4.1 UVB-Schädigung und Photoreaktivierung .....   | 57  |
| 4.1.1 Bildung und Reparatur von Cyclobutyl-Pyrimidindimeren .....                                     | 59  |
| 4.1.2 Wachstum, Zellteilung und Überlebensrate.....   | 60  |
| 4.1.3 Abhängigkeit der Schädigung von der Stärke, Dauer und Dosis der UVB-<br>Bestrahlung.....        | 69  |
| 4.1.4 Abhängigkeit der Photoreaktivierung von der Stärke, Dauer und Dosis der<br>UVA-Bestrahlung..... | 71  |

|       |  |     |
|-------|--|-----|
| 4.1.5 | Abhängigkeit der Photoreaktivierung vom Wellenlängenbereich der Vor-<br>bestrahlung.....                       | 74  |
| 4.1.6 | Abhängigkeit der Photoreaktivierung von der Dimerkonzentration .....   | 77  |
| 4.2   | Vorkommen und Regulation von Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren<br>(MAAs).....                                   | 79  |
| 4.2.1 | UV-Absorption verschiedener Algenkulturen.....   | 79  |
| 4.2.2 | Identifizierung der MAAs & Bestimmung des MAA-Gehaltes .....   | 82  |
| 4.2.3 | Abhängigkeit der MAA-Bildung von der Zell- und Koloniegröße .....  | 85  |
| 4.2.4 | MAA-Bildung und -Abbau in Abhängigkeit von der Wellenlänge, Dauer<br>und dem Photonenfluß der Bestrahlung..... | 88  |
| 4.3   | Schutzwirkung von MAAs vor UV-Schädigungen.....  | 97  |
| 4.3.1 | Dimerbildung .....   | 98  |
| 4.3.2 | Überlebensrate.....  | 100 |
| 4.3.3 | Photoinhibition.....   | 101 |
| 4.4   | Schädigung und Schutz unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen<br>und erhöhter UVB-Bestrahlung.....   | 105 |
| 4.4.1 | Akkumulation von MAAs .....  | 105 |
| 4.4.2 | Dimerbildung .....   | 106 |
| 4.4.3 | Wachstum .....   | 108 |
| 4.4.4 | Photosyntheserate.....   | 109 |
| 5     | DISKUSSION .....   | 111 |
| 5.1   | DNA-Schädigung und Photoreaktivierung.....   | 111 |
| 5.2   | Bedeutung der MAAs im UV-Schutz .....  | 122 |
| 5.3   | Lichtregulation von Schutz- und Reparaturmechanismen .....   | 132 |
| 6     | LITERATUR .....  | 135 |
|       | DANKSAGUNG.....  | 145 |

## ABKÜRZUNGEN, SYMBOLE & EINHEITEN

|                |   |
|----------------|---|
| A              | Absorption  |
| C              | Cytosin: Pyrimidinbase der DNA und RNA  |
| Chl <i>a</i>   | Chlorophyll <i>a</i>  |
| CPD            | Cyclobutyl-Pyrimidindimere (T[]T, C[]T, T[]C, C[]C)   |
| CTAB           | Hexadecyltrimethylammonium-Bromid   |
| DNA            | Desoxyribonukleinsäure  |
| DU             | Dobson Unit: Einheit für die Schichtdicke der stratosphärischen Ozonschicht (1 DU= 1 matm*cm) |
| EDTA           | Ethylendinitrilotetraessigsäure   |
| ELISA          | Enzymgekoppelter Immunoassay: Bestimmungsmethode für den Gesamt-CPD-Gehalt                    |
| F <sub>m</sub> | Maximale Chlorophyllfluoreszenz   |
| F <sub>v</sub> | Variable Chlorophyllfluoreszenz   |
| HL             | Starklicht ("High Light")   |
| HPLC           | Hochleistungs-Flüssigchromatographie ("High Pressure Liquid Chromatography")                  |
| λ              | Wellenlänge (nm)  |
| LL             | Schwachlicht ("Low Light")  |
| MAAs           | Mykospurin-ähnliche Aminosäuren   |
| PAR            | Photosynthetisch wirksame Strahlung (400-700 nm)  |
| PS II          | Photosystem II  |
| PI-Kurve       | Photosynthese-Wirkungskurve   |
| PR             | Photoreaktivierende Bestrahlung   |
| RIA            | Radioimmunoassay: Bestimmungsmethode für den Thymindimergehalt                                |
| S              | Abschirmungsfaktor ("Sunscreenfactor")  |
| T              | Thymin: Pyrimidinbase der DNA   |
| T[]T           | Thymindimer   |
| UV             | Ultraviolette Strahlung   |
| UVA            | Ultraviolette Strahlung im Wellenlängenbereich von 320-400 nm                                 |
| UVB            | Ultraviolette Strahlung im Wellenlängenbereich von 280-320 nm                                 |
| UVC            | Ultraviolette Strahlung im Wellenlängenbereich von 180-280 nm                                 |

|              |  |
|--------------|--|
| Photonenfluß | Bestrahlungsstärke ( $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )   |
| Energiefluß  | Energiebestrahlungsstärke ( $\text{J m}^{-2} \text{s}^{-1} = \text{W m}^{-2}$ ): Für den PAR-Bereich gilt: $1 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1} = 0,22 \text{ W m}^{-2}$ |
| Dosis        | Bezogen auf Photonen: ( $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )<br>Bezogen auf Energie: ( $\text{kJ m}^{-2}$ )   |

## ZUSAMMENFASSUNG

Bei Phytoplankton - wie allgemein bei Pflanzen - wird vermutet, daß die Photoreaktivierung und UV-absorbierende Substanzen wichtige Rollen im UV-Schutz spielen. Bei der Photoreaktivierung handelt es sich um einen enzymatischen DNA-Reparaturprozeß, bei dem die Energie von Photonen im UVA/Blaubereich (360-460 nm) genutzt wird, um spezifisch die durch UVB-Strahlung (280-320 nm) gebildeten Cyclobutyl-Pyrimidindimere (CPD) wieder zu spalten. Dagegen wird den in marinen Organismen weit verbreiteten Mykospurin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) aufgrund ihrer Absorption im UV-Bereich eine schützende Wirkung zugeschrieben. Über die Wirksamkeit und Kapazität dieser Schutzmechanismen sowie die Anpassungsfähigkeit der Organismen an ein sich änderndes Strahlungsklima war bisher bei Phytoplankton nur wenig bekannt. In der vorliegenden Arbeit wurde in Experimenten mit künstlicher Bestrahlung die Dimerbildung und Photoreaktivierung sowie die Bildung und Schutzwirkung der MAAs in Abhängigkeit von der spektralen Zusammensetzung, Stärke und Dauer der Strahlung bei bedeutenden antarktischen Diatomeen und der kolonialen Form der Prymnesiophyte *Phaeocystis antarctica* untersucht. Ein Teil der Untersuchungen wurde auch unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen (Sonnenscheinsimulator) mit und ohne erhöhtem UVB-Anteil durchgeführt.

UVB-Bestrahlung aus den eingesetzten künstlichen Quellen führte sowohl bei Diatomeen als auch *Phaeocystis antarctica* zur Bildung von Dimeren in der DNA und zur Verringerung der Überlebensrate, wenn Photoreaktivierung ausgeschlossen wurde. Die Dimerbildung nahm annähernd linear mit der UVB-Bestrahlungsstärke zu. Sowohl auf molekularer als auch auf zellulärer Ebene wurde Reziprozität zwischen Dauer und Stärke der Bestrahlung nachgewiesen. Daraus wurde gefolgert, daß die Schädigung auch unter natürlichen Strahlungsbedingungen proportional zur eingestrahelten UVB-Quantenzahl ist.

Durch eine sich der schädigenden UVB-Bestrahlung anschließende UVA-Blau-Bestrahlung wurden die Dimere schnell und effektiv wieder repariert und die Überlebensrate der Zellen nahm zu. Die Photoreaktivierung wies weder auf molekularer noch auf zellulärer Ebene eine Dosisabhängigkeit auf. Oberhalb von  $0,3 \text{ W m}^{-2}$  war sowohl die Dimerspaltung als auch die Erholung der Zellen allein von der Dauer der photoreaktivierenden UVA-Bestrahlung abhängig. Eine Zunahme der Bestrahlungsstärke führte in diesem Bereich zu keiner höheren Reparaturrate. Daraus wurde geschlossen, daß erst unterhalb eines Schwellenwertes

(im Versuch  $15 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) die Verfügbarkeit der für die Dimerspaltung notwendigen UVA-Quanten limitierend für die Photoreaktivierung ist.

Erstmalig konnte nachgewiesen werden, daß die Photoreaktivierung abhängig von der spektralen Zusammensetzung des Strahlungsfeldes ist, an das die Kulturen vor der schädigenden UVB-Bestrahlung akklimatisiert waren. Nur nach einer Vorbestrahlung mit Blau, Blau+UVA oder Blau+UVA+UVB wiesen die Kulturen eine hohe Dimerreparatur sowie starke Erholung auf. Daraus wurde geschlossen, daß eine Anpassung der Phytoplanktonorganismen an höhere Strahlungsstärken stattfindet, und die Neubildung oder Aktivierung des photoreaktivierenden Enzyms (Photolyase) durch Photonen des Blau/UV-Bereiches induziert wird. Obwohl bei höheren UVB-Bestrahlungsstärken die Reparaturrate zunahm, reichte diese nicht aus, um die durch diesen Strahlungsbereich verursachte stärkere Schädigung zu kompensieren. Dieser Befund wurde auch durch die Ergebnisse der Experimente unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen bestätigt.

Die Resultate der Untersuchungen zur MAA-Bildung zeigen, daß bei antarktischen Diatomeen die *in vivo*-Absorption zwischen 330 und 335 nm hauptsächlich auf die Existenz von MAAs (Porphyra-334, Mykosporin-Glycin und Shinorin) zurückgeht. Kolonien von *Phaeocystis* wiesen im Vergleich zu den Diatomeen eine 3-10fach höhere UV-Absorption mit einem Maximum bei 315-320 nm auf. Eine genaue Identifizierung der MAAs fand bei *Phaeocystis* nicht statt. Die aus den *in vivo*-Absorptionen berechneten Abschirmungsfaktoren (S) waren abhängig von der Größe der Zellen und lagen für Diatomeen im Bereich der maximalen Absorption zwischen 0,03 (Valvenradius  $< 3 \mu\text{m}$ ) und 0,5 (Valvenradius  $> 10 \mu\text{m}$ ). Im kurzwelligen UVB-Bereich zwischen 310 und 320 nm wiesen selbst große Diatomeen nur geringe S-Faktoren von  $< 0,1$  auf. Experimentell wurde bestätigt, daß eine Zunahme des MAA-Gehaltes bei Diatomeen zu keiner Abnahme der UVB-Schädigung (Dimerbildung und Überlebensrate) führt.

Im Vergleich zu den Diatomeen lagen die S-Faktoren für *Phaeocystis*-Kolonien sowohl im UVB- als auch im UVA-Bereich deutlich höher und zeigten Werte bis zu 0,4 bzw. 0,7. Dabei ergaben Berechnungen, daß sich der größte Anteil der MAAs nicht innerhalb der kleinen Koloniezellen, sondern in der Koloniehülle befinden muß. Auch experimentell wurde bei *Phaeocystis* eine UVB-Schutzwirkung der MAAs bestätigt (geringere Dimerbildung).

Sowohl Diatomeen als auch *Phaeocystis*-Kolonien wiesen mit zunehmendem MAA-Gehalt eine geringere Photoinhibition der Photosynthese auf. Die wellenlängenabhängige Abnahme der Photoinhibition überlappte mit dem Absorptions-

spektrum der MAAs. Die hauptsächliche Schutzwirkung liegt somit im kurzwelligen UVA-Bereich, dem Wellenlängenbereich, der unter natürlichen Strahlungsbedingungen die größte Inhibition der Photosynthese verursacht. Die Versuche unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen bestätigen, daß eine höhere UVB-Bestrahlung zu einer Zunahme der Photoinhibition führt und eine Zunahme des MAA-Gehaltes die schädigende Wirkung der UVA und UVB-Strahlung - wenn auch nur geringfügig - reduziert.

Der zelluläre MAA-Gehalt nahm annähernd linear mit dem eingestrahnten Photonenfluß zu. Sowohl bei Diatomeen als auch *Phaeocystis*-Kolonien kam es durch Blau/UV-Strahlung zu einer deutlichen Induktion der MAA-Bildung. Die Wirkungskurven für die MAA-Bildung zeigen, daß bei Diatomeen Strahlung im Bereich zwischen 370 und 470 nm am wirksamsten ist und UVB-Strahlung nur eine geringe Wirkung hat. Bei *Phaeocystis* liegt das Maximum dagegen bei 350 nm und auch kurzwellige UVB-Strahlung zeigt noch einen deutlichen Effekt. Daraus ist zu schließen, daß *Phaeocystis*-Kolonien sich bezüglich der MAA-Bildung auch an eine höhere UVB-Bestrahlungsstärke anpassen können. Für die MAA-Bildung war Dauerbestrahlung von mindestens 10-24 h notwendig; im Dunkeln kam es zu keinem Abbau der MAAs.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß Photoreaktivierung und MAA-Bildung wichtige Mechanismen sind, die bei antarktischen Phytoplanktonorganismen zu einem Schutz vor Schädigungen durch kurzwellige UVA- und UVB-Strahlung beitragen. Die Bildung von MAAs führt allerdings nur bei größeren Diatomeen zu einer Reduktion der Schädigung durch UVA-Strahlung; nur bei *Phaeocystis*-Kolonien konnte auch eine Schutzwirkung im UVB-Bereich nachgewiesen werden. Die Photoreaktivierung stellt dagegen sowohl für Diatomeen als auch *Phaeocystis* einen leistungsfähigen und schnellen Reparaturprozeß dar, durch den die durch UVB-Bestrahlung gebildeten Dimere in der DNA effektiv wieder repariert werden. Sowohl MAA-Bildung als auch Photoreaktivierung sind durch UVA/Blau-Strahlung induzierbar. Die untersuchten Phytoplanktonorganismen können sich somit an höhere Bestrahlungsstärken, wie sie in der Natur im täglichen und jahreszeitlichen Wechsel vorkommen, akklimatisieren. Eine Anpassung an eine alleinige Erhöhung des UVB-Anteils, wie sie durch eine Reduktion der stratosphärischen Ozonkonzentration über der Antarktis hervorgerufen wird, erfolgt dagegen nicht.

## SUMMARY

It is a wide-spread assumption that in phytoplankton - as generally in plants - photoreactivation and UV-absorbing substances are important for the protection against UV radiation. Photoreactivation is an enzymatic DNA repair mechanism, where the energy of photons in the UVA/Blue range (360-460 nm) is used for the decomposition of cyclobutyl pyrimidine dimers (CPD) which are produced by UVB radiation (280-320 nm). On the other hand, mycosporine-like amino acids (MAAs) are attributed a protective function because they absorb photons in the UV range. As for phytoplankton, little was known about the efficiency and capacity of these protective mechanisms and about the ability of these organisms to adapt to a changing radiation climate. In this work, experiments with artificial radiation have been carried out with important antarctic diatoms as well as with colonies of *Phaeocystis antarctica*. The production of dimers, photoreactivation and the dependence of formation and protective function of MAAs on spectral distribution, intensity and duration of the radiation were studied. Part of the experiments have also been performed under approximately natural radiation conditions (sunshine simulator) with and without increased amounts of UVB radiation.

For diatoms as well as for colonies of *Phaeocystis antarctica* UVB radiation from artificial sources lead to the formation of dimers in the DNA and a decrease in the survival rate if photoreactivation is suppressed. The formation rate of dimers is approximately proportional to the UVB irradiance. On the molecular as well as on the cellular level reciprocity between duration and intensity of the radiation could be established. This leads to the conclusion that also under natural conditions the radiation damage is proportional to the UVB dose, i.e. the amount of absorbed UVB photons.

If UVA/Blue radiation is applied subsequent to the damaging UVB, the dimers are repaired rapidly and efficiently and the survival rate of the cells is increased. This photoreactivation does not depend on the dose of UVA radiation, nor on the cellular scale or molecular level. Above the UVA irradiance of  $0.3 \text{ W m}^{-2}$ , the removal of dimers as well as the recovery of the cells exclusively depend on the duration of the reactivating UVA radiation. An increase in irradiance does not lead to an increase of the repair rate. This leads to the conclusion that the availability of the UVA photons needed for dimer decomposition

is a limiting factor for photoreactivation only below a certain threshold value (15  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , in this investigation).

It could be shown for the first time that photoreactivation depends on the spectral distribution of the radiation the cultures were acclimatized to before they were irradiated with UVB. The cultures only exhibit a high repair rate and recovery if they are irradiated with Blue, Blue+UVA or Blue+UVA+UVB prior to UVB. It can be concluded that phytoplankton organisms adapt to a higher irradiance and that the formation or activation of the photoreactivating enzyme (photolyase) is induced by photons in the Blue/UV range. Although the repair rate increases at higher UVB irradiance, this increase is not sufficient to compensate for the higher damage induced by radiation in this range. This has been confirmed by the experiments carried out under approximately natural irradiation conditions.

The investigation with MAAs show that in antarctic diatoms, the absorption between 330 nm and 335 nm is mainly caused by MAAs (Porphyra-334, Mycosporine, Glycine, Shinorine). Compared to diatoms, colonies of *Phaeocystis* show an UV-absorption which is higher by a factor of 3-10 (maximum between 315 nm and 320 nm). In this case, the MAAs could not be accurately specified. The sunscreen factors (S) calculated from the *in vivo* absorption depend on the cell size. For diatoms, in the range of maximum absorption, S is between 0.03 (valve radius <3  $\mu\text{m}$ ) and 0.5 (valve radius >10  $\mu\text{m}$ ). In the high frequency UVB range between 310 nm and 320 nm even large diatoms only have low S factors <0.1. It has been confirmed experimentally that in diatoms, an increase of the MAA content does not lead to less UVB damage (measured as dimer production and survival rate).

For *Phaeocystis* colonies the S values are generally higher with values up to 0.4 (UVB) and 0.7 (UVA). Calculations show that the largest proportion of MAAs resides in the colony envelope and not inside the cells. It has been experimentally confirmed that in *Phaeocystis* MAAs also exhibit a protective effect against UVB radiation. In both diatoms and *Phaeocystis* colonies photoinhibition of photosynthesis decreases with increasing MAA content. The photoinhibition has a frequency dependency similar to the absorption of the MAAs. Consequently, the MAAs exhibit their maximum protective effect in the frequency range where under natural conditions the inhibition of photosynthesis is most important. The experiments under approximately natural irradiation conditions confirm an increase of photoinhibition at higher UVB irradiation levels and a slight reduction of the harmful effect of UVA and UVB irradiation because of higher MAA content.

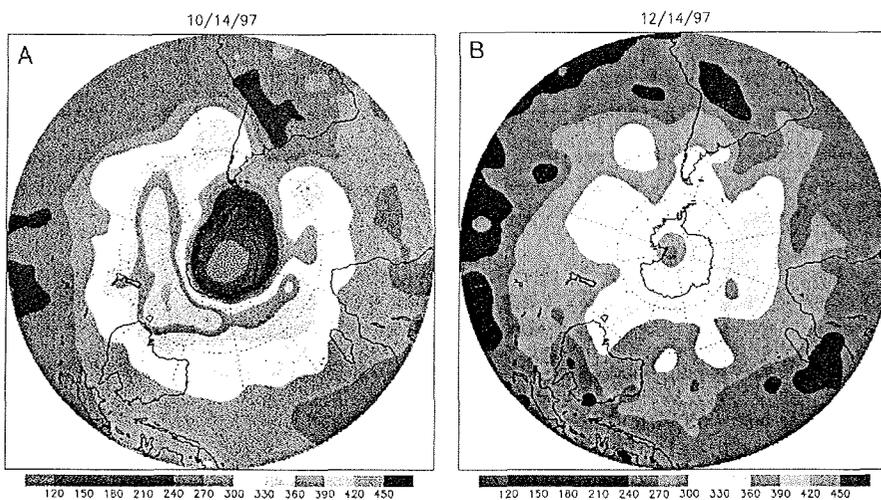
The cellular MAA content is approximately proportional to the irradiance. In diatoms as well as in *Phaeocystis* colonies Blue/UV radiation clearly induces the formation of MAAs. The action spectra for MAA formation show that for diatoms, the radiation is most effective in the range between 370 nm and 470 nm and only slightly effective in the UVB range. For *Phaeocystis*, however, the maximum lies in the vicinity of 350 nm and higher energetic UVB radiation has a pronounced effect. This indicates that, with regard to MAA formation, *Phaeocystis* colonies are able to adapt to a higher UVB irradiation. The cultures had to be irradiated for at least 10-24 hours to produce significant amounts of MAAs, which did not decompose in the dark.

In summary, it can be concluded that photoreactivation and MAA formation are mechanisms crucial for protection against UVA- and UVB irradiation damage in antarctic phytoplankton organisms. While in *Phaeocystis* colonies MAA formation reduces the radiation damage in both UV ranges, this is only true for larger diatoms in the UVA range. On the other hand, for both species photoreactivation is an efficient and fast process which effectively repairs the UVB induced dimers in the DNA. Both MAA formation and photoreactivation can be induced by UVA/Blue radiation. Thus the phytoplankton organisms under investigation can acclimatize to higher irradiance which occur in nature in diurnal and seasonal turns. However, they do not adapt to an exclusive increase in UV, as is caused by a decrease of the stratospheric ozone concentration over the Antarctic.

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Motivation

Seit einigen Jahren wird über den Polargebieten eine fortschreitende regionale und saisonale Reduktion des Ozongehaltes in der Stratosphäre beobachtet (Farman et al. 1985, Jones & Shanklin 1995), deren Ursache hauptsächlich auf die Freisetzung der als Treibgase und Kühlmittel verwendeten Fluor-Chlor-Kohlenwasserstoffe (FCKW) zurückgeführt wird (Molina & Rowland 1974, Hough & Derwent 1990). Als Folge dieser Reduktion erhöht sich die Intensität der auf die Erdoberfläche auftreffenden ultravioletten B-Strahlung (UVB-Strahlung) (Lubin et al. 1989, Madronich 1994).

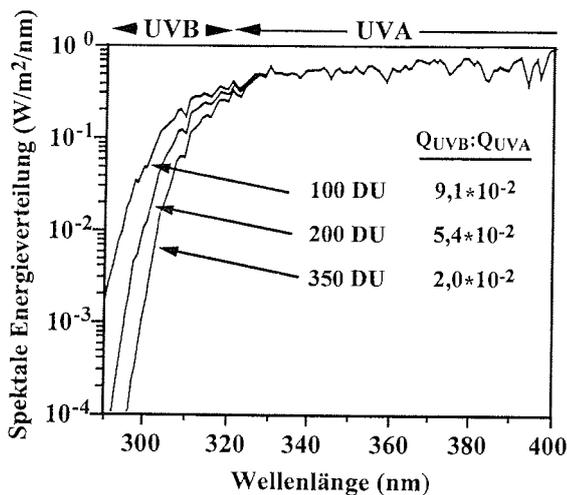


**Abb. 1.1:** Stratosphärische Ozonschichtdicke über der südlichen Hemisphäre (gemessen in Dobson Units;  $DU = \text{matm} \cdot \text{cm}$ ) während (A) und am Ende (B) der Bildung des jährlichen Ozonlochs (Quelle: Climate Prediction Center, USA).

Bereits in den 70er Jahren wurde während des antarktischen Frühlings (Oktober) eine Reduktion des Ozongehaltes über der Antarktis gemessen. Mittlerweile hat sich der Zeitraum von Mitte September bis Anfang Dezember ausgeweitet. Während dieser Zeit verringert sich der Ozongehalt

um bis zu 60% (Jones & Shanklin 1995) (Abb. 1.1). Zum Zeitpunkt der maximalen Ausdehnung umfaßt dieses sogenannte "Ozonloch" eine Fläche von 25 Millionen Quadratkilometern. Es reicht somit bis über die äußere Grenze des Südpolarmeers, das als geschlossener Gürtel den antarktischen Kontinent umgibt und nach Norden hin durch die Polarfront - bei 50° bis 55° südlicher Breite - begrenzt wird.

Der Ozonmantel der Erde schützt die Biosphäre weitgehend vor schädlicher UV-Strahlung. Dieser Schutz beruht darauf, daß Ozon die solare extraterrestrische UVC-Strahlung (<280 nm) vollständig und UVB-Strahlung (280-320 nm) teilweise absorbiert. UVA-Strahlung (320-400 nm) und photosynthetisch wirksame Strahlung ("photosynthetic active radiation" PAR; 400-700 nm) werden dagegen nur geringfügig absorbiert. Eine Reduktion des Ozongehaltes führt deshalb zu einer selektiven Erhöhung der kurzwelligeren UVB-Strahlung und einer Zunahme des Verhältnisses von  $Q_{UVB}$  zu  $Q_{UVA}$  und  $Q_{UVB}$  zu  $Q_{PAR}$ <sup>1</sup> (Smith et al. 1992) (Abb. 1.2).



**Abb. 1.2:** UV-Einstrahlung bei normaler stratosphärischer Ozonkonzentration von 350 DU und reduzierter Ozonkonzentration von 200 und 100 DU. Berechnet für die Palmer Station (Antarktis) bei Sonnenhöchststand am 14. November eines Jahres (Prézelin et al. 1998).

Die Erkenntnis der fortschreitenden Reduktion der stratosphärischen Ozonkonzentration führte in den letzten Jahren zu einer intensiven Diskussion über die Wirkung von UV-Strahlung auf aquatische Ökosysteme. Hierbei sind die Effekte auf das Phytoplankton von großer Bedeutung, weil diese Organismen als Primärproduzenten am Anfang der Nahrungskette stehen und für die Aufnahme großer Mengen Kohlendioxid aus der

<sup>1</sup> Q bezeichnet den Gesamtstrahlungsfluß in einem bestimmten Wellenlängenbereich

Atmosphäre verantwortlich sind (Jaques 1983, El-Sayed & Fryxell 1993). Erste *in situ*-Studien während der Reduktionsphase des Ozongehaltes über der Antarktis deuten darauf hin, daß durch die höhere UVB-Exposition die Primärproduktion in der oberen Wasserschicht (10-20 m) um 6 bis 12% zurückgeht und dadurch auch die Artenzusammensetzung des Phytoplanktons beeinflusst wird (Smith et al. 1992). Jedoch können trotz weiterer Untersuchungen in den letzten Jahren (Zusammenfassungen in: Vincent & Roy 1993, Holm-Hansen et al. 1993, Weiler & Penhale 1994, Häder 1997), bisher keine verlässlichen Aussagen über die Auswirkungen einer erhöhten UVB-Exposition gemacht werden, weil viele der dazu benötigten Informationen über die Art und Quantität der Schädigungen sowie der Wirksamkeit und Kapazität von Schutz- und Reparaturmechanismen fehlen. Bei Phytoplankton - wie allgemein bei Pflanzen - wird vermutet, daß UV-absorbierende Substanzen und die lichtabhängige DNA-Reparatur (Photoreaktivierung) die wichtigsten Rollen im UV-Schutz spielen (z.B. Holm-Hansen et al. 1993, Karentz et al. 1991a, Karentz et al. 1991b, Karentz 1994). Inwieweit durch diese tatsächlich eine Zunahme der Schädigung durch UVB-Strahlung kompensiert werden kann, konnte bisher nicht geklärt werden.

Nachdem das Augenmerk nach Beginn der jährlich auftretenden Ozonreduktion hauptsächlich auf die Wirkung einer erhöhten UVB-Strahlung gerichtet war, nimmt mittlerweile das Interesse zu, sich grundlegender mit den Wirkungen von UVB- und UVA-Strahlung auf Organismen zu beschäftigen. Dabei werden vor allem Fragen nach den Wechselwirkungen von PAR, UVA- und UVB-Strahlung bei Schädigung, Schutz und Akklimation gestellt (z.B. Neale et al. 1998a).

Vor dem skizzierten Hintergrund ist der Untersuchungsansatz der vorliegenden Arbeit als Beitrag zum besseren Verständnis der Wirkung von UV-Strahlung auf Phytoplankton entstanden. Sie beinhaltet Untersuchungsbefunde über UV-absorbierende Mykosporin-ähnliche Aminosäuren (MAAs) und die Photoreaktivierung bei antarktischen Diatomeen (Kieselalgen) sowie der zur Klasse der Prymnesiophyceae gehörenden Gattung *Phaeocystis*. Beide Gruppen gehören zu den bedeutendsten Vertretern des Phytoplanktons im Südpolarmeer und tragen hauptsächlich zur im Frühjahr entstehenden Planktonblüte bei (Scharek 1991, Scharek et al. 1993). Sowohl bei der Photoreaktivierung als auch bei den MAAs stehen Untersu-

chungen über die Abhängigkeit ihrer Bildung und Schutzwirkung von der spektralen Zusammensetzung, Stärke und Dauer der Bestrahlung im Vordergrund und somit die Frage nach der Balance zwischen Schädigung, Schutz und Reparatur sowie der Anpassungsfähigkeit der Organismen an sich ändernde Strahlungsbedingungen. Ein Teil der Untersuchungen wurde auch unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen mit normalem und erhöhtem UVB-Anteil durchgeführt (Sonnenscheinsimulator, s. Kap. 3.2).

Im folgenden werden verschiedene, für das Verständnis der Fragestellung wichtige Themen dargestellt. Dabei wird zuerst auf das Strahlungsklima eingegangen, dem die Phytoplanktonorganismen im Südpolarmeer sowohl bei normalen Strahlungsbedingungen als auch bei erhöhter UVB-Strahlung zur Zeit der Ozonreduktion ausgesetzt sind. In den folgenden Abschnitten werden die Grundlagen und der bisherige Kenntnisstand über die Schädigung der Organismen durch UV-Strahlung sowie deren Schutzmechanismen zusammengefaßt. Danach folgt im zweiten Kapitel die sich aus den offenen Fragen ergebende Zielsetzung dieser Arbeit.

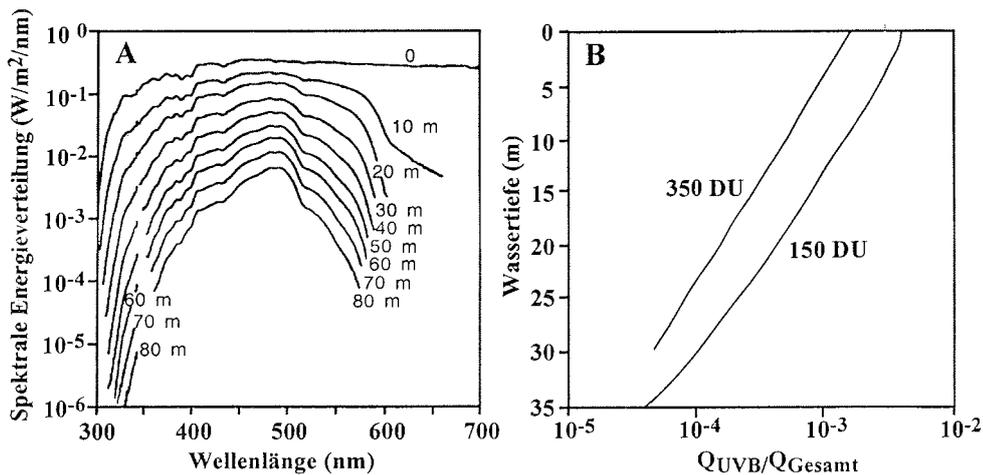
## 1.2 Das Strahlungsklima im Südpolarmeer

Phytoplanktonorganismen sind auch in den polaren Gebieten sowohl langfristig als auch kurzfristig stark wechselnden Strahlungsbedingungen mit unterschiedlichen Intensitäten und spektraler Zusammensetzung ausgesetzt (Kirk 1994). Ursachen hierfür sind u.a. die saisonal schwankenden Tageslängen und Einstrahlungswinkel, die ebenfalls an die Jahreszeiten gekoppelte Ausdehnung des Meereises sowie die vertikale Durchmischung der oberen Wasserschichten im offenen Ozean.

Im antarktischen Winter trifft in den polaren Regionen aufgrund des geringen Einstrahlungswinkels nur eine geringe Strahlungsstärke auf die Wasseroberfläche auf. Zudem ist bis zum antarktischen Frühling (August bis Dezember) etwa die Hälfte des Südpolarmeers mit Eis und Schnee überzogen (Zwally et al. 1983). Die zu dieser Jahreszeit hauptsächlich im Eis oder in der darunter liegenden Wasserschicht lebenden Organismen sind somit nur geringen Bestrahlungsstärken ausgesetzt, die je nach Eistiefe und Schneebedeckung z.T. weniger als  $5 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  betragen können (Buckley & Trodahl 1987).

Erst im antarktischen Sommer (Dezember und Januar), wenn Dauer und Stärke der Strahlung und damit die Temperatur zunehmen, beginnt das Eis zu schmelzen. Dabei kommt es aufgrund des unterschiedlichen Salzgehaltes von Meerwasser und geschmolzenem Eis zur Stabilisierung und Abflachung der durchmischten Deckschicht bis auf wenige Meter. In diesen lichtdurchfluteten Oberflächenschichten, in denen eine Bestrahlungsstärke von bis zu  $2000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen wurde, entwickeln sich Phytoplanktonblüten mit z.T. hohen Biomassen (Garrison et al. 1987, Sullivan et al. 1988). Dabei dienen die aus dem Eis freigesetzten Algen als Inoculum für die entstehenden Blüten (Smetacek et al. 1992, Scharek et al. 1993). Diese sogenannten Eiskantenblüten, die mit dem Eisrand nach Süden wandern, tragen einen großen Teil zur jährlichen Algen-Primärproduktion im Südpolarmeer und somit zur Kohlenstofffixierung bei (Smith & Nelson 1990, Scharek 1991).

Im späten Sommer und im Herbst, wenn es durch die starken Stürme wieder zu einer tiefen Durchmischung der oberen Wasserschicht kommt, erfahren die mit den zirkulierenden Wassermassen auf- und abwärts transportierten Organismen einen kurzzeitigen und starken Wechsel von Hell- und Dunkelperioden, der von der Durchmischungstiefe und -geschwindigkeit abhängt (El-Sayed & Fryxell 1993). Dabei kommt es aufgrund von Streuungs- und Absorptionsvorgängen mit zunehmender Tiefe zu einer starken Abnahme der Bestrahlungsstärke sowie zur Änderung der spektralen Zusammensetzung (Kirk 1994) (Abb. 1.3A). Bei geringen Algen- und Detrituskonzentrationen, so wie sie typisch für den Südlichen Ozean sind, wird Strahlung im langwelligen Rotbereich  $>600 \text{ nm}$  und im kurzwelligen UV-Bereich am stärksten absorbiert. Dies führt dazu, daß Strahlung zwischen  $400$  und  $550 \text{ nm}$  (blau-grüne Strahlung) am tiefsten in die Wassersäule eindringt (Smith et al. 1992, Kirk 1994) (Abb. 1.3A). UVB-Strahlung wird im offenen Ozean noch bis in eine Tiefe von  $50\text{-}80 \text{ m}$ , im Eis bis in  $2 \text{ m}$  Tiefe gemessen (Smith & Baker 1997, Gieskes & Draay 1990, Perovich 1993). Bei einer Ozonreduktion kommt es deshalb nicht nur an der Wasseroberfläche sondern auch in tieferen Wasser- oder Eisschichten zu einer Erhöhung der UVB-Einstrahlung und somit zur Verschiebung des Verhältnisses von  $Q_{\text{UVB}}$  zu  $Q_{\text{UVA}}$  und  $Q_{\text{UVB}}$  zu  $Q_{\text{Gesamt}}$  (Trodahl & Buckley 1990, Smith et al. 1992) (Abb. 1.3B).



**Abb. 1.3:** Veränderung der spektralen Einstrahlung mit zunehmender Wassertiefe im Südpolarmeer (A) sowie Verhältnis von  $Q_{UVB}$  zu  $Q_{Gesamt}$  bei normaler und reduzierter Ozonkonzentration (B) (Smith et al. 1992).

### 1.3 UV-Schädigung und -Schutzmechanismen

#### 1.3.1 Biologische Wirkung von Strahlung im UV-Bereich

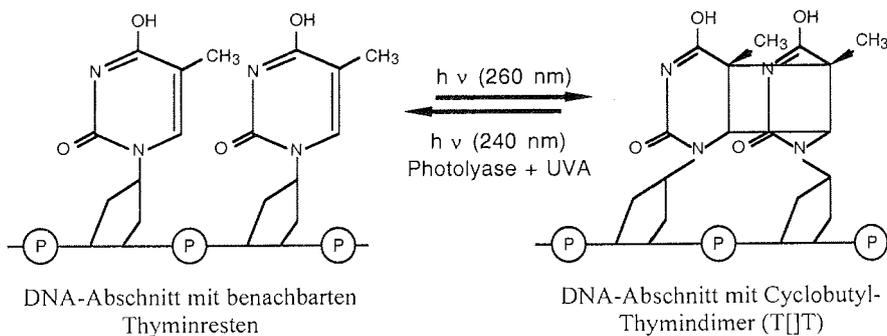
Ausgangspunkt für die biologische Strahlungswirkung ist die Absorption durch Moleküle und damit die Energieübertragung in Form von Anregung oder sogar Ionisation. Besonders leicht anregbar sind Moleküle, die viele konjugierte Doppelbindungen enthalten. Im Wellenlängenbereich des "sichtbaren" Lichtes (400-700 nm) sind das vor allem die photosynthetischen Pigmente wie Chlorophylle und Carotinoide. Im kurzwelligeren Bereich der UV-Strahlung absorbieren dagegen hauptsächlich bestimmte Amino- und Nukleinsäuren (Kiefer 1989, Vincent & Roy 1993). Mit abnehmender Wellenlänge nimmt die Energie der Quanten zu und die schädigende Wirkung der Strahlung steigt stark an. So können durch die kurzwelligen Quanten des UVB-Bereichs sogar die Kovalenzbindungen der sie absorbierenden Moleküle aufgebrochen werden, was durch die energieärmeren Photonen nicht möglich ist. Dadurch kommt es zur Veränderung oder Zerstörung der Moleküle und infolgedessen zur Schädigung ganzer Zellprozesse (Kiefer 1989, Vincent & Roy 1993).

Nach den Meldungen einer stratosphärischen Ozonreduktion über der Antarktis fanden erste Untersuchungen statt, die sich mit den Wirkungen der UV-Strahlung auf verschiedene zelluläre Bestandteile oder Prozesse des Phytoplanktons sowie den Schutzmechanismen befaßten (Zusammenfassungen in: Worrest 1983, Karentz 1991, Vincent & Roy 1993, Weiler & Penhale 1994, Häder 1997). Im Vordergrund vieler Untersuchungen standen vor allem Fragen nach der schädigenden Wirkung der UVB-Strahlung auf die Desoxyribonukleinsäure (DNA), die Photosynthese sowie das Wachstum. Während DNA-Schädigungen hauptsächlich durch kurzwellige UVB-Strahlung entstehen (Buma et al. 1997) konnte gezeigt werden, daß neben der UVB- auch die UVA-Strahlung für die Inhibition der Photosynthese verantwortlich ist (z.B. Cullen & Neale 1994). Als Zielorte der UV-Strahlung werden das Reaktionszentrum des Photosystems II (PS II), die Lichtsammelkomplexe sowie die schwefelhaltigen Komponenten der Elektronentransportkette diskutiert (Cullen & Neale 1994, Schofield et al. 1995). Als Folge sowohl der DNA-Schädigung (Karentz et al. 1991a, Buma et al. 1996 & 1997) als auch der Photosyntheseinhibition (z.B. Helbling et al. 1996) kommt es zu einer Reduktion der Wachstumsrate. Jedoch sind die meisten der komplexen Zusammenhänge bisher noch nicht verstanden, die von molekularen Veränderungen über die Schädigung verschiedener Zellprozesse und -kompartimente bis hin zum Tod der Organismen führen.

Als wichtigste Schutzmechanismen gegen UV-Schädigungen werden bei Phytoplankton vor allem die Reparatur der DNA-Schädigungen durch Photoreaktivierung oder Excision und die Bildung von Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) diskutiert (z.B. Holm-Hansen 1993, Mitchell & Karentz 1993, Karentz 1994). Während bei der DNA-Reparatur schon entstandene Schäden in der DNA beseitigt werden, wird den MAAs aufgrund ihrer Absorption kurzwelliger UV-Strahlung eine schützende Funktion zugeschrieben.

### 1.3.2 DNA-Schädigung und Reparatur

Die Desoxyribonukleinsäure (DNA) absorbiert hauptsächlich aufgrund der konjugierten Doppelbindungen ihrer Pyrimidinbasen (Cytosin und Thymin) UV-Strahlung mit einem Maximum bei 260 nm. Diese Absorption hat die Bildung von Cyclobutyl-Pyrimidindimeren (CPD) und (6-4)-Photoprodukten<sup>2</sup> aus zwei benachbarten Pyrimidinresten zur Folge. Viele Untersuchungsbefunde belegen, daß CPD die hauptsächlichen Photoprodukte in UVB-bestrahlter DNA darstellen und Thymindimere (T[TT]) dabei die häufigsten gebildeten CPD-Spezies sind (Setlow & Carrier 1966, Gordon & Haseltine 1982). Auch bei Diatomeen sind CPD die häufigsten durch UVB-Bestrahlung induzierten Dimere (Karentz et al. 1991a). Untersuchungen über einzelne Spezies dieser Photoprodukte liegen für Phytoplankton nicht vor.



**Abb. 1.4:** Bildung eines Cyclobutyl-Pyrimidindimers (CPD), dargestellt am Beispiel zweier benachbarter Thyminreste

Die Bildung von CPD in der DNA erfolgt dadurch, daß eine von zwei benachbarten Pyrimidinbasen durch Absorption eines UV-Quants in einen angeregten Zustand übergeht und in einer Cycloaddition mit der C<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>-Doppelbindung der benachbarten Pyrimidinbase einen Cyclobutanring ausbildet (Kloepfer & Morrison 1972) (Abb. 1.4). Dabei handelt es sich um eine photoreversible Reaktion. Die höchste Dimerisierungsrate erfolgt im Absorptionsmaximum der Pyrimidine bei 260 nm, die Rückreaktion (Dimerspaltung) im Absorptionsmaximum der Dimere bei 240 nm (Dee-

<sup>2</sup> Pyrimidin-(6-4')-Pyrimidon-Photoprodukt

ring & Setlow 1963). Außerdem können die Dimere durch UVA/Blaustrahlung im Wellenlängenbereich zwischen 360 und 460 nm wieder aufgespalten werden. Diese Reaktion wird durch das photoreaktivierende Enzym (Photolyase) katalysiert (s. nächsten Abschnitt).

Primäre Wirkung der Dimerbildung ist die Hemmung der DNA- bzw. RNA-Polymerasereaktion und somit der Replikation und Transkription (Kiefer 1981). Ist die Schädigung hoch, so kann diese Hemmung letal für die Zelle oder den ganzen Organismus sein, da dadurch eine Zellteilung verhindert wird oder die Synthese lebenswichtiger Proteine unterbleibt. Untersuchungen mit künstlicher UVB-Bestrahlung bei Diatomeenkulturen zeigen, daß mit zunehmender UVB-Bestrahlung die Dimerbildung in den Zellen ansteigt und gleichzeitig die Wachstumsrate der Zellen abnimmt (Karentz et al. 1991a, Buma et al. 1997). Dabei wurden auch in stark UVB-bestrahlten Zellen, bei denen die Zellteilung inhibiert war, Proteine und Chlorophylle gebildet (Buma et al. 1996). Inwieweit es auch unter natürlichen Strahlungsbedingungen, bei denen Schädigung und Reparatur gleichzeitig ablaufen, zu solchen Zellschädigungen kommt, wurde bisher nicht untersucht.

Schädigungen an der DNA können in der Zelle durch verschiedene, sich ergänzende Reparatursysteme mit unterschiedlicher Arbeitsweise wieder beseitigt werden. Die bisher bekanntesten Reparaturmechanismen sind die Excisionsreparatur, bei der die modifizierten Nucleotidsequenzen entfernt und ersetzt werden und die direkte Reparatur durch die Photoreaktivierung, bei der spezifisch Dimere photochemisch wieder gespalten werden (Übersichtsartikel: Sutherland 1981, Sancar & Sancar 1988).

Durch die Excisionsreparatur, die auch als Dunkelreparatur bezeichnet wird, können sowohl einzelne Basenänderungen als auch sogenannte "sperige" Schäden, die durch exogene Einflüsse wie Strahlung, Oxidation oder Chemikalieneinwirkung entstanden sind, und die DNA-Struktur verändern, beseitigt werden. Dabei wird zwischen der Basenexcision und der Nucleotidexcision (NER) unterschieden (Sancar & Sancar 1988, Sancar 1994a). Während bei der Basenexcision nur eine spezifische Basenmodifikation erkannt und herausgeschnitten wird, wird bei der äußerst unspezifische NER für den Ersatz von 1-2 geschädigten Nucleotiden ein Oligomer mit 12-13 Basenpaaren (Prokaryoten) bzw. 27-29 Basenpaaren (Eukaryoten) aus der DNA herausgeschnitten und wieder ersetzt. Die NER ist

deshalb mit einem vergleichsweise hohen Energieaufwand verbunden (Sancar & Tang 1993).

Bei der Photoreaktivierung werden mit Hilfe des photoreaktivierenden Enzyms, der sogenannten Photolyase<sup>3</sup>, spezifisch Dimere gespalten. Die Photolyase bindet dabei im ersten Schritt an ein Pyrimidindimer und bildet mit diesem einen Enzym-Substrat-Komplex aus. In einem zweiten, licht-induzierten Schritt, absorbiert das Enzym über seine Chromophore ein Photon des UVA-Blaubereichs und stellt damit die Energie zur Spaltung des Cyclobutanrings. Danach dissoziiert das Enzym von der reparierten DNA wieder ab (Sancar & Sancar 1988, Sancar 1994b). Schon 1949 wurde von Kelner das Phänomen der Photoreaktivierung beschrieben: Beim Pilz *Streptomyces griseus* wurde die durch UV-Bestrahlung hervorgerufene reduzierte Konidienbildung durch simultane oder direkt anschließende Bestrahlung mit sichtbarem Licht wieder revertiert. Einige Jahre später wurde in grundlegenden Arbeiten von Rupert (Rupert 1962a, Rupert 1962b) das der Photoreaktivierung zugrunde liegende Reaktionsschema aufgeklärt und gezeigt, daß der Prozeß enzymatischer Natur mit Michaelis-Menten-Kinetik ist. Seither gab es eine Vielzahl weiterer Untersuchungen, die sich mehr und mehr auch mit den molekularen Mechanismen dieses sehr bedeutenden Reparaturmechanismus beschäftigten.

Die bisher bekannten CPD-Photolyasen sind monomere Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 50 000 und 60 000 Dalton, welche in einem stöchiometrischen Verhältnis mit zwei Chromophoren/Cofaktoren ausgestattet sind (Schumann-Jorns et al. 1987). Sie werden, basierend auf der Homologie ihrer Aminosäuresequenz in die Klasse I der mikrobiellen Photolyasen und in die Klasse II der Metazoen-Photolyasen eingeteilt (Sancar & Sancar 1988). Allen Photolyasen gemeinsam ist das reduzierte Flavin-Adenin-Dinucleotid (FADH<sup>-</sup>). Dieser erste Chromophor nimmt die zentrale Rolle bei der Photolyasereaktion ein, da durch ihn die Cyclobutanring-Aufspaltung stattfindet. Der zweite Chromophor (entweder ein Deazaflavin oder ein Folat) fungiert als Lichtsammler und überträgt seine Anregungsenergie auf den Flavin-Chromophor (Sancar 1994b). Während der erste Flavin-Chromophor ein Absorptionsmaximum bei 420 bis 460 nm aufweist, besitzen die zweiten Chromophore unterschiedliche Absorptions-

---

<sup>3</sup> DNA-Photolyase, photoreaktivierendes Enzym (PRE, Desoxyribocyclobutadipyrimidin Pyrimidin-Lyase, EC 4.1.99.3)

charakteristika, wobei die Maxima zwischen 360 und 460 nm liegen (Sancar 1994b).

Die Photolyase ist ein strukturspezifisches DNA-bindendes Protein, dessen Spezifität durch die durch die Dimerisierung veränderte DNA-Rückgrat bestimmt wird. Die Sequenz wirkt sich über diese Verformung auf die Affinität der Photolyase wie folgt aus: TTT>TUU>CUU>CCC, mit einer ca. 10-fach höheren Affinität zu TTT als zu CCC (Kim & Sancar 1991). Dagegen scheint die Tertiärstruktur zumindest bei *E. coli*-Photolyasen keinen Einfluß auf die Aktivität auszuüben (Sancar et al. 1985).

Zusammenfassend unterscheidet sich die Reparatur von DNA-Schädigungen durch Photoreaktivierung von der Excisionsreparatur in drei wesentlichen Punkten:

1. Die Photoreaktivierung spaltet hauptsächlich CPD und ist somit spezifisch für die Reparatur von UVB-Schädigungen, während die Excisionsreparatur auch andere DNA-Schäden beheben kann.
2. Die Photoreaktivierung repariert Schädigungen der DNA durch direkte Rückbildung der Dimere zu Monomeren - ohne Neusynthese und somit im Gegensatz zur Excisionsreparatur ohne zellulären Energieverbrauch.
3. Bei der Photoreaktivierungsreaktion wird die Energie zur Spaltung der Dimere durch Strahlung bereitgestellt, die Excisionsreparatur kann dagegen auch im Dunkeln stattfinden.

Sowohl die Excisionsreparatur als auch die Photoreaktivierung sind vermutlich schon früh in der Evolution entstanden und bei Pflanzen und Tieren weit verbreitet (Sancar 1994b). Sie haben jedoch eine unterschiedliche Bedeutung in den einzelnen Organismengruppen. So scheint bei höheren Pflanzen und vermutlich auch bei Phytoplankton die lichtabhängige Photoreaktivierung der wichtigste Reparaturmechanismus zu sein (Mitchell & Karentz 1993). Dagegen spielt die Excisionsreparatur bei Tieren und Bakterien die dominierende, bei Säugerzellen vermutlich sogar die einzige Rolle bei der Beseitigung von DNA-Schäden (Mitchell & Karentz 1993, Sancar 1994a).

Obwohl in den letzten Jahrzehnten zahlreiche Arbeiten über die Entstehung der durch UVB-Bestrahlung gebildeten Dimere sowie ihrer Reparatur veröffentlicht wurden (Zusammenfassungen in Sancar & Sancar 1994a & 1994b, Mitchell & Karentz 1993), sind viele Fragen offen geblieben. So beschränken sich die meisten diesbezügliche Arbeiten auf häufig unter-

suchte Systeme wie *E. coli*, Hefe und Humanzellen. Untersuchungen bei höheren Pflanzen und Phytoplankton (Zusammenfassungen in Strid et al. 1994, Britt 1995, Karentz 1994) wurden jedoch nur begrenzt durchgeführt. Zum anderen fanden die meisten Untersuchungen unter künstlichen Strahlungsbedingungen und *in vitro* statt, und eine Übertragung der Ergebnisse auf natürliche Strahlungsbedingungen in einer lebenden Zelle ist nicht uneingeschränkt möglich. Auch bei der Photoreaktivierung gibt es bei Pflanzen bisher nur vereinzelt Arbeiten, die sich mit dem molekularen Mechanismus (z.B. Batschauer 1991) oder mit den vor allem für die Ökophysiologie wichtigen Fragen nach der Strahlungs- und Zeitabhängigkeit und somit auch der Anpassungsfähigkeit und Kapazität dieses wichtigen Vorgangs beschäftigen (z.B. Langer & Wellmann 1990, Buchholz et al. 1995). Bei Phytoplankton beschränkte sich der Nachweis der Photoreaktivierung bisher auf die Beobachtung, daß der Dimergehalt in den Zellen durch PAR- oder Blau/UVA-Bestrahlung reduziert wird (Karentz et al. 1991a, Buma et al. 1995). Untersuchungen über die Excisionsreparatur bei Pflanzen wurden bisher nur in geringem Umfang durchgeführt, so daß über die molekularen Mechanismen dieser Reparatur nur wenige Informationen vorliegen (Britt 1995). Dabei konnte auch nicht geklärt werden, ob die Excision im Sinne einer Basenexcision oder einer NER stattfindet. Bei Phytoplankton stammt der bisher einzige Hinweis auf eine Excisionsreparatur aus der Arbeit von Karentz et al. (1991b), die bei antarktischen Diatomeen in Gelblicht, d.h. bei überwiegendem Ausschluß der photoreaktivierend wirksamen UVA/Blau-Strahlung, innerhalb eines Zeitraums von 6 h eine Reduktion von bis zu 60% der Gesamtdimerkonzentration nachweisen konnte.

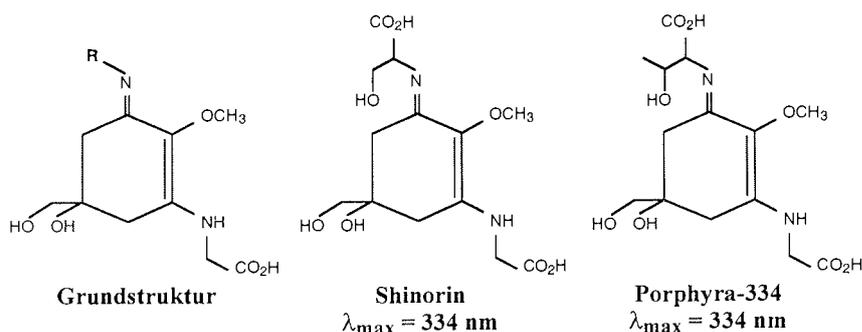
In einigen Arbeiten über Phytoplankton (z.B. Smith et al. 1992, Prézelin et al. 1998) wurde die Hypothese aufgestellt, daß sich die Organismen bezüglich der Photoreaktivierung an eine höhere UVB-Strahlung anpassen können. Bisher gibt es jedoch keine Untersuchungen über die Abhängigkeit der Photoreaktivierung von der Strahlungscharakteristik, der Bestrahlungsstärke sowie der Dauer, Dosis und Wellenlänge der Strahlung. Allerdings konnte in anderen Systemen wie Hefe (Fukui & Laskowski 1984), Goldfischzellkulturen (Yasuhira & Yasui 1992) und höheren Pflanzen (Langer & Wellmann 1990) eine Erhöhung der Photolyaseaktivität durch Vorbestrahlung mit Weißlicht oder UV-Strahlung gemessen werden. Bei

verschiedenen höheren Pflanzen wie Bohnen und Petersilie wird die Induktion der Photolyaseaktivität zumindest teilweise über den Photorezeptor Phytochrom gesteuert (Langer & Wellmann 1990, Buchholz 1996).

### 1.3.3 UV-absorbierende Substanzen

Substanzen, die im UVB- und UVA-Bereich des Sonnenspektrums absorbieren, lassen sich überall im Pflanzenreich finden. Die ersten Untersuchungen über solche UV-absorbierende Substanzen gab es schon vor mehr als 100 Jahren (z.B. Nägeli 1849). In höheren Pflanzen sind hauptsächlich Flavonoide und andere Phenylpropanoide für die Absorption im kurzwelligen Strahlungsbereich verantwortlich (Caldwell et al. 1983, Beggs & Wellmann 1994). Auch bei marinen Organismen begann das Interesse an den UV-absorbierenden Substanzen schon vor der Entdeckung des Ozonlochs in den 70er Jahren. Seit den frühen Untersuchungen von Shibata (1969) an Korallen des Great Barrier Riffs (Australien) und der Charakterisierung ihrer UV-absorbierenden Substanzen als wasserlösliche Pigmente mit einem Absorptionsmaximum im ultravioletten Bereich um 320 nm fanden zahlreiche weitere Untersuchungen statt, die sich mit dem Vorkommen, der Identifizierung und der Physiologie dieser Substanzen in marinen Organismen befaßten (z.B. Dunlap & Chalker 1986, Karentz et al. 1991b, Stochaj et al. 1994, McClintock & Karentz 1997, Karsten et al. 1998). Dabei wurden hauptsächlich sogenannte Mycosporin-ähnliche Aminosäuren (MAAs) identifiziert.

MAAs sind wasserlösliche organische Verbindungen, die aus einem Cyclohexenon-Chromophor bestehen, an den eine Aminosäure oder der entsprechende Aminoalkohol gebunden ist (Abb. 1.5). Alle MAAs besitzen aufgrund der konjugierten  $\pi$ -Elektronensysteme ihrer Chromophore ein Absorptionsmaximum zwischen 310 und 360 nm sowie ein weiteres Maximum bei 265 nm. Bislang wurden fast ein Dutzend verschiedener MAAs in marinen Organismen identifiziert (Bandaranayake 1998) (Tab. 1.1). Von Mycosporin-Glycin, der strukturell einfachsten MAA, wird vermutet, daß sie Ausgangssubstanz für andere MAAs ist (Shick et al. 1991).



**Abb. 1.5:** Molekulare Grundstruktur der MAAs

| MAA                     | Wellenlänge |
|-------------------------|-------------|
| Asterin                 | 330 nm      |
| Mykosporin-Glycin       | 310 nm      |
| Mykosporin-Glycin:Serin | 332 nm      |
| Mykosporin-Glycin:Valin | 335 nm      |
| Mykosporin-Taurin       | 309 nm      |
| Palythen                | 360 nm      |
| Palythensäure           | 337 nm      |
| Palythin                | 320 nm      |
| Palynthinol             | 332 nm      |
| Porphyra-334            | 334 nm      |
| Shinorin                | 334 nm      |

**Tab. 1.1:** Bisher aus marinen Organismen isolierte Mykosporin-ähnliche Aminosäuren (MAAs) sowie Wellenlänge ihrer maximalen Absorption.

Bisher gibt es nur wenige Hinweise auf den Biosyntheseweg und die metabolische Funktion der MAAs in marinen Organismen. Bekannt ist, daß bei den strukturell verwandten Mykosporinen in terrestrischen Pilzen das Cyclohexenon-(C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>)-Gerüst im ersten Teil des Shikimatweges synthetisiert wird (Favré-Bonvin et al. 1987). Der Shikimatweg ist der klassische Syntheseweg für aromatische Substanzen und kommt nur in höheren Pflanzen, einigen Algen, Bakterien und Pilzen vor (Floss 1979). Obwohl MAAs auch in marinen Tieren wie Muscheln, Stachelhäuter und Fischen z.T. in hohen Konzentrationen vorkommen, können MAAs nicht *de novo* von ihnen gebildet werden. Vermutlich gelangen sie durch das aufgenommene Pflanzenmaterial in die Tiere und akkumulieren dort in den verschiedenen Geweben (Karentz et al. 1991b, Adams & Shick 1996, Caroll & Shick 1996). In symbiontischen Organismen wie den Korallen werden

MAAs von den endosymbiontischen Algen gebildet und zum Wirt transportiert (Stochaj et al. 1994).

Auch bei antarktischen Diatomeen sowie natürlichem Phytoplankton wurden MAAs, deren Hauptbestandteil Porphyra-334 ist, identifiziert (Karentz et al. 1991b, Davidson et al. 1994). Es wird vermutet, daß diese MAAs aufgrund ihrer Absorption im UV-Bereich eine schützende Wirkung vor Schädigungen durch UV-Strahlung besitzen (Marchant et al. 1991, Karentz 1991b, Vernet et al. 1994). Vor allem Kolonien von *Phaeocystis* weisen eine hohe Absorption im UV-Bereich auf (Marchant et al. 1991). Die bisherigen Arbeiten beschränkten sich jedoch hauptsächlich auf das Vorkommen und die Identifizierung der MAAs in diesen Organismen. So sind bisher keine Befunde publiziert, die eine direkte Schutzwirkung der MAAs gegen UV-Schädigungen in Phytoplankton, also einen kausalen Zusammenhang zwischen MAA-Gehalt und einer Schadensreduktion belegen. Außer der Schutzwirkung durch Absorption schädlicher UV-Strahlung wurde für MAAs auch eine mögliche Schutzfunktion gegen Radikale diskutiert (z.B. Lesser 1996). Jedoch konnte nur für Mykospurin-Glycin eine geringe antioxidative Wirkung nachgewiesen werden (Dunlap & Yamamoto 1995).

Garcia-Pichel (1994) stellte die These auf, daß für MAAs eine intrazelluläre Konzentrationsgrenze existiert und aufgrund ihres geringen Absorptionsweges Organismen mit einem Radius von  $<10 \mu\text{m}$  nur teilweise und Organismen  $<5 \mu\text{m}$  kaum in der Lage seien, sich mit Hilfe der MAAs vor Schädigungen durch UV-Strahlung zu schützen. Inwieweit dies auf Diatomeen und *Phaeocystis* zutrifft, ist bisher nicht untersucht worden.

Da Phytoplankton einem sich ständig ändernden Strahlungsklima ausgesetzt ist, stellt sich außerdem die Frage, inwieweit sie sich durch eine Erhöhung ihres MAA-Gehaltes an eine höhere UV-Strahlung anpassen können. Hinweise auf eine Induzierbarkeit der MAAs bei marinen Organismen geben Untersuchungen an Dinoflagellaten (Carreto et al. 1990, Banaszak et al. 1995), Cyanobakterien (Garcia-Pichel & Castenholz 1993), Rotalgen (Karsten et al. 1998) sowie natürlichem Phytoplankton (Vernet et al. 1994), bei denen die höchste MAA-Konzentration bei denjenigen Organismen gemessen wurde, die einer höchsten Strahlung ausgesetzt waren. Bei höheren Pflanzen war die Regulation der im UV absorbierenden Flavonoide und Phenylpropane Thema zahlreicher Untersuchungen (z.B. Caldwell et al. 1983, Beggs & Wellmann 1994). Ihre Lichtinduzierbarkeit

unter Beteiligung des Photorezeptors Phytochrom legt nahe, daß ihre Bildung Teil eines Akklimationsprozesses an sich ändernde UV-Strahlungsbedingungen ist.

#### **1.3.4 Wirkungsspektren**

Bei der Untersuchung von wellenlängenabhängigen Prozessen werden im allgemeinen Wirkungs- oder Aktionsspektren erstellt, bei denen die photobiologischen Wirkung in Abhängigkeit von der Wellenlänge der Strahlung aufgetragen wird. Solche Spektren dienen in der Physiologie häufig zur Identifizierung der an den lichtabhängigen Reaktionen beteiligten Chromophore oder Photorezeptoren (Mohr & Schopfer 1978). Wirkungsspektren für UVB-Schädigungen z.B. für DNA (Setlow 1974, Quaitte et al. 1992), Photosynthese und Photoinhibition (Jones & Kok 1966, Halldal 1964) sowie das allgemeine Pflanzenwirkungsspektrum (Caldwell 1971) werden auch für die Bestimmung der sogenannten "biologischen Wirkung" von künstlichen UVB-Strahlungsquellen oder der ozonreduktionsbedingten Erhöhung der UVB-Strahlung verwendet (Cullen & Neale 1997, Horneck 1997). Während zur Ermittlung von Photorezeptoren nur durch monochromatische Strahlung erzeugte Wirkungsspektren benutzt werden, werden in den letzten Jahren auch polychromatische Spektren zur Ermittlung der ökophysiologischen Effekte erstellt (Cullen et al. 1992, Cullen & Neale 1997). Diese berücksichtigen einen Wellenlängenbereich, der gleichzeitig Schädigung sowie Schutz- und Reparaturmechanismen induziert. Um sie von den monochromatischen Wirkungsspektren zu unterscheiden, werden sie häufig als biologische Wichtungsfunktionen ("biological weighting functions") bezeichnet (Cullen & Neale 1997). Wirkungsspektren allein für lichtinduzierte Schutz- oder Reparaturmechanismen wie Photoreaktivierung oder MAA-Bildung wurden bisher bei Phytoplankton nicht erstellt. Die Wirkungsspektren für die Synthese der UV-absorbierenden Flavonoide und Anthocyane bei höheren Pflanzen (Hashimoto et al. 1991, Beggs & Wellmann 1994) sind die bisher einzig bekannten.

## 2 FRAGESTELLUNG

Wie ausführlich in der Einleitung dargestellt wurde, besteht weitgehend Unklarheit bezüglich der Wirkungen einer erhöhten UVB-Strahlung auf Phytoplankton. Diese Wirkungen hängen in komplexer Weise nicht nur von der primären Schädigung, sondern auch von der Wirksamkeit, Kapazität der Schutz- und Reparaturmechanismen sowie der Anpassungsfähigkeit der Organismen ab. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die lichtabhängige DNA-Reparatur (Photoreaktivierung) und die Bildung und Schutzwirkung von Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) bei wichtigen antarktischen Diatomeenarten sowie der Prymnesiophyte *Phaeocystis antarctica* zu untersuchen. Im Vordergrund standen Untersuchungen über die Abhängigkeit von Schädigung, Schutz und Reparatur von der spektralen Zusammensetzung, Stärke und Dauer der auf die Organismen auftreffenden Strahlung. Die Experimente wurden unter konstanten und reproduzierbaren Bedingungen im Labor durchgeführt. Ein Teil der Untersuchungen erfolgte außerdem unter annähernd natürlicher Bestrahlung mit normalem und erhöhtem UVB-Anteil. Dazu wurde ein im Alfred-Wegener gebautes Bestrahlungsgerät, der sogenannte Sonnenscheinsimulator eingesetzt.

Im Einzelnen wurden folgende Zusammenhänge untersucht:

- Abhängigkeit der DNA-Schädigung (Dimerbildung) sowie der Überlebensrate von Stärke, Dauer und Dosis der schädigenden UVB-Strahlung.
- Abhängigkeit der Dimerreparatur sowie Erholung der Zellen von Stärke, Dauer und Dosis der photoreaktivierend wirksamen UVA/Blau-Strahlung.
- Abhängigkeit der Dimerreparatur und Erholung der Zellen von der Dauer und Wellenlänge der Vorbestrahlung.
- Vorkommen und Identifizierung MAAs bei verschiedenen Diatomeen sowie *Phaeocystis antarctica*.
- Abhängigkeit der MAA-Bildung von der Wellenlänge, Dauer und Dosis der Strahlung.
- Schutzwirkung der MAAs gegen Schädigungen durch UVB- und UVA-Strahlung.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Kapitel 4 zusammengestellt. Sie werden in Kapitel 5 übergreifend diskutiert. In Kapitel 3 werden die für die Untersuchungen notwendigen Methoden, Bestrahlungsansätze sowie Auswertungen erklärt.

## 3 MATERIAL & METHODEN

In diesem Kapitel werden zunächst die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Kulturen vorgestellt. Nach einer Beschreibung der verwendeten Bestrahlungsspektren und -geometrien erfolgt die Darstellung der eigentlichen Bestrahlungsexperimente. In einem weiteren Abschnitt werden die jeweiligen Meß- und Auswertungsmethoden erläutert.

### 3.1 Algenkulturen und Kulturmedium

Alle verwendeten Algenkulturen stammen aus der Sammlung für polare Algen des Alfred-Wegener-Institutes. Sie wurden aus dem Plankton des Weddellmeeres isoliert und als Batchkulturen bei  $(1,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$  (für die Experimente unter den Lichtfeldern, s. 3.2.1) bzw.  $(4,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$  (für die Sonnenscheinsimulator-Experimente, s. 3.2.3) im PAR-Feld kultiviert (Bestrahlungsspektrum s. Abb. 3.1). Kulturen, die unter Dauerlicht gehalten werden, sind nicht synchronisiert, d.h. die Zellen befinden sich in unterschiedlichen Phasen des Zellteilungszyklus.

Zum Ansatz der Kulturmedien wurde filtriertes antarktisches Meerwasser ( $0,65 \mu\text{m}$  und  $0,2 \mu\text{m}$  Satorius-Zelluloseacetatfilter) verwendet. Die für die Kulturen erforderliche Anreicherung des Meerwassers mit Mn, Fe, Si, P und N, sowie dem Chelatbildner  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  und dem Vitamin  $\text{B}_{12}$  erfolgte nach Angaben von Stosch v. & Drebes (1964), wobei an allen Nährstoffen außer Si und Fe der zehnte Teil der empfohlenen Menge zugesetzt wurde.

In den nachfolgenden Experimenten wurden insgesamt 10 verschiedene antarktische Diatomeenarten sowie die Prymnesiophyte *Phaeocystis* cf. *antarctica* verwendet (Tab. 3.1). Experimente mit *Phaeocystis antarctica* wurden hauptsächlich mit der kolonialen Form durchgeführt. Um Kulturen mit einheitlicher Koloniegröße zu erhalten, wurden die Stammkulturen 2-5 Tage vor Versuchsbeginn über Gaze mit unterschiedlicher Maschengröße filtriert ( $500 \mu\text{m}$ ,  $100 \mu\text{m}$  oder  $20 \mu\text{m}$ ). Dieses Vorgehen resultierte jeweils in Kulturen, deren Kolonien zu 80% in einem Größenbereich von  $50\text{-}100 \mu\text{m}$ ,  $200\text{-}400 \mu\text{m}$  oder  $800\text{-}1400 \mu\text{m}$  lagen.

**Tab. 3.1:** Zusammenstellung der verwendeten Algenkulturen

| Algenkulturen |  |
|---------------|--|
| a)            | <u>Bacillariophyceae</u>                                 |
|               | <i>Porosira pseudodenticulata</i> (Hustedt) Jousé        |
|               | <i>Thalassiosira tumida</i> (Janisch) Hasle              |
|               | <i>Thalassiosira antarctica</i> Comber                   |
|               | <i>Chaetoceros</i> sp.                                   |
|               | <i>Proboscia inermis</i> (Castracane) Jordan & Lligowski |
|               | <i>Porosira glacialis</i> (Grun.) Jørg.                  |
|               | <i>Cosinodiscus centralis</i> Ehr.                       |
|               | <i>Stellarima microtrias</i> (Ehr.) Hasle & Sims         |
|               | <i>Fragilariopsis linearis</i> (Castracane) Frenguelli   |
|               | <i>Fragilariopsis cylindrus</i> (Grun.) Krieger          |
| b)            | <u>Prymnesiophyceae</u>                                  |
|               | <i>Phaeocystis</i> cf. <i>antarctica</i>                 |

## 3.2 Expositionen mit verschiedenen Bestrahlungsquellen

### 3.2.1 Lampentypen und Lichtfelder

Die Bestrahlungen unter den verschiedenen Lichtfeldern wurden in umgebauten Gefriertruhen (Liebherr GT 1202) bei  $(1,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$  und Dauerlicht durchgeführt. Die Temperaturregelung erfolgte über externe Temperaturregler (Telemeter Electronic). Die Bestrahlung in den für die jeweiligen Bestrahlungsexperimenten unterschiedlichen Behältern (s. 3.2.2) fand immer von oben statt. Die in den Deckel eingebrachten Leuchtstoffröhren konnten je nach Bedarf ausgetauscht werden. Strahlung im UVC-Bereich ( $<280\text{ nm}$ ), die zu einem geringen Teil von den UVB-Röhren emittiert wird, wurde durch eine Plexiglasscheibe (GS 2458, Röhm GmbH, Darmstadt), die gleichzeitig als Abdeckung der Lampen in der Gefriertruhe diente, abgeschirmt. Um eine möglichst gleichmäßige Ausleuchtung zu gewährleisten, wurden alle Innenwände sowie der Boden der Truhen mit Aluminiumfolie ausgekleidet.

Die Lichtmessung der photosynthetisch wirksamen Strahlung (PAR) zwischen 400 und 700 nm erfolgte mit einem Photometer (LICOR Li-189), das mit einem  $4\pi$ -Sensor ausgestattet ist (LICOR-LI 193SB). Für die Messung der spektralen Energieverteilung der verschiedenen Lichtfelder im Bereich von 280-500 nm wurde ein im Alfred-Wegener-Institut entwickelter und gebauter Spektro-Radiometer mit Doppelmonochromator mit einer Auflösung von 1,3 nm verwendet (Tüg & Baumann 1994). Alle Lichtmessungen erfolgten im Bestrahlungsabstand.

Die Bestrahlungsstärke im Wellenlängenbereich der photosynthetisch wirksamen Strahlung (PAR) wird im folgenden, wie allgemein üblich, als Photonenfluß ( $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) angegeben, da für die Photosynthese die Anzahl der absorbierten Photonen wesentlich ist. Bei der UVB- und der UVA-Strahlung wird dagegen meistens der Energiefluß ( $\text{J m}^{-2} \text{s}^{-1} = \text{W m}^{-2}$ ) verwendet.

Im folgenden werden die insgesamt 7 verschiedenen Strahlungsfelder beschrieben. Ein Überblick über ihre spektralen Charakteristiken wird in Abb. 3.1 und Tab. 3.2 gegeben.

#### A: UV/PAR

Das zur Untersuchung der Wellenlängenabhängigkeit von Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) und der Photoreaktivierung verwendete UV/PAR-Feld sollte ungefähr den natürlichen Strahlungsbedingungen entsprechen. Die Bestrahlung erfolgte durch zwei Weißlicht-Fluoreszenzröhren (Osram L 40 W/25), zwei UVA-Röhren (Philips TL 60 W/09N) und eine UVB-Röhre (Philips TL 40 W/12). Der spektrale Bereich der Strahlung wurde mit Hilfe von 3 mm-Kantenabsorptionsfiltern (2 \* WG 305, WG 320, WG 335, WG 360, GG 420; Schott, Mainz) oder Gelbfolie (Nr. 401, Strand Lighting, Wolfenbüttel-Salzdahlum) variiert. Die Bestrahlung unter Gelbfolie wird im folgenden als >460 nm bezeichnet.

#### B: UVB/UVA

Das zur Schädigung der Photosynthese verwendete UVB/UVA-Feld hatte einen höheren UVB- und UVA-Strahlungsanteil als das UV/PAR-Feld und nur einen geringen PAR-Anteil. Die Bestrahlung erfolgte durch zwei UVA-Röhren (Philips TL 60 W/09N) und zwei UVB-Röhren (Philips TL

40 W/12). Es wurden folgende Kantenabsorptionsfilter eingesetzt: WG 305, 2 \* WG 305, WG 320, WG 335, WG 360, GG 420.

#### C: UVB

Für das zur DNA-Schädigung (Dimerbildung) sowie zur Zellschädigung eingesetzte UVB-Feld wurden zwei UVB-Röhren (Philips TL 40W/12) in die Gefriertruhen eingesetzt. Die jeweiligen Bestrahlungsbehälter wurden mit einer Quarzscheibe (BQ4, Sico, Jena) abgedeckt. Über diese wurden zum Einstellen verschiedener Energieflüsse ein bis drei Messingdrahtnetze (Porengröße 0,32\*0,20 mm, Draht Steinle, Freiburg) gelegt. Diese Netze reduzierten die Intensität der Strahlung über den gesamten Wellenlängenbereich um jeweils 60%. Die für die UVB-Strahlung gemessenen Bestrahlungsstärken konnten dadurch auf  $5,0 \text{ W m}^{-2}$  (kein Netz),  $1,7 \text{ W m}^{-2}$  (ein Netz) oder  $0,6 \text{ W m}^{-2}$  (drei Netze) eingestellt werden.

#### D: UVA

Zur photoreaktivierenden Bestrahlung wurde ein UVA-Feld verwendet, das durch eine Weißlicht-Fluoreszenzröhre und zwei UVA-Röhren (Philips TL 60 W/09N) erzeugt wurde. Um Strahlung im UVB-Bereich auszuschließen, die auch zu einem geringen Anteil von den UVA-Röhren emittiert wird, wurde über alle Bestrahlungsbehälter jeweils ein Kantenabsorptionsfilter (WG 335) gelegt. Damit lag der Hauptemissionsbereich der Strahlung zwischen 320 und 420 nm (Abb. 3.1D). Zum Einstellen verschiedener Energieflüsse wurden ein bis drei Messingdrahtnetze (Porengröße 0,32\*0,20 mm, Draht Steinle, Freiburg) über die Versuchsbehälter gelegt. Die für die UVA-Strahlung gemessenen Bestrahlungsstärken konnten dadurch auf  $2,8 \text{ W m}^{-2}$  (kein Netz),  $0,8 \text{ W m}^{-2}$  (ein Netz) oder  $0,25 \text{ W m}^{-2}$  (drei Netze) eingestellt werden.

#### E: PAR

Das PAR-Lichtfeld wurde durch fünf Weißlicht-Fluoreszenzröhren erzeugt (Osram L 40 W/25). Verschiedene Bestrahlungsstärken im Bereich von 20 bis  $350 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  wurden durch Abdeckung der Probengefäße mit neutralen Acetat-Abschwächungsfiltern mit Transmission im Bereich von 10% und 90% eingestellt.

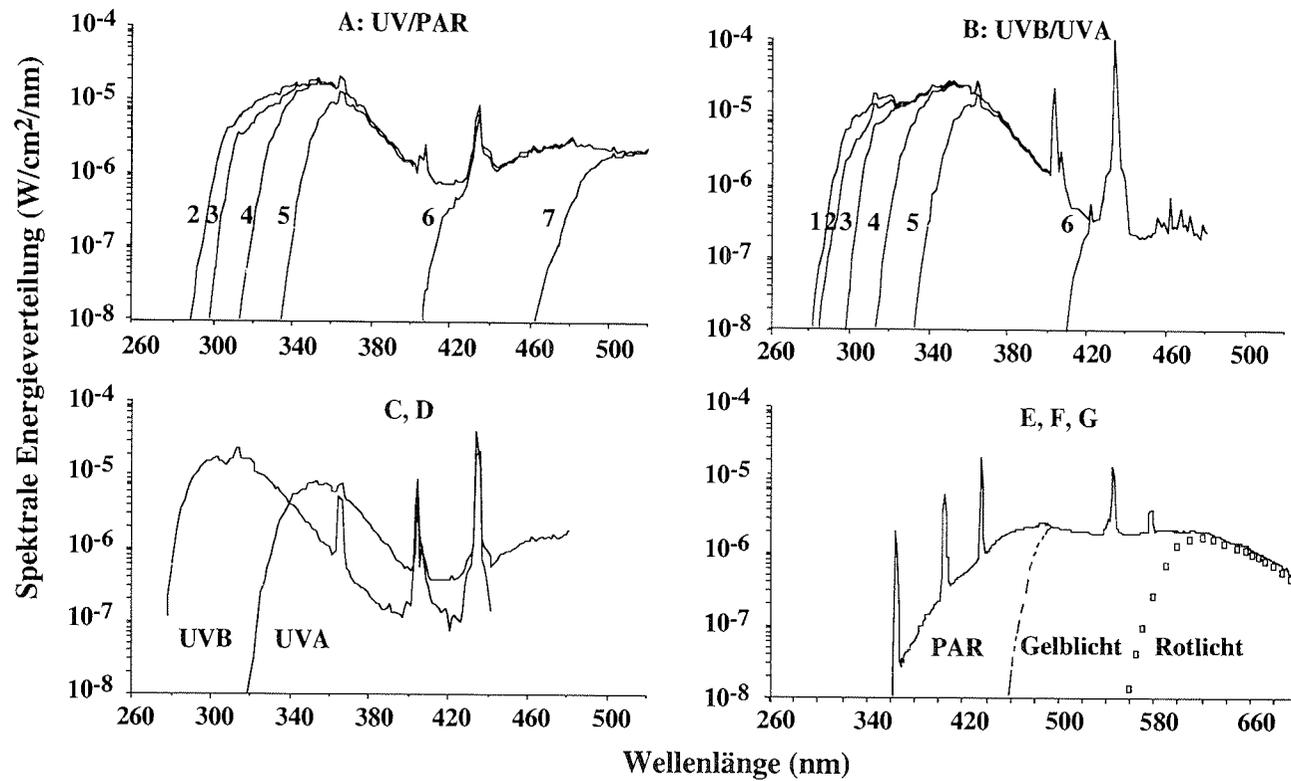
*F: Gelblicht*

Für die Bestrahlung der Kulturen unter Ausschluß von UV/Blau-Strahlung wurden die Kulturgefäße in Glasaquarien, die mit Gelbfolien (Nr. 401, Strand Lighting, Wolfenbüttel-Salzdahlum) beklebt waren, im PAR-Feld exponiert.

*G: Rotlicht*

Um eine ungewollte Photoreaktivierung zu verhindern, die bis zu Wellenlängen von 500 nm stattfinden kann (Saito & Werbin 1969), wurden die Kulturgefäße in Glasaquarien, die mit Rotfolien (Nr. 482, Strand Lighting, Wolfenbüttel-Salzdahlum) beklebt waren, im PAR-Lichtfeld bestrahlt.

Sowohl im Rotlicht als auch im Gelblicht zeigten die Algenkulturen normales Wachstum mit ähnlichen Wachstumsraten wie im PAR-Lichtfeld.



**Abb. 3.1:** Spektrale Energieverteilung der Bestrahlungsfelder, gemessen im Bestrahlungsabstand: UV/PAR (A), UVB/UVA (B), UVB (C), UVA (D), PAR (E), Gelblicht (F), Rotlicht (G). Die Bestrahlungsstärken bei A und B wurden unter folgenden Kantenabsorptionsfiltern gemessen: 1=WG 305, 2=2\*WG 305, 3=WG 320, 4=WG 335, 5=WG 360, 6=GG 420, 7=Gelbfolie (>460 nm). Die Energieverteilung für das Gelblicht und Rotlicht wurde aus den Transmissionen der dafür verwendeten Folien berechnet.

Tab. 3.2: Energieverteilung von UVB-, UVA- und photosynthetisch wirksamer Strahlung (PAR) sowie Verwendung der Bestrahlungsfelder

| Bestrahlungsfelder  | Filter               | $Q_{UVB}$ (W m <sup>-2</sup> )<br>(280-320 nm) | $Q_{UVA}$ (W m <sup>-2</sup> )<br>(320-400 nm) | $Q_{PAR}$ (W m <sup>-2</sup> )<br>(400-700 nm) | $Q_{UVB}/Q_{Gesamt}$<br>*10 <sup>-2</sup> | Experimente   |
|---------------------|----------------------|--|--|--|---|---|
| <b>A: UV/PAR</b>    | 2*WG 305             | 1,1  | 9,1  | 6,4  | 6,5                                       | • Wellenlängenabhängigkeit der<br>MAA-Bildung                                 |
|                     | WG 320               | 0,5  | 9,1  | 6,3  | 3,1                                       |   |
|                     | WG 335               | >0,1   | 7,6  | 6,4  | >0,1                                      | • Wellenlängenabhängigkeit der<br>Photoreaktivierung                          |
|                     | WG 360               | 0  | 3,3  | 6,6  | 0   |   |
|                     | GG 420               | 0  | 0  | 6,4  | 0   |   |
|                     | >460 nm              | 0  | 0  | 6,4  | 0   |   |
| <b>B: UVB/UVA</b>   | WG 305               | 2,8  | 11,5   | 3,6  | 15,6                                      | • Wellenlängenabhängigkeit der<br>Photoinhibition                             |
|                     | 2*WG 305             | 1,7  | 10,5   | 3,6  | 10,7                                      |   |
|                     | WG 320               | 0,8  | 11,5   | 3,6  | 5,0                                       |   |
|                     | WG 335               | >0,1   | 9,2  | 3,6  | >0,1                                      |   |
|                     | WG 360               | 0  | 4,0  | 3,6  | 0   |   |
|                     | GG 420               | 0  | 0  | 3,2  | 0   |   |
| <b>C: UVB</b>       | Quarz                | 5,0  | 2,6  | 1,0  | 58,1                                      | • UVB-Schädigung:   |
| <b>D: UVA</b>       | WG 335               | 0  | 2,8  | 5,3  | 0   | • Photoreaktivierung  |
| <b>E: PAR</b>       |                      | 0  | 0,1  | 5,1  | 0   | • Hälterung von Stammkulturen<br>• MAA-Bildung                                |
| <b>F: Gelblicht</b> | Gelbfolie<br>Nr. 401 | 0  | 0  | 3,7  | 0   | • Wellenlängenabhängigkeit der<br>MAA-Bildung und der Photore-<br>aktivierung |
| <b>G: Rotlicht</b>  | Rotfolie<br>Nr. 482  | 0  | 0  | 1,2  | 0   | • Ausschluß der Photoreaktivierung  |

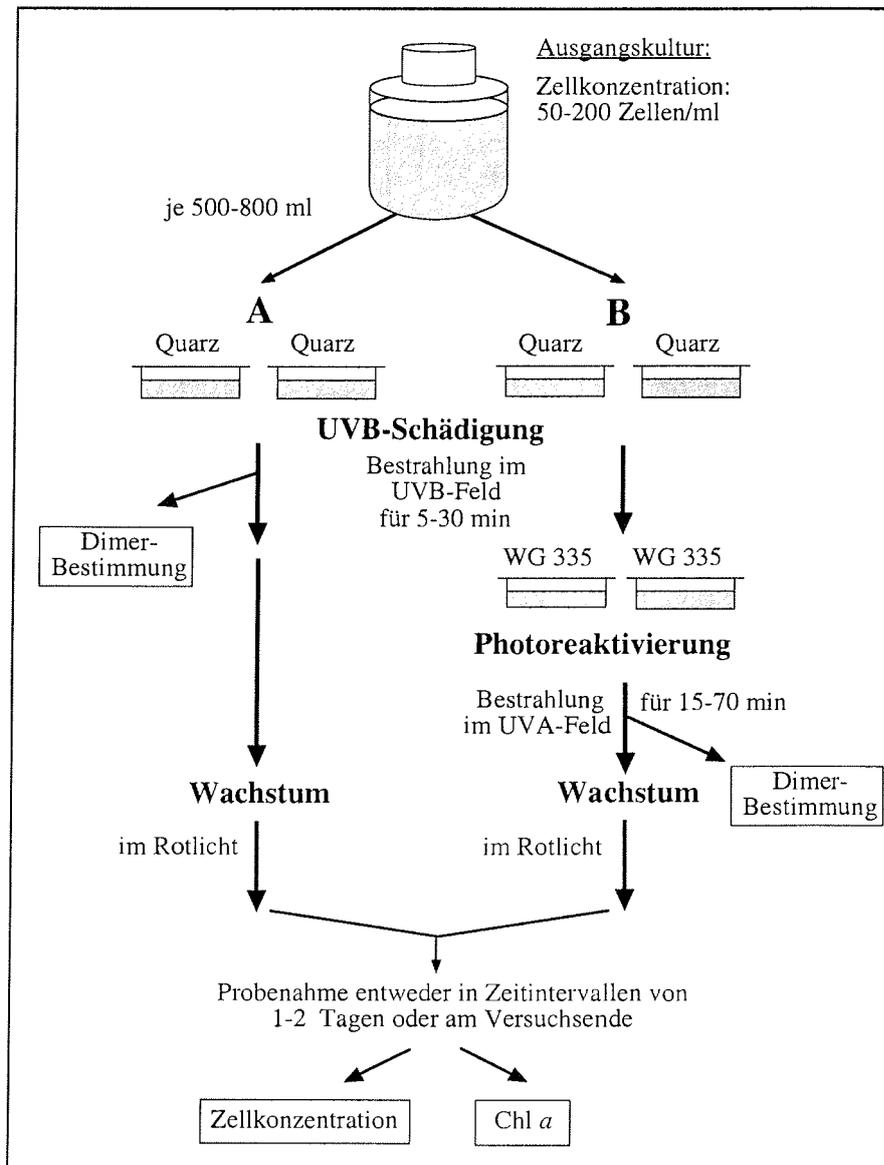
### 3.2.2 Bestrahlungsexperimente Teil I

#### *UVB-Schädigung und Photoreaktivierung*

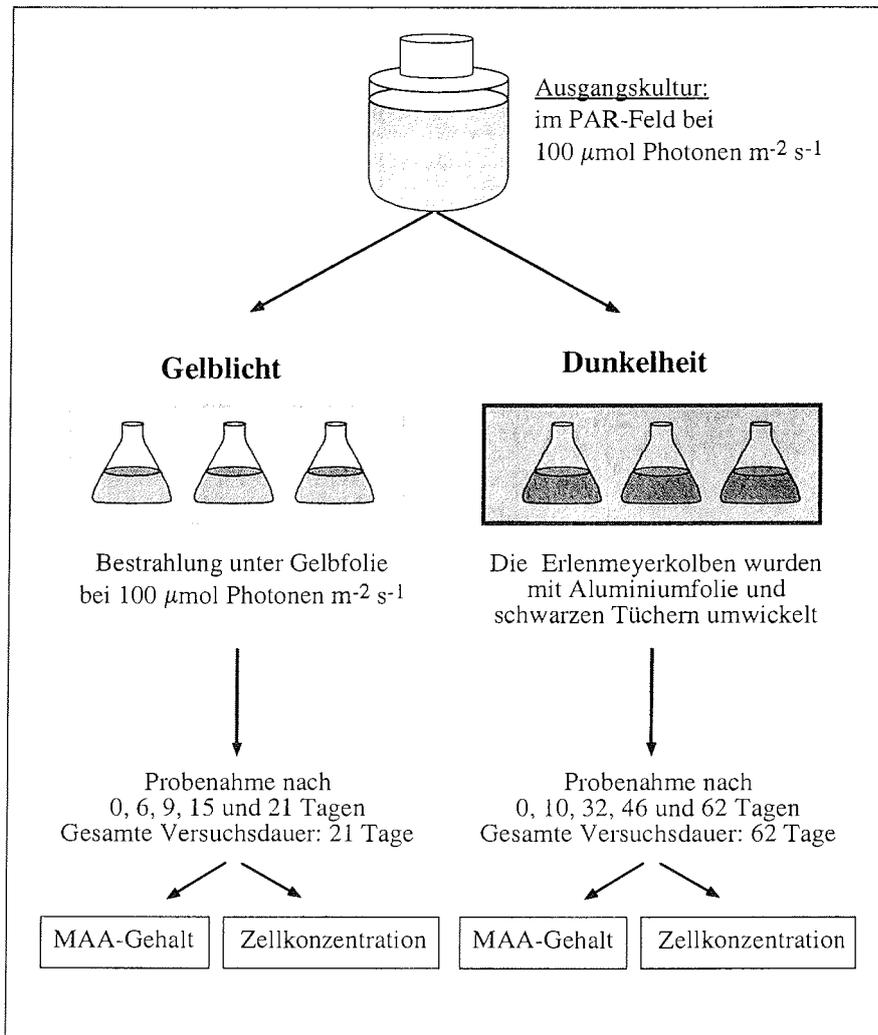
Um UVB-Schädigung und Photoreaktivierung unabhängig voneinander untersuchen zu können, wurden die Kulturen nacheinander Strahlung aus den entsprechenden Wellenlängenbereichen ausgesetzt. Die Bestrahlung zur UVB-Schädigung fand im UVB-Feld statt. Als Bestrahlungsbehälter wurden Plexiglasbehälter (GS 231, Röhm GmbH, Darmstadt) mit einer offenen Bestrahlungsfläche von 225 cm<sup>2</sup> verwendet, die mit einer UV-durchlässigen Quarzscheibe (s. 3.2.1) abgedeckt waren. Da die Plexiglasbehälter UVB-undurchlässig sind, erfolgte die Bestrahlung nur von oben. Zur Photoreaktivierung unter UVA wurden direkt nach der UVB-Bestrahlung die dafür notwendigen Lampen in der Bestrahlungstruhe ausgetauscht. Um eine mögliche Photoreparatur auszuschließen, wurden die Behälter währenddessen mit einem schwarzen Tuch abgedeckt und das Außenlicht ausgeschaltet. Sowohl nach der UVB-Bestrahlung als auch nach der photoreaktivierenden Bestrahlung wurden Proben zur Dimerbestimmung genommen (Abb. 3.2). Zum weiteren Wachstum der Kulturen wurde sowohl direkt nach der UVB-Bestrahlung als auch nach der photoreaktivierenden Bestrahlung jeweils 100-200 ml der Kulturen in Erlenmeyerkolben gegeben und in photosynthetisch wirksamen Rotlicht gehalten. Je nach Versuchsansatz wurden entweder in Intervallen von 1-2 Tagen oder am Versuchsende Proben zur Bestimmung der Chlorophyll *a* (Chl *a*)-Konzentration und der Zellzahl genommen.

#### *Bildung und Abbau von Mykospurin-ähnlichen Aminosäuren*

Zur Untersuchung des Abbaus von Mykospurin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) wurden Algenkulturen, die zuvor unter PAR gehalten worden waren, in Gelblicht oder in Dunkelheit gebracht. Abb. 3.3 zeigt schematisch die Durchführung dieser Versuche.



**Abb. 3.2:** UVB-Schädigung unter nicht photoreaktivierenden (A) und photoreaktivierenden Bestrahlungsbedingungen (B). Schematische Darstellung des Versuchsablaufs und der Probenahme.

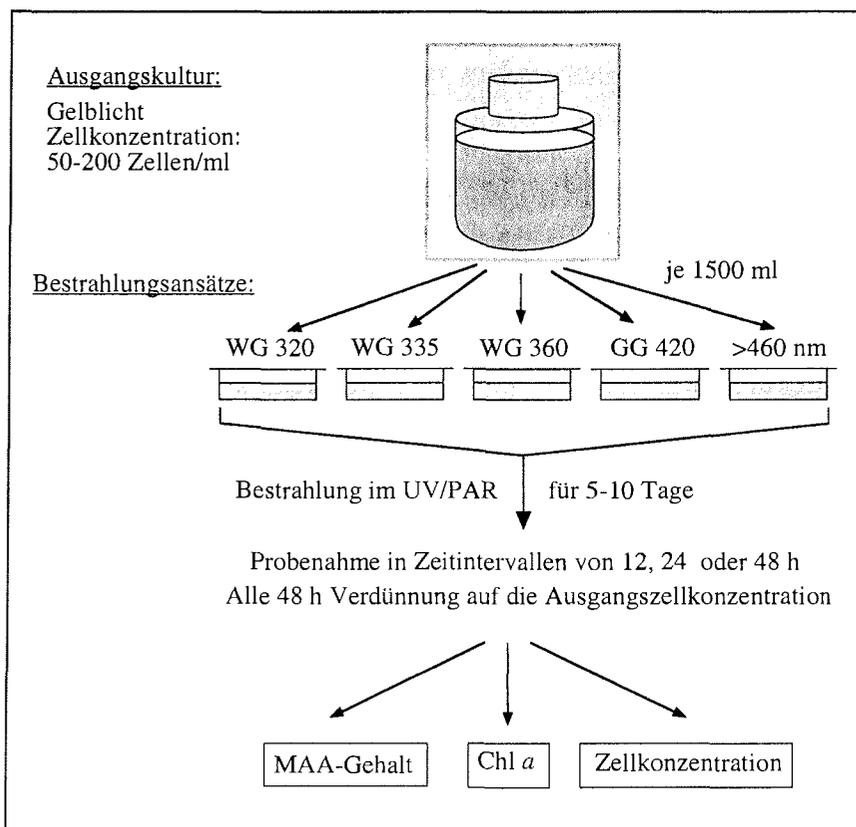


**Abb 3.3:** Abbau von Mycosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) in Gelblicht und in Dunkelheit. Schematische Darstellung des Versuchsablaufs und der Probenahme.

#### *Untersuchung von Wellenlängenabhängigkeiten*

Zur Untersuchung der Wellenlängenabhängigkeit a) der Induktion der Photoreaktivierung, b) der MAA-Bildung und c) der Inhibition der Photosynthese wurden Algenkulturen im UV/PAR-Feld (a & b) bzw.

UVB/UVA-Feld (c) unter verschiedenen Kantenabsorptionsfiltern exponiert (s. Abb. 3.1 & Tab. 3.2). Die Bestrahlungen fanden entweder direkt in den oben beschriebenen Plexiglasbehältern statt (a & b) oder in 100 ml Quarzerlenmeyerkolben, die in diese Behälter gelegt wurden (c). Die Seiten der Behälter wurden mit Gelbfolie abgedeckt und über die Behälter die entsprechenden Kantenabsorptionsfilter gelegt. Da bei dem Kontrollansatz (>460 nm) die verwendete Gelbfolie auch einen Teil des PAR-Wellenlängenbereiches abschneidet, wurde bei diesem Ansatz der Abstand zur Lampe um ca. 10 cm verringert, so daß alle Kulturen mit gleichem PAR-Photonenfluß bestrahlt wurden. In Abb. 3.4 ist der Versuchsablauf exemplarisch für die MAA-Bildung dargestellt.



**Abb 3.4:** Bildung von Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) in Abhängigkeit vom Wellenlängenbereich der Strahlung. Schematische Darstellung des Versuchsablaufs und der Probenahme.

### 3.2.3 Der Sonnenscheinsimulator

Um annähernd natürliche Strahlungsbedingungen sowie einen erhöhten UVB-Anteil zu simulieren, wurde ein sogenannter "Sonnenscheinsimulator" eingesetzt, der von der Arbeitsgruppe Meeresphysik am Alfred-Wegener-Institut entwickelt wurde. Weitere Beschreibungen dieses Bestrahlungsgerätes sowie Experimente mit selbigem sind in Abele-Oeschger et al. (1997) und Bracher & Wiencke (1999) zu finden.

Der Sonnenscheinsimulator besteht im wesentlichen aus einer speziellen Lampe, drei variablen Flüssigkeitsfiltern und einer kühlbaren Bestrahlungsvorrichtung. Als Lichtquelle für die Bestrahlung dient eine Metallogenlampe (Philips MSR, 400 W), die ein der Sonne ähnliches Spektrum aufweist. Das Licht dieser Lampe fällt zuerst durch neutrale Abschwächungsfilter (Metallnetze), und dann durch drei hintereinandergeschaltete Flüssigkeitsfilter und eine Diffusorscheibe. Die drei Flüssigkeitsfilter sind in ihrer Schichtdicke variabel und enthalten wässrige Lösungen aus Kupfersulfat ( $\text{CuSO}_4$ ;  $9,8 \text{ g l}^{-1}$ ), Kaliumnitrat ( $\text{KNO}_3$ ;  $3,8 \text{ g l}^{-1}$ ) bzw. Kaliumchromat ( $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ;  $0,012 \text{ g l}^{-1}$ ) mit unterschiedlichen Absorptionsmaxima im Bereich des UVA/UVB-Spektrums (Abb. 3.5). Im Strahlengang befindet sich ein doppelwandiges Probengefäß, das über einen Thermostat gekühlt wird.

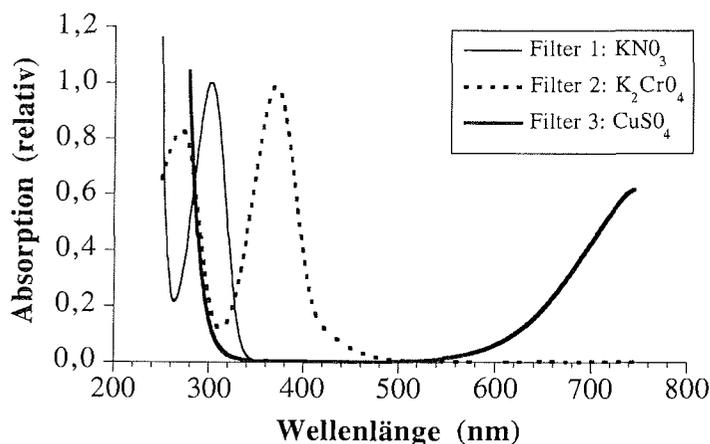


Abb. 3.5: Absorptionsspektren der in den Filtern befindlichen Salzlösungen

Der ultraviolette Bereich der auf die Proben einfallenden Strahlung kann entweder durch Veränderung der Filterschichtdicke oder durch Konzentrationsänderungen der Flüssigkeiten variiert werden. Verschiedene neutrale Abschwächungsfilter (Drahtnetze) unterschiedlicher Transmission (zwischen 0,54 und 0,60) reduzieren den Photonenfluß der Gesamtstrahlung. Ausgehend von der Sonneneinstrahlung und den Vorgaben (gewünschte atmosphärische Bedingungen, Wassertiefe und Ozonkonzentration) kann ein sogenanntes Soll-Spektrum errechnet werden. Das entspricht dem Spektrum des Sonnenlichts, dem die Algen unter natürlichen Bedingungen ausgesetzt sind. Mit diesem Sollspektrum und mit dem gemessenen Lampenspektrum werden dann über eine Anpassungsfunktion die Einstellungen der Flüssigkeitsfilter (Höhe der Filter und Konzentration der Flüssigkeiten) sowie die erforderliche neutrale Abschwächung ermittelt (Abb. 3.6).

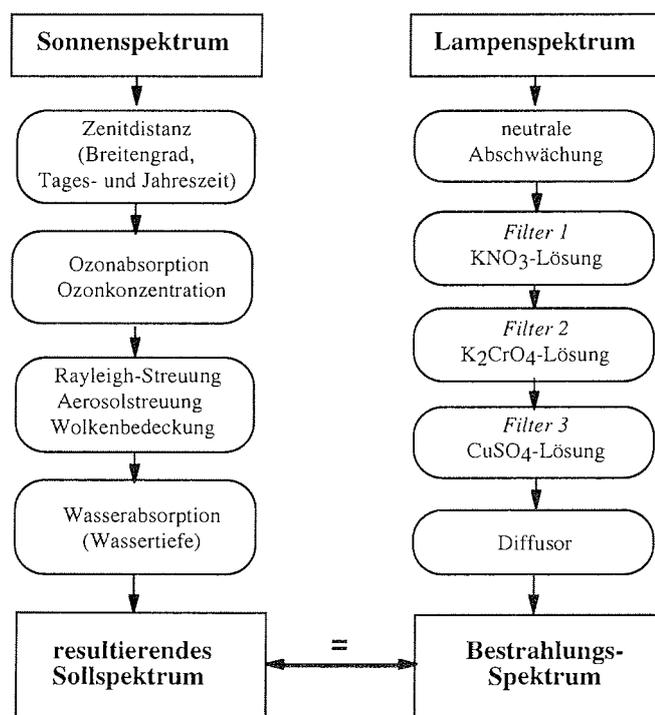


Abb. 3.6: Modell zur Anpassung des Soll-Spektrums

### 3.2.4 Bestrahlungsexperimente Teil II

Für die Bestrahlungsversuche unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen wurde ein Spektrum verwendet, das den Bestrahlungsbedingungen in der Antarktis (55°S) bei Sonnenhöchststand (21. Dezember) und normaler UVB-Strahlung (360 Dobson Units; DU) bzw. einer erhöhten UVB-Strahlung (140 DU) in einer Wassertiefe von 10 m entspricht. Für die Versuche zur DNA-Schädigung wurde aufgrund der unter natürlichen Bedingungen nur geringen Dimerbildung ein Spektrum mit hohem Photonfluß ausgewählt, das den natürlichen Strahlungsverhältnissen an der Wasseroberfläche entspricht. Die spektrale Energieverteilung im Sonnenscheinsimulator wurde kurz vor der Bestrahlung mit Hilfe eines Spektrometers (UV-320D, Instrument Systems, München) im Wellenlängenbereich von 270-700 nm gemessen (Abb. 3.7). Aufgrund der auch im roten Strahlungsbereich absorbierenden Lösung des Filters 3, kam es bei normaler UVB-Bestrahlung (360 DU) zu einer veränderten Einstrahlung im Wellenlängenbereich >580 nm (Abb. 3.7). Die Probentemperatur betrug bei allen Versuchen (4°±1)°C.

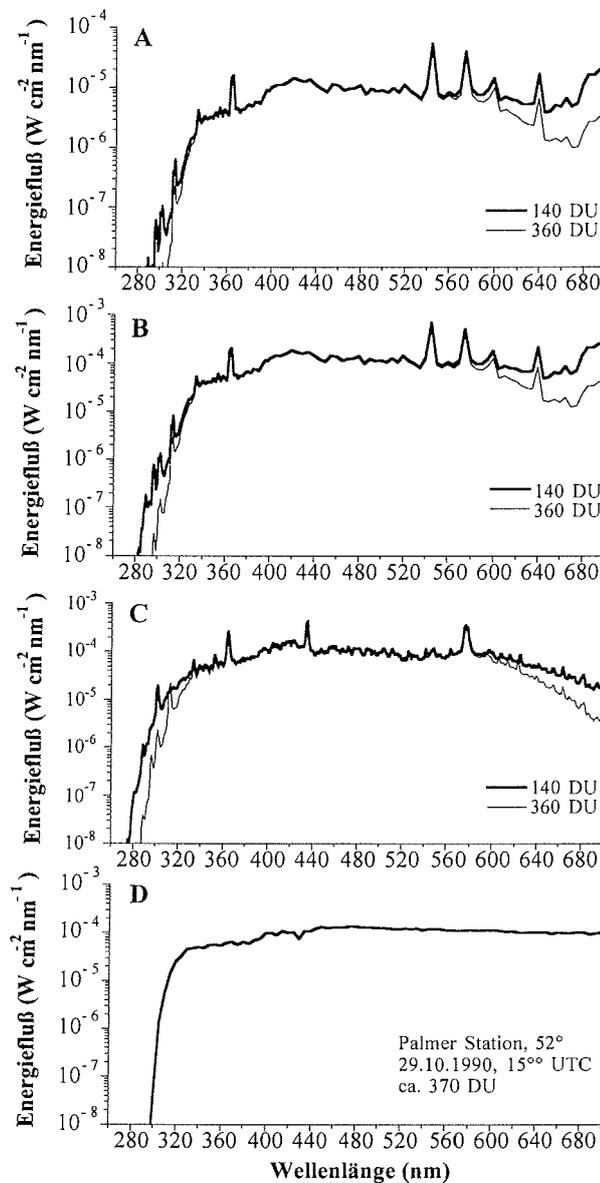
#### *Akkumulation von MAAs*

Zur Untersuchung der Akkumulation von MAAs unter normaler und erhöhter UVB-Einstrahlung wurden Kulturen verwendet, die zuvor bei einem PAR-Photonenflußrate von 100  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert wurden. Sie wurden zunächst für 5 Tage im Sonnenscheinsimulator an Sonnenstrahlung mit normaler UVB-Strahlung (360 DU) gleichen Photonflusses akklimatisiert und anschließend für 3 Tage der erhöhten UVB-Strahlung ausgesetzt (140 DU) (Bestrahlungsspektren und Energieflüsse s. Abb. 3.7A und Tab. 3.3). Die Bestrahlung fand in 50 ml Quarzbechergläsern statt, auf die eine Quarzscheibe gelegt wurde. Nach insgesamt 5 und 8 Tagen wurden Proben zur Bestimmung des MAA-Gehaltes genommen.

#### *Wachstum*

Zur Bestimmung der Wirkung einer erhöhten UVB-Strahlung auf das Wachstum wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata* und *T. antarctica* für insgesamt je 5 Tage bei 360 DU oder 140 DU exponiert (Abb. 3.7A & Tab. 3.3). Die Kulturen waren zuvor ohne UVB-Strahlung im PAR-Feld

gehältert worden. Die Bestrahlung fand in 50 ml Quarzbechergläsern statt, auf die eine Quarzscheibe gelegt wurde. Nach jeweils einem Tag Bestrahlung wurden Proben zur Bestimmung der Zellzahl genommen.



**Abb. 3.7:** Bestrahlungsspektren für die Versuche im Sonnenscheinsimulator: MAA-Akkumulation und Wachstum (A), Photosyntheserate (B), Dimerbildung (C) sowie ein Sonnenlichtspektrum an der Wasseroberfläche (D) (Daten von NSF, Biospherical Instruments Inc., San Diego, USA).

### *Photosyntheserate*

Zur Bestimmung der Photosyntheserate unter normaler und erhöhter UVB-Bestrahlung wurden Kulturen von *T. antarctica* für jeweils eine Stunde bei 360 DU oder 140 DU bestrahlt (Abb. 3.7B & Tab. 3.3). Die Kulturen waren zuvor ohne UVB-Strahlung im PAR-Feld bei 50 oder 180  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert worden. Die Bestrahlung fand in 10 ml Quarzflaschen statt, deren Seiten und Verschlußstopfen mit schwarzem Klebeband beklebt waren und die mit der nicht abgedeckten Unterseite nach oben mittels einer Halterung im Wasserbad fixiert wurden. Hierdurch kann Strahlung nur von oben in die Gefäße eindringen, was den Vorteil hat, daß durch die verschiedenen Filter, die auf die Bestrahlungsoberfläche gelegt wurden, die Bestrahlung definiert verändert werden konnte. Mit den verwendeten Metallfiltern unterschiedlicher Transmission, konnten insgesamt 15 unterschiedliche Bestrahlungsstärken im Bereich zwischen 10 und 1500  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  eingestellt werden. Diese wurden kurz vor dem eigentlichen Experiment in einer aufgeschnittenen Probenflasche und mit den entsprechenden Filtern an der gleichen Position wie im Experiment mit einem Lichtmeßgerät (Biospherical Instruments) gemessen. Da in die Probenflaschen nur ein kleiner Sensor paßte, wurde ein  $4\pi$ -Sensor (QSL 100) verwendet. Nach einer Stunde Bestrahlung wurde der Inhalt der Flaschen zur Bestimmung der Photosyntheserate weiter verarbeitet. Für die Bestimmung des Chl $a$ -Gehaltes wurden die Proben vor der Bestrahlung genommen.

### *Dimerbildung*

Zur Bestimmung der Cyclobutyl-Pyrimidindimere (CPD) unter normaler und erhöhter UVB-Strahlung wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata* für ein und vier Stunden sowohl bei 360 DU als auch bei 140 DU bestrahlt (Abb. 3.7C & Tab. 3.3). Die Kulturen waren zuvor unter Ausschluß von UVB-Strahlung im PAR-Feld bei 50  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  oder 180  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gewachsen. Die Bestrahlung im Sonnenschein-simulator fand in 150 ml Quarzbechergläsern statt, auf die eine Quarzscheibe gelegt wurde. Sofort nach Bestrahlungsende wurden Proben zur Bestimmung des Dimergehaltes genommen.

**Tab. 3.3:** Energieverteilung für die verschiedenen Versuche im Sonnenscheinsimulator MAAs und Zellzahl (A), Photosyntheserate (B), Dimerbildung (C) sowie eines natürlichen Strahlungsspektrums an der Erdoberfläche (D) (s. Abb. 3.7)

|                 | $Q_{UVB}$<br>( $W m^{-2}$ ) | $Q_{UVA}$<br>( $W m^{-2}$ ) | $Q_{PAR}$<br>( $W m^{-2}$ ) | $Q_{UVB}/Q_{Gesamt}$<br>$*10^{-2}$ | PAR<br>( $\mu mol m^{-2} s^{-1}$ ) |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <b>A</b> 360 DU | 0,020                       | 3,9                         | 24                          | 0,07                               | 102                                |
| 140 DU          | 0,044                       | 4,1                         | 31                          | 0,12                               | 130                                |
| <b>B</b> 360 DU | 0,25                        | 49,2                        | 300                         | 0,07                               | 1310                               |
| 140 DU          | 0,56                        | 51,6                        | 388                         | 0,12                               | 1650                               |
| <b>C</b> 360 DU | 1,15                        | 48,1                        | 247                         | 0,38                               | 1050                               |
| 140 DU          | 2,90                        | 53,2                        | 267                         | 0,90                               | 1150                               |
| <b>D</b> 370 DU | 1,01                        | 43,0                        | 333                         | 0,26                               | 1415                               |

### 3.3 Meß- und Auswertungsmethoden

#### 3.3.1 Zellzahl, Zellgröße und morphologische Zellveränderungen

Zur Bestimmung der Zellzahl und der Zellgröße der Diatomeen sowie für die Bestimmung der morphologischen Zellveränderungen wurde jeweils 20 ml Algenkultur aus den verschiedenen Versuchsansätzen in Plastik-Scintillationsgefäße gegeben und mit Formalin fixiert (gepuffert mit Natrium-Hexamin, Endkonzentration 1%). Um Zerstörungen der Kolonien sowie die durch die Fixierung eventuell auftretenden morphologischen Veränderungen zu vermeiden, wurden sowohl die Koloniegröße als auch die Anzahl der Kolonien bei *Phaeocystis antarctica* direkt nach der Probenahme in nicht fixierten Proben bestimmt.

Die Konzentration und die Größe der Zellen/Kolonien wurden im Inversmikroskop (Zeiss IM 35) nach der Methode von Utermöhl (1958) bestimmt. Zur Berechnung des Zellvolumens der Diatomeen wurden 30 Zellen je Kultur im Mikroskop vermessen. Bei der Berechnung des Zellvolumens der Diatomeen wurde eine Zylindergeometrie, bei der Berechnung des Kolonievolumens und des Volumens der Einzelzellen bei *Phaeocystis antarctica* die Geometrie einer Kugel zugrunde gelegt.

Die Zellzahl ( $N$ ) einer *Phaeocystis*-Kolonie wurde entsprechend der Gleichung von Rousseau et al. (1994) aus dem Volumen  $V$  (in  $mm^3$ ) der jeweiligen Kolonien berechnet:

$$\log N = 0,51 \cdot \log V + 3,67 \quad (3.1)$$

Gleichung 3.1 beschreibt eine Regressionsgerade, die aus den Daten verschiedener *Phaeocystis*-Arten ermittelt wurde. Für den Koloniegrößenbereich der für die Versuche verwendeten *Phaeocystis*-Kulturen (10-1500  $\mu\text{m}$ ) ergab sich in der Zellzahlbestimmung ein Fehler zwischen 30 und 50%. Möglich gewesen wäre auch eine direkte Zählung, bei der zuerst die Koloniematrix aufgelöst wird und dann die Zellen gezählt werden. Da auch diese Bestimmung einen hohen Fehler besitzt und noch dazu wesentlich zeitaufwendiger ist, wurde die indirekte Zählung hier vorgezogen.

### 3.3.2 Bestimmung von Wachstumsrate und Überlebensrate

Die Wachstumsrate  $\mu$  einer unbestrahlten Kultur läßt sich wie folgt berechnen (Eppley 1972):

$$\mu = \frac{1}{\Delta t} \ln \frac{N_t}{N_0} \quad (3.2)$$

$N_t$ : Zellkonzentration zum Zeitpunkt t (Zellen  $\text{ml}^{-1}$ )

$N_0$ : Zellkonzentration zum Zeitpunkt  $t_0$  (Zellen  $\text{ml}^{-1}$ )

$\Delta t$ :  $t - t_0$

Die Überlebensrate der Zellen nach schädigender UVB-Bestrahlung wurde aus dem Anteil der überlebenden Zellen zum Zeitpunkt t ( $N_t$ ), der Anfangskonzentration der Zellen ( $N_0$ ) sowie der Wachstumsrate einer unbestrahlten Kontrollkultur ( $\mu$ ) berechnet (Erklärung siehe 4.2.2). Die Anfangszellkonzentration nach der UVB-Bestrahlung ( $N_0$ ) setzt sich aus der Anzahl an lebenden, d.h. noch teilungsfähigen Zellen und dem Anteil an Zellen zusammen, die nach der Bestrahlung nicht mehr teilungsfähig sind:

$$N_0 = N_0(\text{teilungsfähig}) + N_0(\text{nicht teilungsfähig}) \quad (3.3)$$

oder:

$$\begin{aligned} N_0 &= aN_0 + bN_0 \\ a + b &= 1 \end{aligned} \quad (3.4)$$

Für die nach der UVB-Bestrahlung wachsende Kultur gilt:

$$N_t^{UV} = N_t(\text{teilungsfähig}) + N_t(\text{nicht teilungsfähig}) \quad (3.5)$$

oder:

$$N_t^{UV} = aN_0 \cdot e^{\mu t} + bN_0 \quad (3.6)$$

Die Überlebensrate der UVB-bestrahlten Kultur kann dann aus der Anzahl der lebenden Zellen zum Zeitpunkt  $t$  ( $N_t$  teilungsf.) und der Anfangszellkonzentration ( $N_0$ ) berechnet werden:

$$\begin{aligned} \text{Überlebensrate (\%)} &= a \cdot 100 \\ &= \frac{N_t(\text{teilungsfähig})}{N_0 \cdot e^{\mu t}} \cdot 100 \end{aligned} \quad (3.7)$$

### 3.3.3 Quantifizierung und Identifizierung von UV-absorbierenden Substanzen

#### *In vivo-Absorption von Algenkulturen*

Zur Ermittlung des *in vivo*-Absorptionsverhaltens von Algenkulturen wurde ein mit einer Ulbricht-Kugel ausgestattetes Spektrophotometer (Varian Cary 3E) benutzt. Zwei ml der gekühlten Kulturen mit einer Konzentration von mindestens  $20 \mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$  wurden in Quarzküvetten von 1 cm Länge gegeben und ein Absorptionsspektrum von 250-750 nm aufgenommen. Als Referenz diente eine Kulturlösung, die zuvor zur Entfernung der Algenzellen und größerer Partikel durch eine Spritzenfiltrationspatrone ( $0,2 \mu\text{m}$ ) filtriert wurde.

#### *Absorption von Algenextrakten*

Zur Extraktion UV-absorbierender Substanzen und photosynthetischer Pigmente wurden 50 bis 100 ml der Algenkulturen über Glasfaserfilter (GF/C Whatman, 25 mm) filtriert. Die Filter wurden entweder bis zur weiteren Behandlung bei  $-20^\circ\text{C}$  eingefroren oder direkt in 80%igem Ethanol (24 h,  $4^\circ\text{C}$ ) im Dunkeln extrahiert. Danach wurde der Extrakt für 10 min bei 3000 g zentrifugiert, der Überstand dekantiert und in einem Spektrophotometer (PU8 720 UV/Vis Spektrophotometer, Philips) ein Absorptionsspektrum zwischen 250 und 750 nm aufgenommen.

*Gesamtgehalt an UV-absorbierende Substanzen*

Als Maß für den Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen wurde der aus den Absorptionsspektren ermittelte Absorptionskoeffizient einer Zelle ( $A_{UV}/\text{Zelle}$ ; gemessen in 1 ml Volumen) verwendet. Er wurde mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes aus der Absorption ( $A_{UV}$ ) - gemessen im UV-Maximum in einer Küvette von 1 cm Länge - und der im Extrakt bzw. in der Kultur ermittelten Zellkonzentration  $N_E$  bestimmt:

$$A_{UV} / \text{Zelle} = \frac{A_{UV}}{N_E \cdot d} \quad (\text{cm}^2) \quad (3.8)$$

$d$ : Schichtdicke der Küvette (cm)

$N_E$ : Zellkonzentration des Extraktes oder der Kulturlösung (Zellen  $\text{cm}^{-3}$ )

Da Zellzählungen von *Phaeocystis antarctica*-Kolonien einen großen Fehler aufweisen, wurden für sie als Maß für den Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen das Verhältnis der Absorption im UV-Maximum zur Absorption des Chlorophyll *a* bei 664 nm verwendet ( $A_{UV/664}$ ).

Der Gesamtgehalt an UV-absorbierenden Substanzen wurde auch als indirekte Bestimmung des zellulären MAA-Gehaltes verwendet (Erklärung s. Kap. 4.2).

*Berechnung von Abschirmungsfaktoren*

Aus der *in vivo*-Absorption der Algenkulturen wurden zur Beurteilung der Schutzwirkung von Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) sogenannte Abschirmungsfaktoren ( $S$ ) - im englischsprachigen werden sie als "sunscreen-factors" bezeichnet - entsprechend den Gleichungen von Garcia-Pichel (1994) berechnet. Bei der Berechnung der Abschirmungsfaktoren wird angenommen, daß die absorbierenden Substanzen homogen in der Zelle oder Kolonie verteilt sind und sich die zu schützende Struktur (z.B. DNA) im Zentrum der Zelle befindet. Die Werte von  $S$  sind wellenlängenabhängig (normalerweise werden sie für das Absorptionsmaximum berechnet) und können zwischen 1 (alle Photonen werden absorbiert) und 0 (keine Absorption) variieren.

$$S = \frac{J_{tot} - J_{bkg}}{1 - J_{bkg}} \quad (3.9)$$

$J_{bkg}$ : Wirkungsfaktor für die Hintergrundabsorption der Zelle

$J_{tot}$ : Wirkungsfaktor der Selbstbeschattung der ganzen Zelle

$J_{bkg}$  und  $J_{tot}$  wurden berechnet nach:

$$J_{bkg} = 1 - \frac{1}{a_s r} - \frac{e^{-2a_s r} - 1}{2(a_s r)^2} \quad (3.10A)$$

$$J_{tot} = 1 - \frac{1}{a_s r} - \frac{e^{-2a_s r} - 1}{2(a_s r)^2} \quad (3.10B)$$

Wobei  $r$  der Radius der Zellen oder der *Phaeocystis*-Kolonien ist, und  $a_s$  der aus dem oben beschriebenen zellulären Absorptionskoeffizienten der Kulturen (Absorption einer Zelle in einem ml Volumen) berechnete Absorptionskoeffizient des Zellvolumens (Absorption einer Zelle pro Zellvolumen,  $V$ ) ist. Da zur Berechnung der Abschirmungsfaktoren der Basis  $e$  spezifische Absorptionskoeffizient benötigt wird, muß mit dem entsprechenden Faktor multipliziert werden.

$$a_s = 2.304 \cdot \frac{A_{UV}}{V} \quad (3.11)$$

$J_{tot}$  wurde von Kulturen bestimmt, die unter mittleren Strahlungsverhältnissen von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert wurden und  $J_{bkg}$  von in Gelblight gehälterten Kulturen, die nur einen geringen Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen aufweisen. Das mittlere Zellvolumen wurde durch diese unterschiedliche Bestrahlung nicht signifikant verändert. Für Diatomeenzellen sowie für *Phaeocystis*-Zellen und -Kolonien wurde zur Berechnung des Radius aus dem Zell- bzw. Kolonievolumen eine Kugelgeometrie zugrunde gelegt.

*Identifizierung und Quantifizierung von MAAs*

Die Mykospurin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) wurden mit Hilfe der Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC) unter Verwendung eines Waters 600 MS HPLC-Systems aufgetrennt und quantifiziert (Methode nach Nakamura et al. 1982, Dunlap & Chalker 1986). Alle Chemikalien waren von Merck und besaßen HPLC-Reinheit. Jeweils 50-100 ml der Algenkulturen wurden mit Unterdruck über Glasfaser-Filter (GF/C Whatman, 25 mm) filtriert, die Filter in Probengefäße gegeben, sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur weiteren Verarbeitung bei  $-70^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt.

Zur Extraktion der MAAs aus den Algenzellen wurden die aufgetauten Filter mit 1,5 ml 25%igem Methanol versetzt und für 24 h bei  $4^{\circ}\text{C}$  extrahiert. Nicht gelöste Partikel wurden durch Filtration über Glasfaserfilter (GF/C Whatman) entfernt. Jeweils 10  $\mu\text{l}$  des Filtrats wurden in die Probensäule (RP-8, 25 cm, Waters), die von einer Vorsäule (RP-8, 1 cm, Waters) geschützt war, eingebracht. Die MAAs wurden isokratisch mit 15% Methanol und 0,06% Essigsäure (V/V) bei einer Flußrate von  $0,7 \text{ ml min}^{-1}$  und  $20^{\circ}\text{C}$  eluiert. Die Detektion der MAAs aus dem Eluat erfolgte mittels eines Photodiodenarrays (Waters 966) durch UV-Absorptionsmessung bei der maximalen Absorption der MAAs im Bereich zwischen 320 und 340 nm. Die entsprechenden MAAs wurden durch Vergleich ihrer Retentionszeit und Absorptionsmaxima mit bekannten Standards, die freundlicherweise von F. Garcia-Pichel (MPI für marine Mikrobiologie, Bremen) zur Verfügung gestellt wurden, identifiziert. Da die Konzentration dieser Standards nicht bekannt war, wurde die MAA-Konzentration in den Proben über die Absorptionsfläche und den aus der Literatur bekannten molaren Extinktionskoeffizienten berechnet: Shinorin:  $E_{334} = 44668$  (Stochaj et al. 1994), Porphyra-334:  $E_{334} = 43300$  (Takano et al. 1978). Im Falle des instabilen Mykospurin-Glycins wurde, wie bei Dunlap & Chalker (1986) beschrieben, der Extinktionskoeffizient des stabilen Methylesters verwendet:  $E_{310} = 28100$  (Ito & Hirata 1977).

### 3.3.4 Chlorophyll- und Photosynthesemessungen

#### *Fluorometrische Bestimmung der Konzentration an Chlorophyll a*

10 bis 100 ml der Algenkulturen wurden mit Unterdruck über Glasfaserfilter filtriert (GF/C Whatman, 25 mm), in der Zelmühle homogenisiert und in Aceton (90%) für zwei Stunden bei 4°C im Dunkeln extrahiert. Die Konzentration an Chlorophyll *a* (Chl *a*) wurde fluorometrisch im Turner-Fluorometer nach der Methode von Evans et al. (1987) bestimmt. Pro Versuchsansatz wurden jeweils zwei bis drei Parallelen gemessen und daraus der Mittelwert bestimmt.

#### *Bestimmung der Photosyntheserate*

Die Bestimmung der Photosyntheserate erfolgte über die Messung der <sup>14</sup>C-Assimilation nach einstündiger Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator. Dazu wurden 10 ml der entsprechenden Kultur in die Bestrahlungsgefäße gegeben und für 15 min in Dunkelheit gehalten, bevor sie mit 0,7-1,0 µCi/10 ml (2590-3700 Bq/10 ml) NaH<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> (Amersham Buchler) inkubiert wurden. Nach genau einer Stunde Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator wurden die Proben in 20 ml Plastikgefäße überführt. Durch Zugabe von 100 µl 6N HCl wurde die Photosynthese gestoppt. Um das restliche anorganische <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> zu entfernen, wurden die Proben anschließend für 24 h geschüttelt. Nach Zugabe von jeweils 10 ml Scintillationscocktail (Quickzint 1, Zinsser) wurde die Radioaktivität in einem Scintillationszähler (Canberra-Packard, 2550 TR/LL) gezählt. Die Berechnung der Kohlenstoff-Aufnahmeraten erfolgte nach Strickland & Parsons (1972) aus der Gesamtaktivität, den Dunkelproben und den Werten der lichtinkubierten Proben. Die Parametrisierung der Photosynthese-Strahlungskurven (PI-Kurven) erfolgte mit Hilfe des Modells von Eilers & Peeters (1988). Bei diesem dynamischen Modell wird die Lichthemmung, im Gegensatz zu den oft benutzten statischen Modellen mitberücksichtigt.

#### *Messung der Quantenausbeute des Photosystems II (PS II)*

Die Quantenausbeute des PS II, die im Englischen als "quantum yield" bezeichnet wird, wird bestimmt als Quotient aus variabler Fluoreszenz ( $F_v$ ) und maximaler Fluoreszenz ( $F_m$ ) und gilt als ein relatives Maß für die Wirksamkeit der Photosynthese. Sie gibt an, mit welcher Effektivität die Anregungsenergie aus den Antennenkomplexen in die "geöffneten" Reak-

tionszentren des PS II übertragen wird. Ein weiterer Parameter ist die Grundfluoreszenz ( $F_0$ ) aus der sich die variable Fluoreszenz berechnen läßt ( $F_v = F_m - F_0$ ).  $F_0$  ist ein Maß, ab welcher Lichtintensität eine Ladungstrennung im PS II induziert wird;  $F_m$  ist die maximale Fluoreszenz bei geschlossenem PS II-Zentrum.

Die verschiedenen Fluoreszenzparameter wurden mit Hilfe eines Puls-Amplituden-Modulierten Fluorometers (PAM Walz, Effeltrich) gemessen. Vorteil dieser fluorometrischen Methode ist, daß sie es erlaubt, Photosynthesemessungen auch *in vivo* sehr schnell durchzuführen.

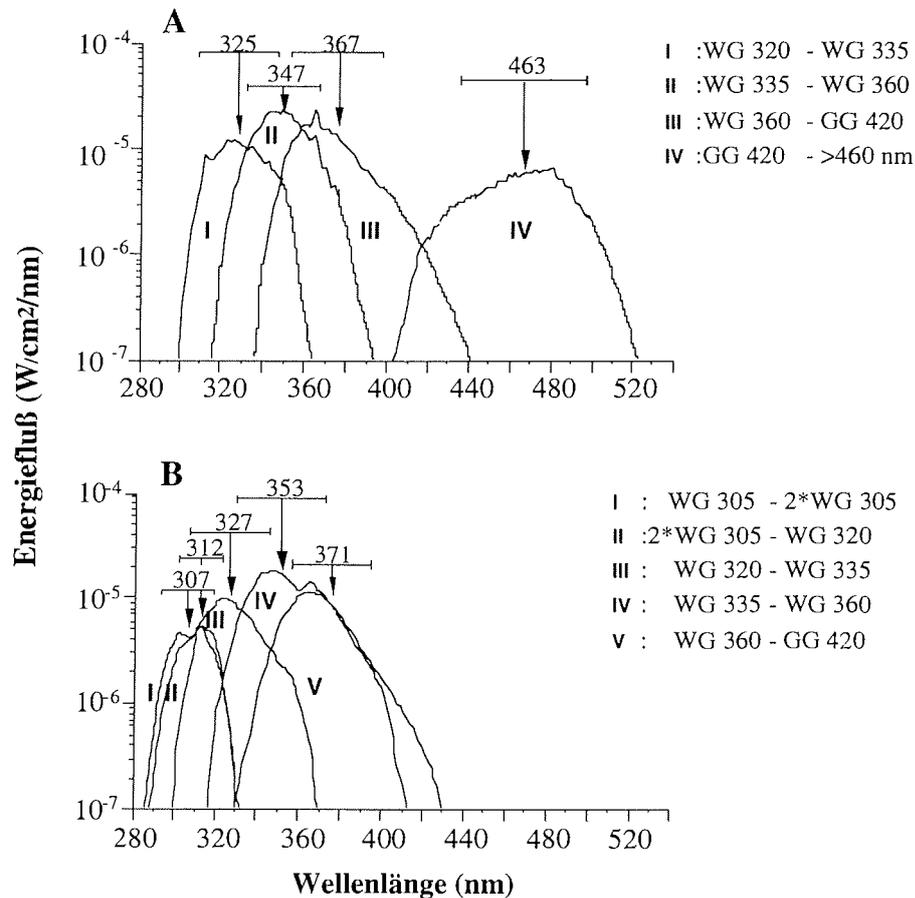
Zur Ermittlung der Grundfluoreszenz  $F_0$ , bei der alle Reaktionszentren vollständig geöffnet sind und der Primärakzeptor oxidiert ist, wurden die bestrahlten Kulturen zuerst für 15 min in Dunkelheit gebracht und dann in einer Quarzküvette mit einem Meßlicht geringer Intensität bestrahlt. Nach einem kurzen, starken Sättigungspuls, durch den alle Primärakzeptoren vollständig reduziert werden, konnte dann die maximale Fluoreszenz ( $F_m$ ) gemessen werden.

### 3.3.5 Wirkungskurven für MAA-Bildung und Photoinhibition

Zur Untersuchung der Wellenlängenabhängigkeit von MAA-Akkumulation und Photoinhibition (Reduktion der Quantenausbeute des PS II) wurden polychromatische Wirkungskurven erstellt. Im folgenden werden Veränderungen der MAA-Konzentrationen und Quantenausbeuten als Wirkung bezeichnet. Um die Wellenlängenabhängigkeit der Wirkung beschreiben zu können, wurden aus den verwendeten Spektren (Abb. 3.1) für aufeinanderfolgende Kantenabsorptionsfilter durch einfache Subtraktion sogenannte Differenzspektren gebildet (Abb. 3.8). Desweiteren wurde die spektrale Wirksamkeit als Quotient aus Wirkungsdifferenz und Integral des entsprechenden Differenzspektrums ( $\Delta I$ ) definiert, um eine auf die Energiedosis normierte Größe zu erhalten (Rundel 1983):

$$\text{spektrale Wirksamkeit } (\lambda) = \frac{\Delta \text{Wirkung}}{\Delta I(\lambda)} \quad (3.12)$$

Diese spektralen Wirksamkeiten wurden gegen den Medianwert der jeweiligen Differenzspektren aufgetragen (Abb. 3.8).



**Abb. 3.8:** Energiefluß-Differenzspektren des für die Wellenlängenabhängigkeit der MAA-Bildung verwendeten UVB/PAR-Feldes (A) und des für die Wellenlängenabhängigkeit der Photoinhibition verwendeten UVB/UVA-Feldes (B). Die Zahlen bezeichnen die Medianwerte und die Balken die 90%ige Bandbreite der Energiedifferenzen.

### 3.3.6 Bestimmung der Cyclobutyl-Pyrimidindimere (CPD)

Zur Quantifizierung der Cyclobutyl-Pyrimidindimere (CPD) wurde je nach Versuchsansatz entweder ein Radioimmunoassay (RIA) oder ein enzymgekoppelter Immunoassay (ELISA) verwendet. Beide Bestimmungsmethoden beruhen auf der Erkennung der Dimere durch spezifische Antikörper. Während jedoch bei dem im Radioimmunoassay verwendeten polyklonalen

Antiserum (IV7, Arbeitsgruppe Wellmann, Freiburg) hauptsächlich Thymindimere (T[TT]) bestimmt werden (Buchholz 1996), weist der für den ELISA verwendete Antikörper (TDM-2, Arbeitsgruppe Nikaido, Japan) keine definierte Spezifität für die einzelnen CPD-Spezies auf (Mori et al. 1991).

Einer der wesentlichen Vorteile des RIA ist außer der hohen Spezifität für T[TT] die Bestimmung der absoluten Konzentration über Eichkurven. Die Ergebnisse des ELISA hingegen liefern nur relative Angaben der CPD-Gesamtmenge. Absolute Konzentrationsangaben der CPD oder gar einzelner Dimerspezies, z.B. T[TT], sind bislang in diesem ELISA nicht möglich. Allerdings ist die Empfindlichkeit der CPD-Messung im ELISA wesentlich höher. Weitere Vorteile sind, daß wesentlich geringere DNA-Mengen benötigt werden (ca. 1/10 der im RIA benötigten DNA-Menge) und die Methode einfacher und schneller angewendet werden kann.

Bei beiden Methoden muß die Desoxyribonukleinsäure (DNA) zuerst aus dem bestrahlten Algenmaterial isoliert werden. Für den RIA muß außerdem die zu untersuchende DNA vollständig hydrolysiert werden, da das eingesetzte Antiserum nicht innerhalb der DNA bindet.

#### *Probenahme und DNA-Isolierung*

50 bis 500 ml der zu bestimmenden Kulturen wurden sofort nach Bestrahlungsende im Dunkeln über Nucleopore-Filter abfiltriert (2 µm Porengröße; 2,5 cm Durchmesser; Satorius), die Filter in Eppendorf-Reaktionsgefäße gegeben und sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren. Bis zur weiteren Bestimmung wurden die Proben bei -70°C gelagert.

Zur DNA-Isolierung wurden die tiefgefrorenen Proben aufgetaut und mit 1200 µl Extraktionspuffer (2% CTAB; 1,4 M NaCl; 0,2% 2-Mercaptoethanol; 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCL (pH 8,0)) und einer Spatelspitze Glaskugeln versetzt. Zur Extraktion wurde die Lösung für 30 min unter gelegentlichem Schütteln bei 60°C inkubiert und 10 min bei 15000 min<sup>-1</sup> zentrifugiert, wobei die Zelltrümmer ein Pellet bildeten. 1000 µl des klaren Überstandes wurden mit dem gleichen Volumen Chloroform-Isoamylalkohol (V/V, 24:1) versetzt und geschüttelt. Nach erneuter Zentrifugation (10 min, 15000 min<sup>-1</sup>) wurden 800 µl der oberen wäßrigen Phase abgezogen und die DNA durch Zugabe von 530 µl kaltem (-20°C) Isopropanol ausgefällt. Bei diesem Schritt wurde die DNA-Extraktion

unterbrochen und die Proben bis zur weiteren Aufarbeitung (2-10 Tage später) bei  $-30^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt. (Methode modifiziert nach Doyle & Doyle 1990). Zu beachten ist, daß bei dieser Extraktionsmethode auch die Ribonukleinsäure (RNA) mitextrahiert wird. Diese enthält jedoch keine T[]T, da in der RNA Thymin durch Uracil ersetzt wird.

#### *Bestimmung der DNA-Konzentration*

30  $\mu\text{l}$  des Aliquots der oberen Phase der Chloroform-Isoamylalkoholextraktion wurden durch Zugabe von 20  $\mu\text{l}$  kaltem Isopropanol 30 min bei  $-10^{\circ}\text{C}$  gefällt. Nach dem Zentrifugieren (30 min,  $4^{\circ}\text{C}$ ,  $15000\text{ min}^{-1}$ ) wurde das DNA-Pellet in 70  $\mu\text{l}$  destilliertem Wasser aufgenommen und 10 min geschüttelt. Die gelöste DNA wurde in 1  $\mu\text{l}$ -Quarz-Präzisionsküvetten (Hellma) gegeben und die Extinktion im Spektrometer (Utrospec III, Pharmacia) bei den Wellenlängen 260 und 280 nm gemessen. Die Konzentrationen wurden nach der Vorgabe für doppelsträngige DNA berechnet (Sambrook et al. 1989):

$$1\ \mu\text{g DNA ml}^{-1} = \frac{1}{50} OD_{(260\text{nm})} \quad (3.13)$$

*OD* : Optische Dichte

#### *Hydrolyse der DNA*

Das in Isopropanol gefällte DNA-Pellet wurde für 30 min bei  $4^{\circ}\text{C}$  zentrifugiert und der Überstand ohne Beschädigung des DNA-Pellets mit einer Pasteurpipette abgezogen. Das DNA-Präzipitat wurde 30 min bei Raumtemperatur leicht angetrocknet und in 1,8 ml 90%-iger Ameisensäure gelöst. Die DNA-Lösung wurde quantitativ in starkwandige Reagenzgläser (100 mm x 10 mm) überführt. Diese wurden zugeschmolzen, in Haushaltspapier eingewickelt und in verschraubbaren Aluminiumbehältern (Explosionsschutz) im Trockenschrank für 75 min bei  $175^{\circ}\text{C}$  erhitzt. Nach 20minütiger Abkühlung bei Raumtemperatur wurden die Behälter in flüssigem Stickstoff für mindestens weitere 20 min gekühlt, um die Ampullen gefahrlos aufbrechen zu können. Der aufgetaute Inhalt jeder Ampulle wurde zu gleichen Volumen (je 800  $\mu\text{l}$ ) in zwei 1,5-ml-Eppendorfreaktionsgefäße pipettiert und mit Hilfe eines Vakuumkonzentrators bei  $60^{\circ}\text{C}$  eingedampft. Der Rückstand wurde durch 15 minütiges Erhitzen

auf 60°C in 50 µl Kaliumphosphatpuffer (0,15 M, pH 7,0) gelöst und im RIA eingesetzt.

#### *Dimerbestimmung im Radioimmunoassay (RIA)*

Voraussetzungen für einen Radioimmunoassay sind, daß das zu bestimmende Antigen (hier: T[]T) auch in radioaktiver Form verfügbar ist und dagegen ein spezifischer Antikörper hergestellt werden kann (ausführliche Beschreibung in Chard 1978). Werden Antigen (T[]T) und Antikörper zusammengebracht, so bilden sie in einer reversiblen Reaktion einen Antigen-Antikörper-Komplex aus. Im Gleichgewichtszustand ist bei konstanter Antikörperkonzentration die Verteilung des Antigens zwischen freier und gebundener Form allein von der Konzentration des Antigens abhängig. Im RIA werden deshalb konstante Mengen an radioaktiv markierten T[]T zugegeben. Diese markierten T[]T konkurrieren mit den in der DNA befindlichen unmarkierten T[]T um die Bindungsstellen am Antikörper. Je mehr unmarkiertes T[]T vorhanden ist, desto weniger markiertes T[]T wird an den Antikörper gebunden. Nach Einstellung des Gleichgewichts wird die Radioaktivität des abgetrennten T[]T-Antikörper-Komplexes gemessen und mit Hilfe einer Eichkurve (s. Abb. 3.9) die Konzentration des unmarkierten T[]T bestimmt.

Der in der vorliegenden Arbeit verwendete RIA zur Bestimmung von T[]T wurde von Klocker et al. (1982) entwickelt und von der Arbeitsgruppe Wellmann (Universität Freiburg) verbessert. Die wichtigsten Informationen über das von dieser Arbeitsgruppe hergestellte Antiserum (IV7) und die T[]T-Lösungen sind in Buchholz (1996) zu finden.

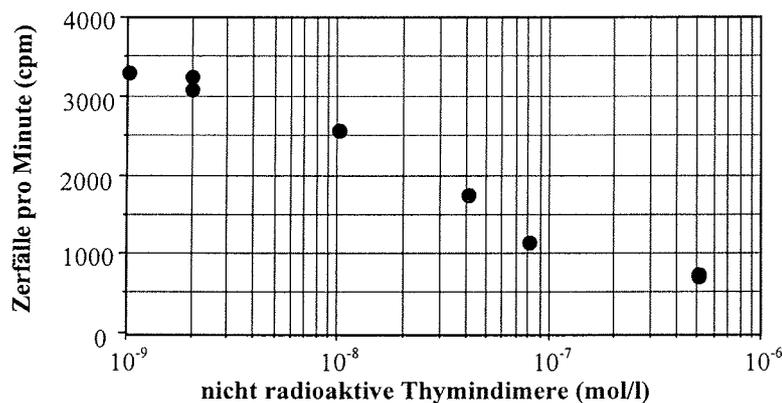
#### *Durchführung*

Das oben beschriebene gelöste DNA-Hydrolysat wurde mit 25 µl Antiserumlösung und 25 µl mit Tritium (<sup>3</sup>H) markierter T[]T-Lösung ( $8 \cdot 10^{-9}$  M, 600 Bq, Buchholz 1996) versetzt, kurz zentrifugiert und für mindestens eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Zugabe von 300 µl einer auf 8°C gekühlten Ammoniumsulfatlösung (80% gesättigt bei 25°C), wurden die Proben nach einer Fällungszeit von 30 min (8°C) zentrifugiert (5 min, Raumtemperatur,  $13500 \text{ min}^{-1}$ ). Der Überstand wurde vom Pellet mit dem Protein-Antikörper-T[]T-Komplex vollständig abgezogen. Nach Zugabe von 100 µl eines Proteinlösers (Soluene 350; Canberra-Packard,

Frankfurt) wurde der noch feuchte Niederschlag durch kurzes Schütteln vollständig suspendiert. Die Suspension wurde in 3 ml Scintillationslösung (Rotiszint 11, Roth, Karlsruhe), die in 5-ml-Kunststoff-Scintillationsgefäßen (Pico Prias Vials, Canberra-Packard, Frankfurt) vorgelegt war, überführt und jede Probe 5 min lang in einem Flüssigkeits-Scintillationszähler (LS 1801, Beckmann, München) gezählt.

#### *Eichkurve zur Quantifizierung der Thymindimere*

Für die Erstellung von Eichkurven wurde zu 50 µl DNA-Hydrolysat aus unbestrahlten Kontrollkulturen unmarkiertes T[<sup>3</sup>H]T unterschiedlicher Konzentration (zwischen  $10^{-9}$  und  $10^{-6}$  M T[<sup>3</sup>H]T) zugesetzt und mit 25 µl Antiserumlösung sowie 25 µl radioaktiv markiertem T[<sup>3</sup>H]T ( $8 \cdot 10^{-9}$  M) versetzt (Buchholz 1996). Es wurden jeweils zwei Parallelen gemessen und der arithmetische Mittelwert der Zählraten gegen die eingesetzte Menge an nicht radioaktivem T[<sup>3</sup>H]T aufgetragen. Aus diesen Kurven, die bei halblogarithmischer Auftragung einen annähernd sigmoiden Verlauf zeigen (Abb. 3.9), wurde die T[<sup>3</sup>H]T-Konzentration des Hydrolysates abgelesen (graphische Interpolation) und die T[<sup>3</sup>H]T-Menge je nach Bedarf entweder pro Zelle oder pro µg DNA berechnet. Es wurde angenommen, daß in unbestrahlten Kontrollkulturen keine Dimere vorhanden sind. Eine eventuell geringe Dimermenge in diesen Proben würde weit unterhalb der Nachweisgrenze liegen.



**Abb. 3.9:** Beispiel einer für den RIA verwendeten Eichkurve zur Bestimmung von Thyminidimeren.

Für jeden Probenansatz wurde eine neue Eichkurve mit unbestrahlten Kontrollkulturen gleichen DNA-Gehaltes angefertigt. Der Fehler der Dimerbestimmung lag im Bereich zwischen 5 und 10%.

#### *Dimerbestimmung im Enzymgekoppelten Immunoassay (ELISA)*

Bei der Verwendung des CPD-spezifischen Antikörpers (TDM-2) im ELISA muß die zu untersuchende DNA in denaturierter Form vorliegen. In einem ersten Schritt wird die DNA an die aktivierte Oberfläche von Mikrotiterplatten gebunden. Durch Zugabe eines primären Antikörpers (hier: TDM-2) bildet sich dann ein Antigen-Antikörper-Komplex aus. Ein zweiter, sekundärer Antikörper, der diesen Antigen-Antikörper-Komplex erkennt, wird nach mehrmaligem Waschen der Platte dazugegeben. Er enthält eine alkalische Phosphatase, welche mit großer Geschwindigkeit ein zugegebenes, farbloses Substrat zu einem farbigen Substrat umwandeln kann. Durch Messung der Extinktion wird anschließend die Menge des gebundenen Antikörpers und somit der relative Gehalt an CPD bestimmt.

#### *Durchführung*

Für jede Bestimmung mußte eine DNA-Menge zwischen 50 und 500 ng eingesetzt werden. Diese wurde zu je 50 µl in die Vertiefungen der Mikrotiterplatten (Dynatech, Mikroelisa Immulon) pipetiert. Zur Denaturierung der DNA wurden die Mikrotiterplatten bis zur vollständigen Trocknung der Platten für ungefähr eine Stunde in den auf 100°C geheizten Trockenschrank gestellt. Nach 5-maligem Waschen mit PBS-T-Puffer (Phosphatgepufferte Salzlösung: 10 mM NaCl, pH 7,4) wurden je 200 µl einer frisch hergestellten 3% (W/V) BSA-Lösung zugegeben, danach die Platte abgedeckt und für 60 min bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde 5 mal mit PBS-T-Puffer gewaschen, je 50 µl des primären Antikörpergemisches (TDM-2 in PBS) dazugegeben und die Platte abermals für mindestens 30 min bei 37°C inkubiert. Nach 5maligem Waschen mit PBS-T wurden 50 µl des sekundären Antikörpers (HRP: Kaninchen-Anti-Maus-Antikörper, Meerrettichperoxidase-gekoppelt, 1:2000 verdünnt in PBS-Puffer) pro Vertiefung aufgetragen und die Platte abgedeckt für mindestens 30 min bei 37°C inkubiert. Danach wurde wieder dreimal mit PBS-Puffer und zweimal mit Citrat-Phosphat-Puffer (24 mM Citronensäure, 50 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12 H<sub>2</sub>O, pH 5,0) gewaschen. Zur Nachweisreaktion wurden

jeweils 100  $\mu$ l eines frisch hergestellten OPD-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Gemisches (0,04% o-Phenylendiamin (W/V), 0,007% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Citrat-Phosphat-Puffer) zügig zupipettiert. Nach 15 min (37°C, abgedeckt) wurde die Platte betrachtet und bei ausreichender Färbung die Reaktion durch Zugabe von je 50  $\mu$ l 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> abgestoppt. Die Platte wurde im ELISA-Reader (MR 4000, Dynex) bei 490 nm gemessen. Von den Extinktionswerten wurde die Extinktion der Kontrolle (keine Zugabe von DNA) abgezogen und die Mittelwerte aus den Doppel- bis Vierfachbestimmungen errechnet.



## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 UVB-Schädigung und Photoreaktivierung

Das folgende Kapitel beinhaltet Untersuchungen über die UVB-Schädigung und deren Photoreparatur durch Photoreaktivierung auf der molekularen und zellulären Ebene. Auf der molekularen Ebene werden die in der Desoxyribonukleinsäure (DNA) gebildeten Cyclobutyl-Pyrimidindimere (CPD) als Maß für eine Schädigung und Reparatur quantifiziert. Auf der zellulären Ebene wird die Auswirkung von Schädigung und Reparatur auf die Zellmorphologie sowie die Teilungsfähigkeit der Zellen untersucht. Wesentlicher Bestandteil des Kapitels sind Untersuchungen über die Abhängigkeit der Schädigung und Photoreaktivierung von der Stärke, Dauer und Dosis der UVB- bzw. UVA-Strahlung sowie die Abhängigkeit der Photoreaktivierung von der spektralen Zusammensetzung des Strahlungsfeldes, an das die Algenkulturen vor der Schädigung akklimatisiert waren.

Zur Bestimmung der Dimerkonzentration wurden zwei verschiedene Methoden angewendet: der sogenannte Radioimmunoassay (RIA) und der enzymgekoppelte Immunoassay (ELISA). Wesentlicher Unterschied dieser beiden Bestimmungsmethoden ist, daß im RIA hauptsächlich Thymindimere (T[T]), im ELISA dagegen die Gesamtmenge an CPD quantifiziert werden (näheres dazu in Kap. 3). Wurden die Dimere im RIA bestimmt, werden sie im folgenden als "Thymindimere" bezeichnet, wurden sie im ELISA bestimmt, wird die Bezeichnung "Gesamt-CPD" verwendet.

In Vorversuchen wurden zunächst geeignete Bestrahlungszeiten und -stärken ermittelt, unter denen eine UVB-Schädigung und Photoreaktivierung sowohl auf molekularer als auch auf zellulärer Ebene meßbar waren. Dabei sind folgende Punkte von Bedeutung:

1. Zur getrennten Untersuchung von UVB-Schädigung und Photoreaktivierung mußte die UVB-Bestrahlung und die photoreaktivierend wirksame UVA-Bestrahlung nacheinander erfolgen.
2. Die Dauer der UVB-Bestrahlung war kurz und lag im Bereich von wenigen Minuten, um eine gleichzeitige Reparatur durch den kurzweiligen

und somit photoreaktivierend wirksamen UVA-Anteil des verwendeten Strahlungsfeldes (vgl. Abb. 3.1) gering zu halten.

3. Die gebildeten Dimer Mengen waren groß genug, um mit den verwendeten Bestimmungsmethoden (ELISA und RIA) quantifiziert zu werden. Dies wurde durch einen entsprechend hohen UVB-Strahlungsfluß erreicht.
4. Dagegen war zur Bestimmung der UVB-Schädigung auf zellulärer Ebene der UVB-Strahlungsfluß möglichst niedrig, so daß zumindest ein Teil der Zellen noch teilungs- und überlebensfähig war.

Anhaltspunkte für die zu Beginn der Untersuchung verwendeten Bestrahlungszeiten und -stärken lieferten Untersuchungen an höheren Pflanzen mit ähnlichen Lampensystemen (Riegger 1991, Buchholz 1996) und Untersuchungen an antarktischen Diatomeen (Karentz et al. 1991a). Vorversuche ergaben, daß für die UVB-Schädigung Bestrahlungszeiten von 5-30 min und UVB-Bestrahlungsstärken zwischen 1,7 und 5 W m<sup>-2</sup> geeignet waren (nicht dargestellte Ergebnisse). Diese UVB-Bestrahlungsstärken lagen damit im Vergleich zur natürlichen UVB-Bestrahlung um das 3 bis 50fache höher (vgl. Kap. 1.2 sowie Tab. 3.2 & Tab. 3.7). Für die photoreaktivierende Bestrahlung im UVA-Feld wurde eine Bestrahlungsdauer zwischen 15 und 70 min und eine UVA-Bestrahlungsstärke von 0,3 bis 2,8 W m<sup>-2</sup> verwendet; sie ist in etwa mit einer natürlichen Bestrahlung bei einer Gesamtbestrahlungsstärke von 100 µmol Photonen m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> vergleichbar (vgl. Tab. 3.3).

Zum einfacheren Verständnis der folgenden Experimente werden nochmals die wichtigsten Bestrahlungsarten zusammengefaßt. Die Charakteristika und Bezeichnungen der verwendeten Bestrahlungsfelder sind in Kap. 3.2 (Abb. 3.1 & Tab. 3.2) zu finden.

- UVB-Bestrahlung: Im UVB-Feld bei einer Bestrahlungsstärke von 5 W m<sup>-2</sup> (falls keine anderen Angaben erfolgen).
- Photoreaktivierende Bestrahlung: Im UVA-Feld bei einer Bestrahlungsstärke von 2,8 W m<sup>-2</sup> (falls keine anderen Angaben erfolgen).
- UVB mit anschließender photoreaktivierender Bestrahlung: mit PR.
- UVB ohne anschließende photoreaktivierende Bestrahlung: ohne PR.
- Nicht photoreaktivierende Strahlungsbedingungen: Bestrahlung im Rotlicht.

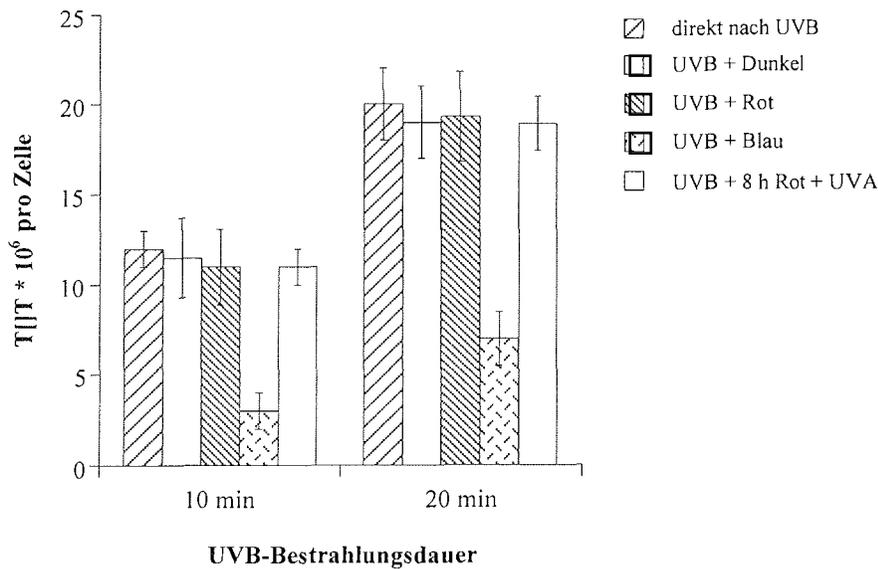
Alle Kulturen wurden, sofern keine anderen Angaben erfolgen, vor der UVB-Bestrahlung im PAR-Feld bei einem mittleren Photonenfluß von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert. Dieses Feld besitzt nur einen geringen UVA- und keinen UVB-Anteil (vgl. Abb. 3.1 & Tab. 3.2).

Für die folgenden Abschnitte 4.1.1 bis 4.1.4 wurden exemplarisch die Ergebnisse mit der Diatomee *Porosira pseudodenticulata* ausgewählt. Ähnliche Ergebnisse wurden auch für andere Diatomeen wie *Thalassiosira tumida* und *T. antarctica* sowie für die Prymnesiophyte *Phaeocystis antarctica* gefunden.

#### 4.1.1 Bildung und Reparatur von Cyclobutyl-Pyrimidindimeren

Der erste Versuchsansatz zeigt die bei der Diatomee *P. pseudodenticulata* durch UVB-Bestrahlung gebildeten Thymindimere (T[T]) sowie ihre Reparatur unter verschiedenen nachfolgenden Bestrahlungsbedingungen. Dazu wurden die Kulturen für 10 min oder 20 min mit UVB bestrahlt und anschließend für 60 min dunkel gestellt, in Rotlicht gebracht oder gleich anschließend mit UVA bestrahlt. Die Bestimmung der Dimerkonzentration erfolgte sowohl direkt nach der UVB-Bestrahlung (Kontrolle) als auch nach der 60minütigen Behandlung.

Nach einer UVB-Bestrahlung von 10 min kam es bei *P. pseudodenticulata* zu einer deutlichen T[T]-Bildung, die nach weiteren 10 min um fast das Doppelte zunahm (Abb. 4.1). Durch eine sich der UVB-Bestrahlung anschließende UVA-Bestrahlung kam es bei beiden UVB-Bestrahlungszeiten zu einer deutlichen Reduktion der Dimere von mehr als 60%. Im Rotlicht oder im Dunkeln wurden dagegen innerhalb von 60 min keine Dimere repariert. Kulturen, die erst 8 h nach der UVB-Bestrahlung photoreaktivierend bestrahlt wurden, wiesen ebenfalls keine signifikante Dimerreparatur auf (Abb. 4.1).

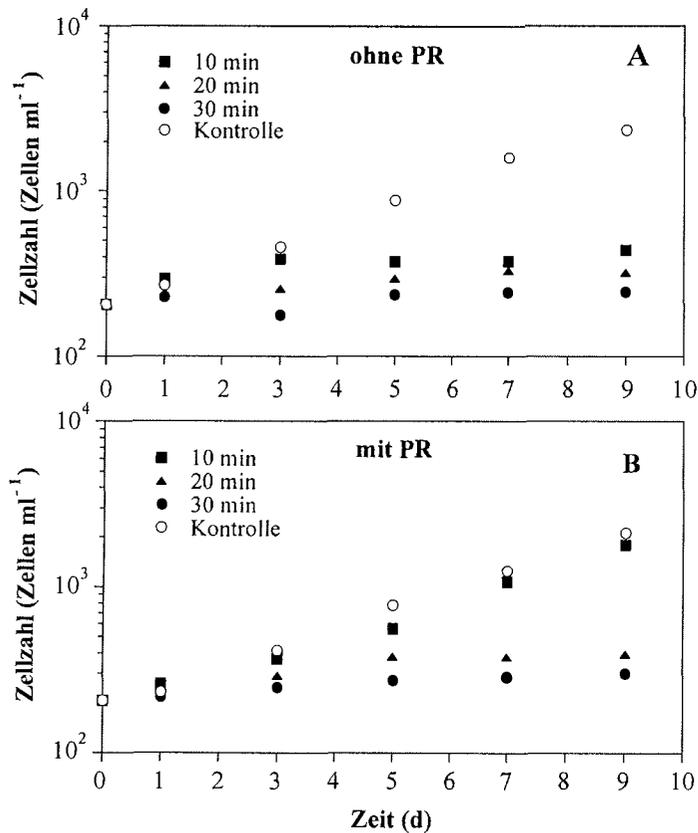


**Abb. 4.1:** Bildung und Reparatur von Thyminindimeren (T[T]T) bei *P. pseudodenticulata* in Abhängigkeit der UVB-Bestrahlungsdauer. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4 unabhängigen Versuchen.

#### 4.1.2 Wachstum, Zellteilung und Überlebensrate

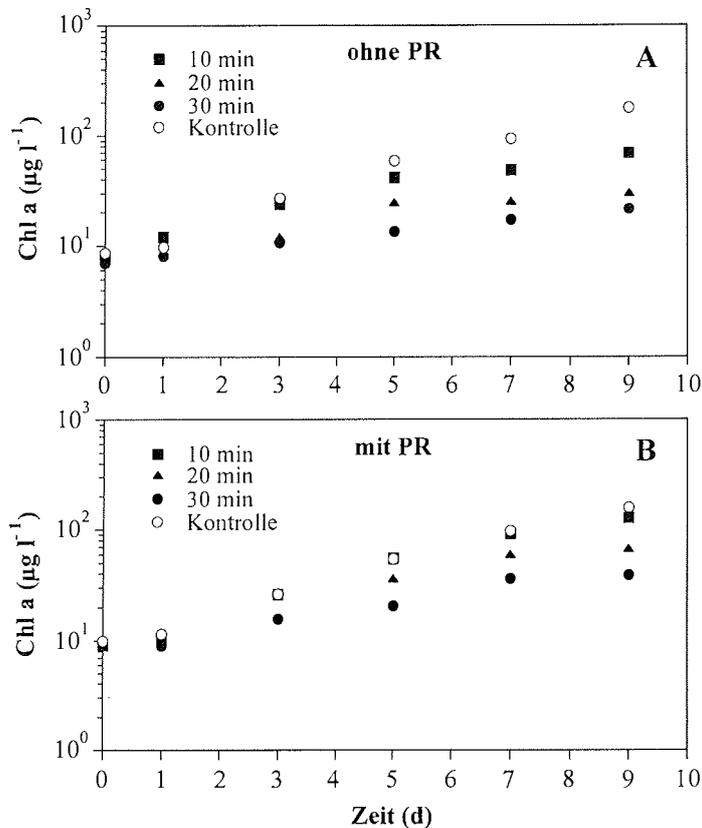
Zur Untersuchung von UVB-Schädigung und Photoreaktivierung auf zellulärer Ebene wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata* jeweils 10, 20 oder 30 min mit UVB bestrahlt. Danach wurden die Kulturen zum weiteren Wachstum direkt bzw. nach photoreaktivierender Bestrahlung von 60 min in Rotlicht gebracht.

Kontrollkulturen, die nicht mit UVB bestrahlt wurden, zeigten während der Wachstumsdauer von insgesamt 9 Tagen nahezu exponentielles Zellwachstum (Abb. 4.2A & 4.2B). Bei UVB-bestrahlten Kulturen nahm die Zellzahl dagegen nur geringfügig zu (Abb. 4.2A). Kulturen, die direkt nach der UVB-Schädigung mit UVA bestrahlt wurden, konnten sich nur wieder erholen, wenn sie vorher nicht länger als 10 min im UVB-Feld exponiert waren (Abb. 4.2B).



**Abb. 4.2:** Anzahl der Zellen in Kulturen von *P. pseudodenticulata* nach 10, 20 oder 30 min UVB-Bestrahlung ohne anschließende photoreaktivierende Bestrahlung (A) und mit photoreaktivierender Bestrahlung (B). Kontrollkulturen wurden nicht mit UVB bestrahlt.

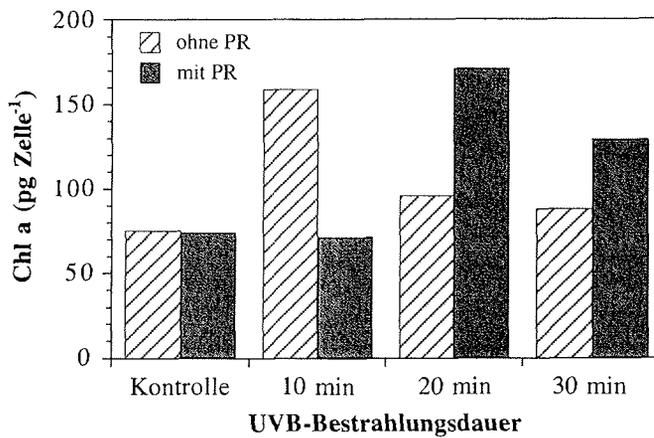
Auch die im selben Bestrahlungsversuch gemessene Chlorophyll *a* (Chl *a*)-Konzentration der Kulturen nahm mit zunehmender UVB-Bestrahlung ab (Abb. 4.3A). Durch eine sich der UVB-Bestrahlung anschließende photoreaktivierende UVA-Bestrahlung wurde dieser Effekt abgeschwächt (Abb. 4.3B). Im Gegensatz zur Zellzahl stieg jedoch in allen UVB-bestrahlten Kulturen die Chl *a*-Konzentration deutlich an.



**Abb. 4.3:** Chl *a*-Konzentrationen in Kulturen von *P. pseudodenticulata* nach 10, 20 oder 30 min UVB-Bestrahlung ohne Photoreaktivierung (A) und mit Photoreaktivierung (B). Kontrollkulturen wurden nicht mit UVB bestrahlt.

Die Zunahme der Chl *a*-Konzentration in UVB-bestrahlten Kulturen (Abb. 4.3A & 4.3B) mit geringem Zellwachstum (Abb. 4.2A & 4.2B) resultierte in einer Zunahme des mittleren zellulären Chl *a*-Gehaltes (Abb. 4.4). Dabei zeigte die für 10 min mit UVB bestrahlte Kultur im Vergleich zu den länger bestrahlten Kulturen (20 und 30 min) einen höheren Chl *a*-Gehalt. Durch eine photoreaktivierende UVA-Bestrahlung nahm der Chl *a*-Gehalt dieser "erholten" und beinahe normal wachsenden Kultur (Abb. 4.2) wieder ab und erreichte den Wert einer unbestrahlten Kontrollkultur. Bei allen länger bestrahlten Kulturen (20 und 30 min UVB) nahm

dagegen der zelluläre Chl *a*-Gehalt erst durch eine photoreaktivierende Bestrahlung deutlich zu (Abb. 4.4).



**Abb. 4.4:** Zellulärer Chl *a*-Gehalt von *P. pseudodenticulata* 9 Tage nach der UVB-Bestrahlung. Strahlungs- und Wachstumsbedingungen wie in Abb. 4.2.

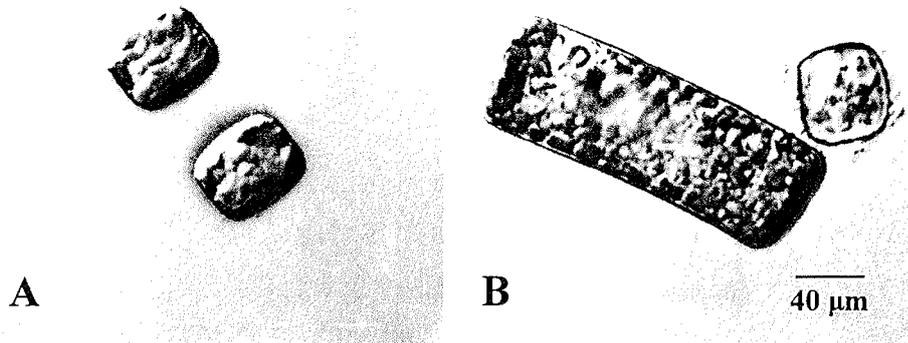
*Morphologische Zellbeobachtungen*

Um diese in Abb. 4.4 dargestellte unterschiedliche Zu- und Abnahme des zellulären Chl *a*-Gehaltes bei verschiedenen UVB-Bestrahlungszeiten genauer zu untersuchen, wurden die Kulturen im Mikroskop betrachtet.

In allen UVB-bestrahlten Kulturen von *P. pseudodenticulata* wurden zwei bis drei Tage nach der Bestrahlung verschiedene Zelltypen mit unterschiedlichen Zellveränderungen beobachtet. Dies führte zu einer Einteilung der Zellen in drei verschiedene Zellklassen (Tab. 4.1).

**Tab. 4.1:** Beschreibung der verschiedenen Zellklassen in UVB-bestrahlten Kulturen von *P. pseudodenticulata*

| Zellklasse | Beobachtungen   |
|------------|---|
| 1          | - Morphologisch normale, sich teilende Zellen   |
| 2          | - Starke Verlängerung der Pervalvarachse<br>- Dunkelgrüne bis braune Färbung<br>- Abnormale Deformationen |
| 3          | - Normale Zellgröße<br>- Verringerte Zellfärbung<br>- Leere Schalen                                       |

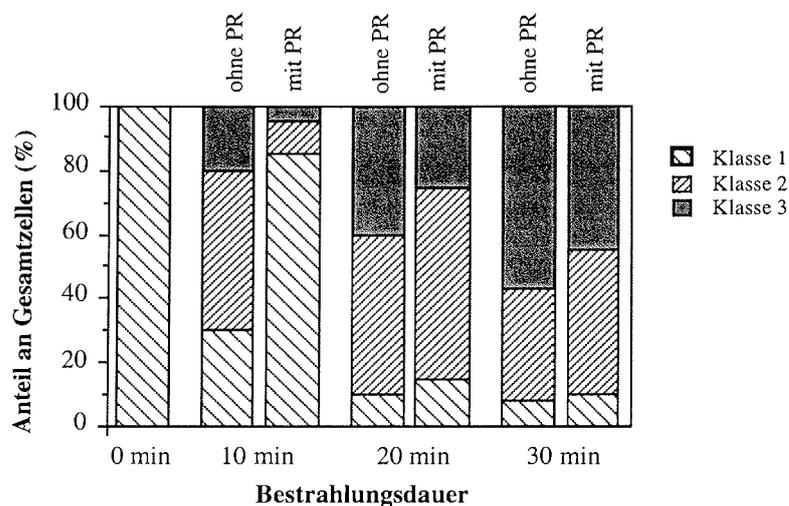


**Abb. 4.5:** Zellen von *P. pseudodenticulata* aus nicht UVB-bestrahlten Kulturen (A) und UVB-bestrahlten Kulturen (B). Die Zellen in A entsprechen der Zellklasse 1. In B ist eine Zelle der Klasse 2 und 3 sichtbar.

Aus den UVB-bestrahlten Ansätzen sowie aus den Kontrollkulturen des Bestrahlungsversuches aus Abb. 4.2 wurden 7 Tage nach der Bestrahlung Zählproben entnommen und die Zellen den drei Zellklassen zugeordnet. Die Ergebnisse sind in Abb. 4.6 dargestellt. Kontrollkulturen, die nicht mit UVB bestrahlt worden waren, zeigten zu 100% morphologisch normale und sich in Teilung befindliche Zellen der Klasse 1. Bei den mit UVB bestrahlten Kulturen erhöhte sich mit zunehmender Bestrahlungsdauer der Anteil der geschädigten Zellen (Klasse 2 und 3). Durch eine photoreaktivierende UVA-Bestrahlung kam es nur bei Kulturen, die vorher nicht länger als 10 min im UVB-Feld exponiert waren, zu einer deutlichen Abnahme an geschädigten Zellen. Ihre hohe Abnahme an stark pigmentierten Zellen der Klasse 2 von 50% auf 10% führte offenbar trotz gleichzeitiger Abnahme an stark geschädigten Zellen der Klasse 3 zu einem mittleren Chl *a*-Gehalt, der vergleichbar ist mit dem Wert der unbestrahlten Kontrollkultur (s. Abb. 4.4).

Kulturen, die für 20 oder 30 min mit UVB bestrahlt wurden, zeigten einen hohen Anteil an geschädigten Zellen von mehr als 85% (Abb. 4.6).

Durch eine photoreaktivierende Bestrahlung verringerte sich der Anteil der Zellen der Klasse 3 geringfügig, gleichzeitig nahm bei beiden Bestrahlungsansätzen der Anteil an Zellen der Klasse 2 zu. Diese Zunahme an stark verlängerten Zellen mit hoher Pigmentkonzentration bei gleichzeitiger Abnahme an ausgebleichten Zellen und leeren Schalen hat offenbar den Anstieg des mittleren zellulären Chl *a*-Gehaltes in diesen Kulturen zur Folge (vgl. Abb. 4.4).



**Abb. 4.6:** Relativer Anteil an Zellen der Klasse 1, 2 und 3 (s. Tab. 4.1) in UVB-bestrahlten Kulturen von *P. pseudodenticulata*. Die Zellklassenbestimmung erfolgte 7 Tage nach der Bestrahlung. Strahlungs- und Wachstumsbedingungen vgl. Abb. 4.2.

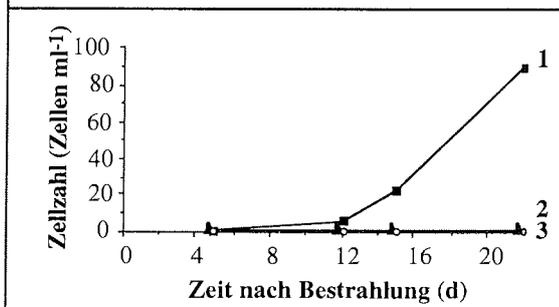
*Zellisolierungen*

Aufgrund des hohen Pigmentgehaltes und der daraus resultierenden starken Färbung der Zellen der Klasse 2 war es nicht möglich, mit Hilfe von Anfärbetechniken Hinweise auf die Lebensfähigkeit, die Lage des Zellkerns oder den Zeitpunkt der Zellen im Zellzyklus zu bekommen. Um dennoch die Teilungsfähigkeit aller drei morphologisch unterscheidbaren Zellklassen zu untersuchen, wurde 5 Tage nach der UVB-Bestrahlung und nach dem Wachstum in Rotlicht jeweils eine Zelle der jeweiligen Zellklasse in einzelne Schalen mit Wachstumsmedium gebracht. Nach insgesamt 12, 15 und

22 Tagen Wachstum im Rotlicht wurden die Isolate unter dem Binokular betrachtet und die Zellen gezählt.

**Tab. 4.2:** Zelllänge und morphologische Veränderungen von UVB-bestrahlten Zellen der Klasse 1, 2 und 3 (s. Tab. 4.1) von *P. pseudodenticulata*. Dargestellt sind die Mittelwerte der Zelllängen und ihre Standardabweichung. Graphik: Zellzahl der Zellen der Klasse 1, 2 und 3. Dargestellt sind die Mittelwerte der Zellzahl.

| Zeit nach Bestrahlung |          | Klasse 1       | Klasse 2            | Klasse 3                     |
|-----------------------|----------|----------------|---------------------|------------------------------|
| 5 Tage                | Länge:   | (38 ± 4) µm    | (45 ± 5) µm         | (37 ± 3) µm                  |
|                       | Färbung: | +              | ++                  | +                            |
|                       | Zustand: | normale Zellen | Deformationen       | verringerte Zellfärbung      |
| 12 Tage               | Länge:   | (38 ± 3) µm    | (55 ± 6) µm         | (38 ± 4) µm                  |
|                       | Färbung: | +              | +++                 | +/-                          |
|                       | Zustand: | normale Zellen | Deformationen       | verringerte Zellfärbung      |
| 15 Tage               | Länge:   | (37 ± 4) µm    | (65 ± 9) µm         | (37 ± 3) µm                  |
|                       | Färbung: | +              | +++                 | -                            |
|                       | Zustand: | normale Zellen | Deformationen       | leere Schalen                |
| 22 Tage               | Länge:   | (37 ± 3) µm    | (73 ± 11) µm        | (37 ± 3) µm                  |
|                       | Färbung: | +              | ++++                | --                           |
|                       | Zustand: | normale Zellen | aufgeplatzte Zellen | ausschließlich leere Schalen |



Alle Zellen der Klasse 1 zeigten während des Beobachtungszeitraums von insgesamt 22 Tagen normales Zellwachstum mit morphologisch normalen Zellen (Tab. 4.2). Aus der nach 22 Tagen ermittelten Zellzahl wurde

eine Wachstumsrate von  $\mu = (0,19 \pm 0,06) \text{ d}^{-1}$  berechnet. Diese entsprach ungefähr der Wachstumsrate einer unbestrahlten Kontrollkultur ( $\mu = (0,16 \pm 0,04) \text{ d}^{-1}$ ). Zellen der Klasse 2 konnten sich nicht mehr teilen und zeigten eine fortschreitende Verlängerung der Pervalvarachse verbunden mit einer Zunahme an grün-brauner Pigmentfärbung. Ein Teil der Zellen war am Ende des Beobachtungszeitraums aufgeplatzt. Auch die Zellen der Klasse 3 waren nicht mehr teilungsfähig, nach 22 Tagen konnten nur noch leere oder fast leere Schalen beobachtet werden (Tab. 4.2). Inwieweit die geschädigten Zellen innerhalb der ersten 5 Tage nach der UVB-Bestrahlung noch teilungsfähig waren, wurde nicht überprüft, da eine Isolierung der Zellen nach ihren Zellklassen erst einige Tage nach der UVB-Bestrahlung möglich war. Die 1,5 bis 2fache Zunahme der Zellzahl auch bei stark geschädigten Kulturen (Abb. 4.2) läßt jedoch darauf schließen, daß einige der geschädigten Zellen in der Lage waren, sich noch einmal zu teilen oder ihren Teilungszyklus zu beenden. Diese Vermutung stimmt mit dem Befund von Karentz (1991) überein, die direkt nach der UVB-Bestrahlung noch eine ein- bis zweimalige Zellteilung beobachtete, bevor die Teilung der Diatomeenzellen zum Stillstand kam.

#### *Bestimmung der Überlebensrate*

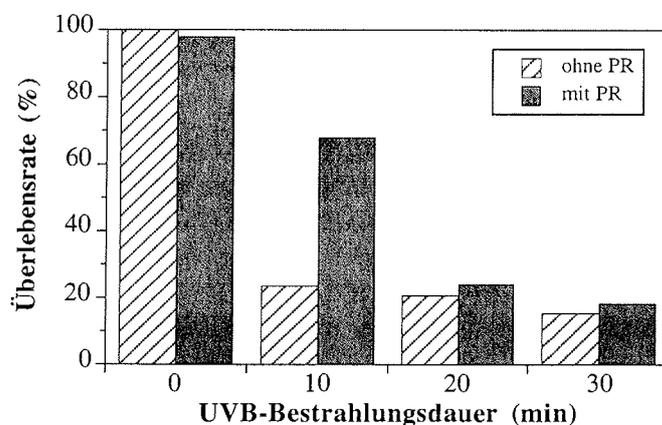
Aus den Ergebnissen der vorigen Experimente wurde gefolgert:

- 1) Nach UVB-Bestrahlung kann sich ein Teil der Zellen normal weiter teilen, d.h. mit einer Wachstumsrate, die vergleichbar ist mit der von unbestrahlten Kontrollkulturen (Zellen der Klasse 1).
- 2) Ein Teil der Zellen kann sich noch ein- bis zweimal teilen, verliert aber dann die Teilungsfähigkeit. Nach diesem Teilungsstillstand verlängern sich die Zellen zunehmend und der zelluläre Chl *a*-Gehalt nimmt stark zu (Zellen der Klasse 2).
- 3) Ein Teil der Zellen kann sich nach der UVB-Bestrahlung nicht mehr teilen und auch keine Syntheseprodukte mehr bilden. Der Zellinhalt wird abgebaut oder läuft aus. Nach wenigen Tagen sind nur noch leere Schalen vorhanden (Zellen der Klasse 3).

Unter Vernachlässigung des Befundes der ein- bis zweimaligen Teilung der Zellen der Klasse 2 folgt, daß das Wachstum von UVB-bestrahlten

Kulturen hauptsächlich auf dem Wachstum von nicht sichtbar morphologisch veränderten Zellen der Klasse 1 beruht. Ihr Anteil an der Anfangszellkonzentration wird im folgenden als Überlebensrate bezeichnet (Angabe in %). Sie berechnet sich aus dem Anteil der normalen Zellen der Klasse 1 zu einem Zeitpunkt, der Anfangszellkonzentration bei der UVB-Bestrahlung ( $N_0$ ) und der Wachstumsrate ( $\mu$ ) einer unbestrahlten Kontrollkultur (Berechnung siehe Kap. 3.3).

Von allen Kulturen des Experimentes aus Abb. 4.2 wurde sieben Tage nach der Bestrahlung die Überlebensrate von UVB-bestrahlten Zellen berechnet (Abb. 4.7). Schon nach einer 10minütigen UVB-Bestrahlung nahm die Überlebensrate auf weniger als 25% ab. Bei einer Bestrahlungsdauer von 30 min überlebten weniger als 5% der Zellen. Nur bei der kürzesten UVB-Bestrahlungsdauer von 10 min waren die Zellen noch in der Lage sich nach einer photoreaktivierenden UVA-Bestrahlung wieder zu erholen. Die Überlebensrate stieg dadurch auf über 70% an. Länger UVB-bestrahlte Kulturen konnten sich dagegen nicht wieder erholen, obwohl in Kulturen, die für 20 min mit UVB bestrahlt wurden, noch eine deutliche Reparatur von Dimeren stattfand (Abb. 4.1).



**Abb. 4.7:** Überlebensrate von UVB-bestrahlten Zellen von *P. pseudodenticulata* in Abhängigkeit der UVB-Bestrahlungsdauer. Bestrahlungsbedingungen wie in Abb. 4.13.

Die Überlebensrate stellte sich als geeigneter Parameter dar, um UVB-Schädigungen und ihre Photoreaktivierbarkeit bei Diatomeen auf der zellu-

lären Ebene zu untersuchen. Zu bemerken ist allerdings, daß der abgeschätzte Maximalfehler zwischen 10 und 20% liegt. Dieser relativ hohe Fehler kommt zustande, weil, vor allem in den ersten Tagen nach der UVB-Bestrahlung, die Zellen der jeweiligen Zellklassen nicht immer eindeutig voneinander unterscheidbar sind. In den folgenden Versuchen wurde deshalb die Überlebensrate im letzten Drittel des linearen Anstiegs der Zellkonzentration, sprich nach 7 bis 12 Tagen Wachstum im Rotlicht bestimmt.

Bei Kolonien von *Phaeocystis antarctica* wurden keine Untersuchungen auf der zellulären Ebene durchgeführt, da eine Zählung der Einzelzellen mit einem sehr hohen Fehler von bis zu 50% verbunden ist. Zu bemerken ist jedoch, daß es auch bei *Phaeocystis* nach schädigender UVB-Bestrahlung zu morphologischen Veränderungen der Zellen kommt, die den hier beschriebenen von *P. pseudodenticulata* entsprechen (nicht dargestellte Ergebnisse).

#### **4.1.3 Abhängigkeit der Schädigung von der Stärke, Dauer und Dosis der UVB-Bestrahlung**

Im folgenden wird die Abhängigkeit der Dimerbildung und Überlebensrate von der Bestrahlungsstärke sowie der Dauer und Dosis der schädigenden UVB-Strahlung untersucht. Dabei wird als Dosis<sup>4</sup> die Menge der auf eine nicht definierte Fläche eingestrahltene Photonenzahl oder Energie bezeichnet. Sie wird in  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2}$  bzw.  $\text{J m}^{-2}$  angegeben. In der UV-Biologie wird häufig die eingestrahelte Dosis mit Hilfe von sogenannten Wichtungsfunktionen (z.B. DNA-Wichtungsfunktion von Setlow (1974) in die biologisch wirksame UVB-Dosis ( $\text{J m}^{-2}$ ) umgerechnet (Horneck 1997). Zur

---

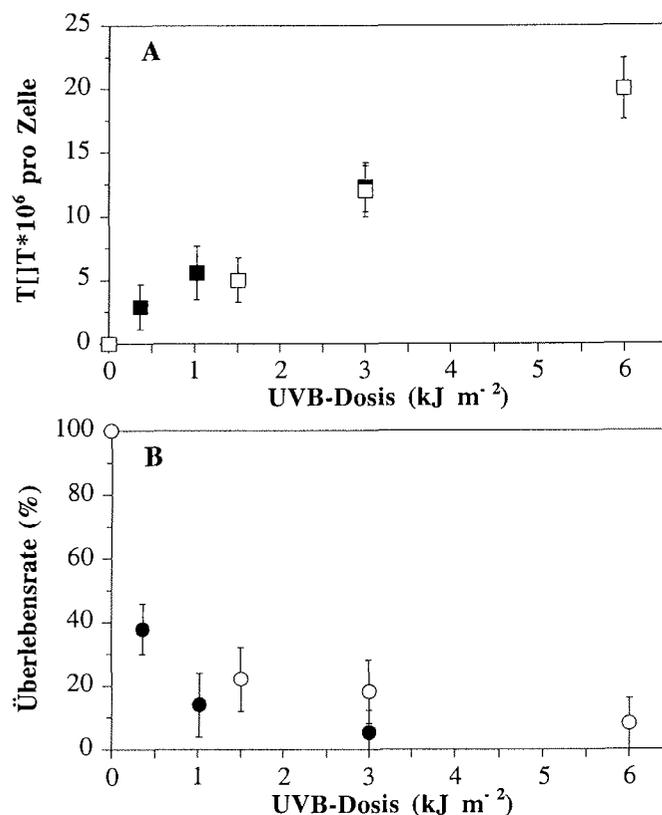
<sup>4</sup> Da die im deutschen Sprachraum in der UV-Biologie benutzte UV-"Dosis" nicht der in der Strahlenbiologie definierten Dosis von "absorbierter Energie pro Masse", sondern der "pro Flächeneinheit im rechten Winkel auftreffenden Energie" ( $\text{kJ m}^{-2}$ ) oder der Photonenzahl ( $\mu\text{mol Photonen m}^{-2}$ ) entspricht, wird von einigen Autoren (z.B. Kiefer 1989) vorgeschlagen, dafür besser und eindeutiger die Bezeichnung Fluenz (engl. fluence) zu verwenden. Die Dosisrate oder -leistung ( $\text{W m}^{-2}$ ) bzw. der Photonen- oder Energiefluß würde dann der Fluenzrate (engl. fluency rate) entsprechen. Zur besseren Vergleichbarkeit mit anderen Arbeiten in der UV-Biologie wurde in der vorliegenden Arbeit jedoch der Begriff der Dosis verwendet.

besseren Vergleichbarkeit von UVB- und UVA-Wirkung wird in der vorliegenden Arbeit jedoch auf diese Umrechnung verzichtet.

Wie schon in den vorher beschriebenen Versuchen gezeigt wurde, nimmt mit zunehmender UVB-Bestrahlungsdauer bei konstantem Energiefluß<sup>5</sup> die T[[]T-Konzentration in den Zellen zu (vgl. Abb. 4.1), während die Überlebensrate abnimmt (vgl. Abb. 4.7). Um die Abhängigkeit der Schädigung von der UVB-Bestrahlungsstärke, -dauer und -dosis genauer zu untersuchen, wurde in den folgenden Experimenten mit *P. pseudodenticulata* entweder der Energiefluß oder die Bestrahlungsdauer konstant gehalten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abb. 4.8 dargestellt. Sowohl mit zunehmender Bestrahlungsdauer (Abb. 4.8A) als auch mit zunehmendem Energiefluß (Abb. 4.8B) steigt die T[[]T-Konzentration in den Zellen an, während gleichzeitig die Überlebensrate abnimmt. Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß die UVB-Schädigung von der Gesamtmenge der eingestrahnten Photonen bzw. Energie abhängt. In Abb. 4.9A & 4.9B ist die Dimerbildung bzw. die Überlebensrate gegen die jeweils eingestrahlte UVB-Dosis aufgetragen. Die Kurvenverläufe der Datenpunkte aus den zwei verschiedenen Experimenten aus Abb. 4.8A & 4.8B lassen keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf erkennen. Dies bedeutet, daß die durch UVB-Bestrahlung hervorgerufene Schädigung nur von der eingestrahnten Dosis abhängt, nicht aber von der Bestrahlungsstärke. Dies entspricht dem sogenannten Reziprozitäts- oder Reizmengengesetz (Mohr & Schopfer 1978). Während die Dimerbildung annähernd linear mit der UVB-Dosis zunimmt, nimmt die Überlebensrate schon bei einer geringen UVB-Dosis von  $<0,5 \text{ kJ m}^{-2}$  stark ab (Abb. 4.9A & 4.9B).

---

<sup>5</sup> Der Photonen- oder Energiefluß ist die von der Bestrahlungsdauer unabhängige Bestrahlungsstärke (in  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2}\text{s}^{-1}$  bzw.  $\text{W m}^{-2}$ ) (Mohr & Schopfer 1978).

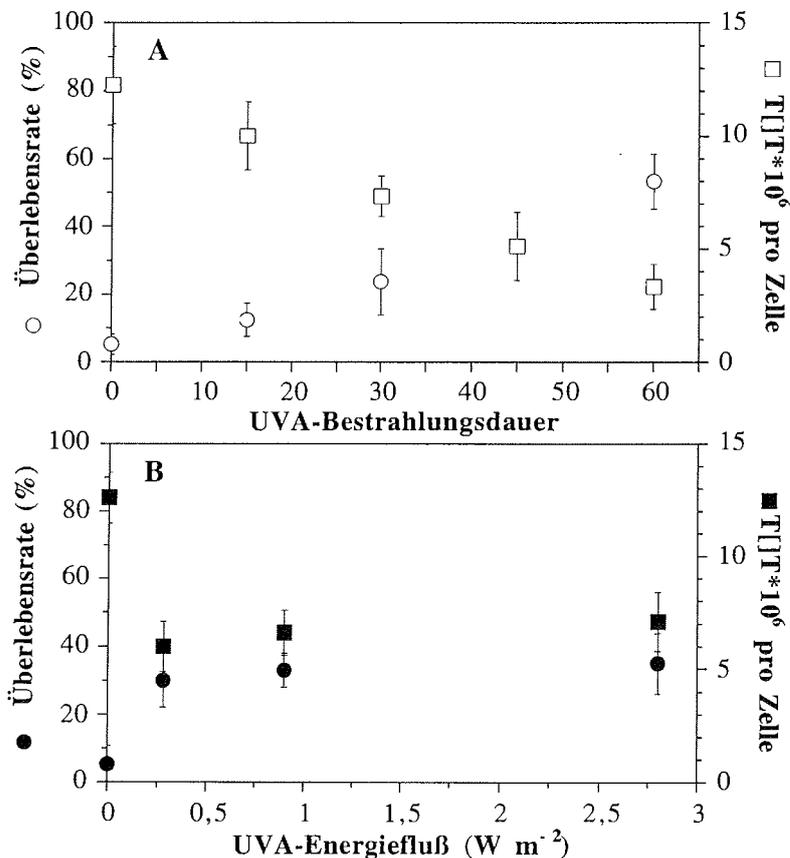


**Abb. 4.9:** Bildung von TTT (A) und Überlebensrate (B) bei *P. pseudodenticulata* in Abhängigkeit von der eingestrahnten UVB-Dosis. Die Daten stammen aus den in Abb. 4.8 dargestellten Experimenten, bei denen bei konstantem Strahlungsfluß die Bestrahlungsdauer variiert wurde (leere Symbole) (Abb. 4.8A) oder bei konstanter Bestrahlungsdauer der UVB-Fluß verändert wurde (gefüllte Symbole) (Abb. 4.8B).

#### 4.1.4 Abhängigkeit der Photoreaktivierung von der Stärke, Dauer und Dosis der UVA-Bestrahlung

Zur Untersuchung der Strahlungs- und Zeitabhängigkeit der Photoreaktivierung wurden - vergleichbar mit den Untersuchungen zur UVB-Schädigung (s. Kap. 4.1.3) - Kulturen von *P. pseudodenticulata* bei ansteigender UVA-Dosis entweder mit konstantem Energiefluß oder konstanter Dauer

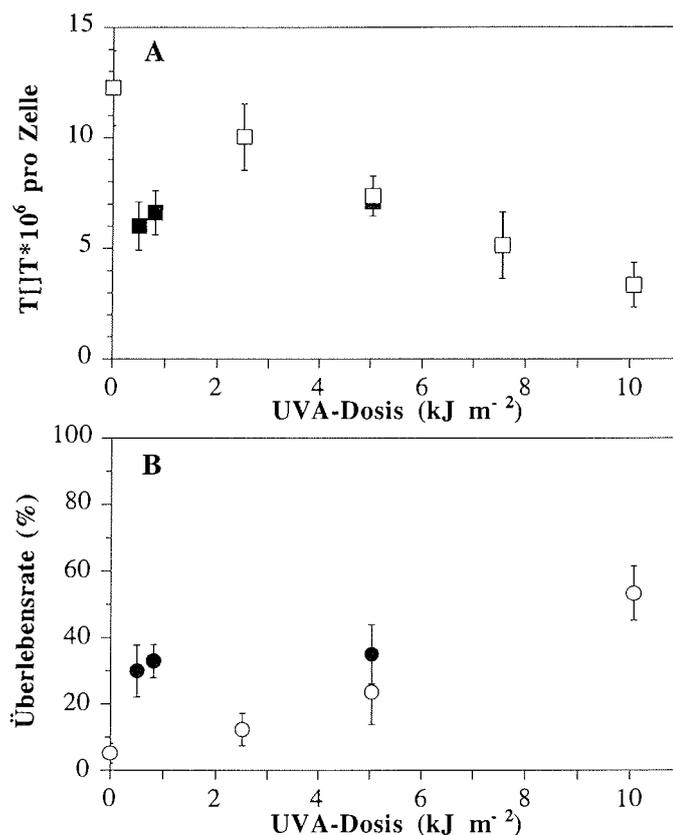
bestrahlt. Die verwendeten Bestrahlungsstärken lagen zwischen  $0,3$ - $2,8 \text{ W m}^{-2}$ , die Bestrahlungsdauer lag zwischen  $0$  und  $60$  min.



**Abb. 4.10:** Überlebensrate (○, ●) und Reduktion von TTT (□, ■) bei *P. pseudodenticulata* in Abhängigkeit von der UVA-Bestrahlungsdauer bei konstantem Energiefluß ( $2,8 \text{ W m}^{-2}$ ) (A) und von dem eingestrahlt UVA-Energiefluß bei konstanter Bestrahlungsdauer ( $30$  min) (B). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus drei unabhängigen Versuchen mit jeweils zwei Parallelen (TTT-Bestimmung) oder einer Probe (Überlebensrate).

Wie in Abb. 4.10 zu sehen ist, nimmt mit zunehmender Dauer der UVA-Exposition die Dimermenge in den Zellen ab, während die Überlebensrate ansteigt (Abb. 4.10A). Kulturen, die bei gleichbleibender Bestrahlungsdauer von  $30$  min mit einer geringen UVA-Bestrahlungsstärke von  $0,3 \text{ W m}^{-2}$  bestrahlt wurden, zeigen im Vergleich zu nicht photoreaktivierend bestrahlten Kulturen eine deutliche Reduktion der Dimerbildung sowie eine

Zunahme der Überlebensrate (Abb. 4.10B). Bei einer weiteren Erhöhung der Bestrahlungsstärke bis auf  $2,8 \text{ W m}^{-2}$  kommt es weder bei der Dimerbildung noch bei der Überlebensrate zu einer deutlichen Veränderung. Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß die Photoreaktivierung im Bereich  $>0,3 \text{ W m}^{-2}$  unabhängig ist vom Energiefluß. Die in Abb. 4.11 dargestellte Abhängigkeit der Dimerbildung und Überlebensrate von der Dosis unterstützen diese Vermutung: Die Ergebnisse der einen Meßreihe (konstanter Energiefluß, vgl. Abb. 4.10A) unterscheiden sich signifikant von denen der anderen Meßreihe (konstante Bestrahlungsdauer, vgl. Abb. 4.10B). Es kann somit in diesem Bereich nicht von einer Reziprozität zwischen Bestrahlungsdauer und Energiefluß ausgegangen werden.

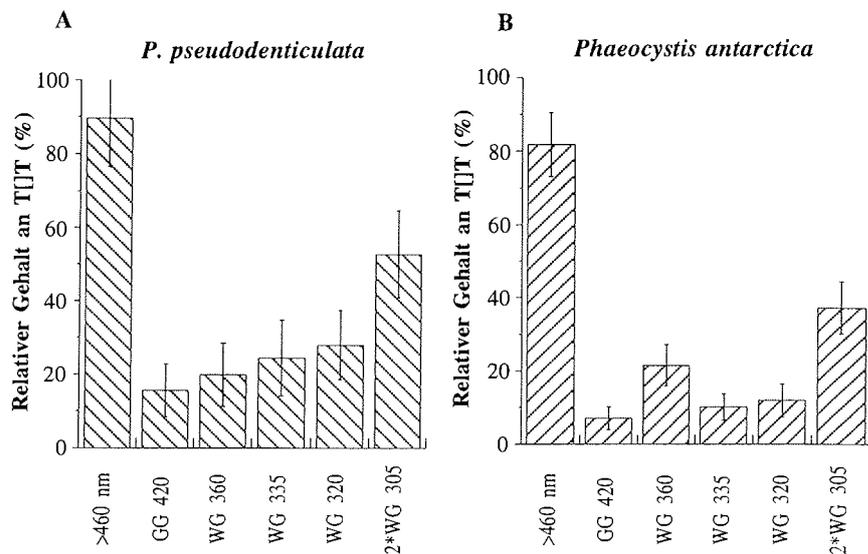


**Abb. 4.11:** Bildung von TTT (A) und Überlebensrate (B) bei *P. pseudodenticulata* in Abhängigkeit der eingestrahnten UVA-Dosis. Die Daten stammen aus den in Abb. 4.9 dargestellten Experimenten, bei denen bei konstantem Strahlungsfluß die Bestrahlungsdauer variiert wurde (offene Symbole) (Abb. 4.10A), oder bei konstanter Bestrahlungsdauer der UVA-Fluß verändert wurde (geschlossene Symbole) (Abb. 4.10B).

#### 4.1.5 Abhängigkeit der Photoreaktivierung vom Wellenlängenbereich der Vorbestrahlung

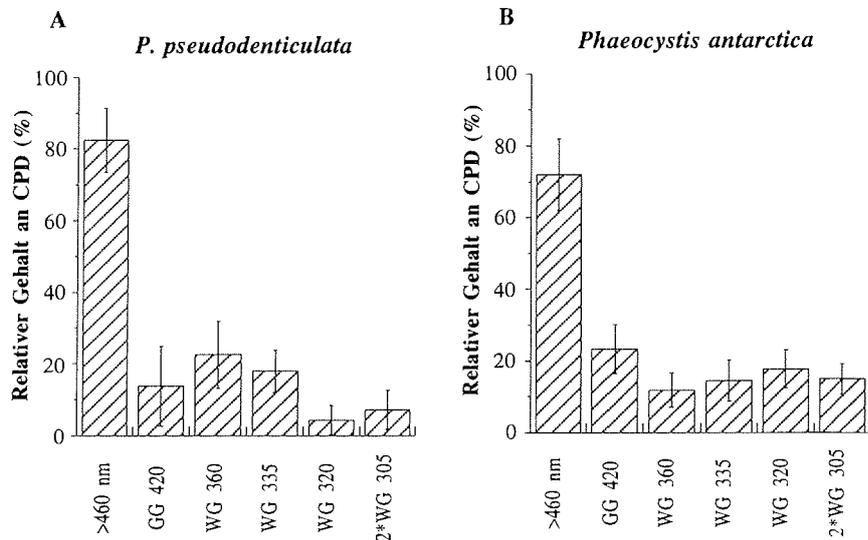
In den nachfolgenden Untersuchungen wurde der Frage nachgegangen, wie die spektrale Zusammensetzung des Strahlungsfeldes, an das die Kulturen vor der UVB-Schädigung akklimatisiert worden waren, die Photoreaktivierung beeinflusst. Dazu wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata* und Kolonien von *Phaeocystis antarctica*, die zuvor für mehrere Generationen unter Ausschluß von Blau (Gelblicht, >460 nm) gehältert wurden, für 6 h im UV/PAR-Feld unter verschiedenen Kantenabsorptionsfiltern mit zunehmend kürzerwelligerer Strahlung bestrahlt (vgl. Abb. 3.1 & Tab. 3.2). Danach wurden die Kulturen mit UVB schädigend und anschließend mit UVA photoreaktivierend bestrahlt (Versuchsbeschreibung s. Kap. 3.2.2). Es wurde sowohl der T[TT]-Gehalt (Bestimmung im RIA) als auch der Gesamt-CPD-Gehalt (Bestimmung im ELISA) gemessen und zur besseren Vergleichbarkeit der beiden Methoden der jeweilige Dimergehalt auf den Chl  $\alpha$ -Gehalt bezogen. Außerdem wurden die Dimergehalte auf die gleiche Dosis normiert, da bei den verschiedenen Bestrahlungsansätzen eine unterschiedliche Gesamtdosis eingestrahlt wurde (vgl. Tab. 3.2).

Kulturen, die unter Gelblicht vorbestrahlt wurden, zeigten im Vergleich zur UVB-bestrahlten Kontrolle nur eine geringe Reparatur an T[TT] (Abb. 4.12) und Gesamt-CPD (Abb. 4.13). Eine Reparatur von bis zu 70% der Dimere wurde allerdings bei denjenigen Kulturen gemessen, die zusätzlich mit Blau (GG 420) oder Blau+UV (WG 360, WG 335, WG 320) vorbestrahlt wurden (Abb. 4.12 & Abb. 4.13).



**Abb. 4.12:** Relativer TTT-Gehalt bei *P. pseudodenticulata* (A) und Kolonien von *Phaeocystis antarctica* (B) in Abhängigkeit des Wellenlängenbereiches der Vorbestrahlung. Die Werte wurden bezogen auf die gleiche Dosis und relativ zur UVB bestrahlten Kontrollkultur berechnet. Nach der Vorbestrahlung wurden die Kulturen für 15 min mit UVB ( $5 \text{ W m}^{-2}$ ) und anschließend zur Photoreaktivierung 45 min mit UVA ( $2,8 \text{ W m}^{-2}$ ) bestrahlt. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus zwei unabhängigen Versuchen mit jeweils zwei Parallelen.

Mit zunehmendem UVB-Anteil der Vorbestrahlung nahm sowohl bei *P. pseudodenticulata* als auch bei *Phaeocystis antarctica* der TTT-Gehalt wieder zu (Abb. 4.12). Kulturen, die mit Strahlung bis zu 290 nm und einer UVB-Bestrahlungsstärke von  $1,1 \text{ W m}^{-2}$  vorbestrahlt wurden (2\*WG 305), wiesen einen deutlich höheren TTT-Gehalt auf als Kulturen mit geringer UVB-Bestrahlung mit Wellenlängen  $>300 \text{ nm}$  und einer Bestrahlungsstärke von  $0,5 \text{ W m}^{-2}$  (WG 320). Es wurde jedoch nicht überprüft, ob diese höhere Dimerkonzentration auf eine Dimer-Akkumulation während der Vorbestrahlung oder auf eine geringere Reparaturleistung zurückzuführen war. Im Gegensatz zur TTT-Bildung kam es bei zunehmender UVB-Vorbestrahlung weder bei *P. pseudodenticulata* noch bei *Phaeocystis antarctica* zu einer Zunahme des Gesamt-CPD-Gehaltes (4.13B).

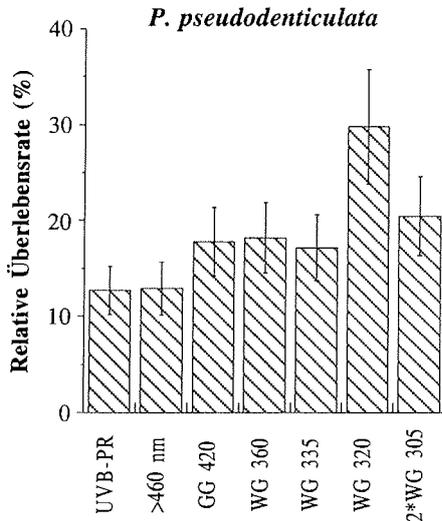


**Abb. 4.13:** Relativer Gesamt-CPD-Gehalt (gemessen im ELISA) bei *P. pseudodenticulata* (A) und *Phaeocystis antarctica* (B) in Abhängigkeit der Wellenlänge der Vorbestrahlung (Bestrahlungsbedingungen wie in Abb. 4.12). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4 Parallelen eines Bestrahlungsversuches.

Um die Abhängigkeit der Photoreaktivierung vom Wellenlängenbereich der Vorbestrahlung auf zellulärer Ebene zu untersuchen, wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata*, die zuvor in Gelblicht gehältert wurden, für 6 h im UV/PAR-Feld unter verschiedenen Kantenabsorptionsfiltern exponiert und anschließend für 10 min mit UVB ( $5 \text{ W m}^{-2}$ ) und für 45 min mit UVA ( $2,8 \text{ W m}^{-2}$ ) bestrahlt. Die Erholung der Zellen wurde als relative Überlebensrate gegenüber der nicht UVB-bestrahlten Kontrolle dargestellt (Abb. 4.14). Wie bei der Dimerbildung (vgl. Abb. 4.12 & Abb. 4.13) wurden auch hier die Ergebnisse auf die gleiche Dosis normiert.

Kulturen, die zusätzlich mit Blau (GG 420), Blau+UVA (WG 360, WG 335) oder Blau+UVA+UVB (WG 320) vorbestrahlt wurden, wiesen gegenüber den unter Gelblicht gehälterten (<460 nm) oder nicht photoreaktivierend bestrahlten Kontrollen eine deutliche Zunahme der Überlebensrate auf (Abb. 4.14). Diese Erholung war am größten, wenn die Kulturen mit moderater UVB-Strahlung von  $0,5 \text{ W m}^{-2}$  vorbestrahlt wurden

(WG 320). Bei einer weiteren UVB-Erhöhung auf  $1,1 \text{ W m}^{-2}$  (2\*WG 305) nahm dagegen die Überlebensrate wieder um mehr als 10% ab.

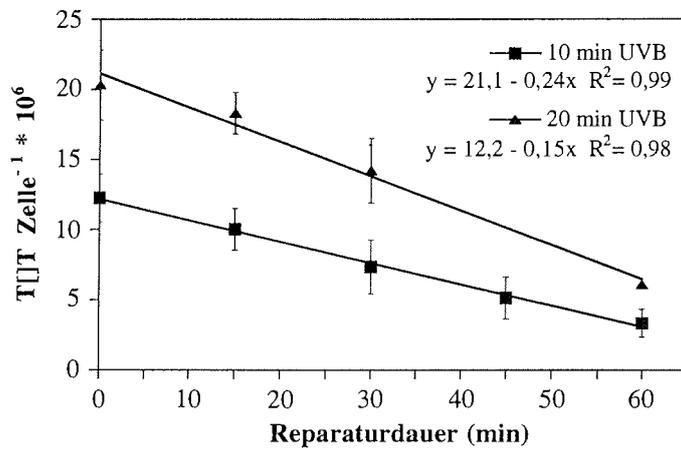


**Abb. 4.14:** Überlebensrate von UVB-bestrahlten Kulturen von *P. pseudodenticulata* in Abhängigkeit des Wellenlängenbereiches der Vorbestrahlung. Die Kontrolle wurde vor der UVB-Bestrahlung im Gelblicht gehältert und nicht photoreaktivierend bestrahlt. Eingetragen sind die Mittelwerte aus drei Parallelen eines Versuches und die für den Mittelwert abgeschätzten Maximalfehler von 20%.

#### 4.1.6 Abhängigkeit der Photoreaktivierung von der Dimerkonzentration

Im folgenden Experiment wurde die Abhängigkeit der Reparaturgeschwindigkeit vom zellulären Dimergehalt untersucht. Dazu wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata* für 10 oder 20 min mit UVB ( $5 \text{ W m}^{-2}$ ) und anschließend für 0 bis 60 min photoreaktivierend mit UVA ( $2,8 \text{ W m}^{-2}$ ) bestrahlt. Die hohe Korrelation der beiden Geraden in Abb. 4.15 bestätigt die schon im früheren Abschnitt gemachte Annahme, daß es unter photoreaktivierender Bestrahlung zu einer annähernd linearen Abnahme der Dimerkonzentration in den Zellen kommt und somit die Reparaturgeschwindigkeit im untersuchten Konzentrationsbereich annähernd konstant ist. Allerdings weisen Kulturen, die für 20 min mit UVB bestrahlt wurden, eine höhere Reparaturgeschwindigkeit auf als Kulturen, die nur für 10 min bestrahlt wurden (Abb. 4.15). Dabei stieg bei einer Erhöhung der Ausgangsdimerkonzentration um 66% auch die Geschwindigkeit der Dimerreparatur um ca. 60% an (vgl. Steigung der Geraden in Abb. 4.15). Dies führt dazu, daß beide Kulturen, obwohl sie eine unterschiedliche absolute Reparaturrate besitzen, eine annähernd gleiche relative Reparaturrate aufweisen

(Quotient aus der Ausgangskonzentration und der Reparaturgeschwindigkeit; s. Geradengleichung in Abb. 4.15).



**Abb. 4.15:** Abnahme der TTT-Konzentration in UVB-bestrahlten Kulturen von *P. pseudodenticulata* in Abhängigkeit von der Reparaturdauer. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus vier unabhängigen Versuchen.

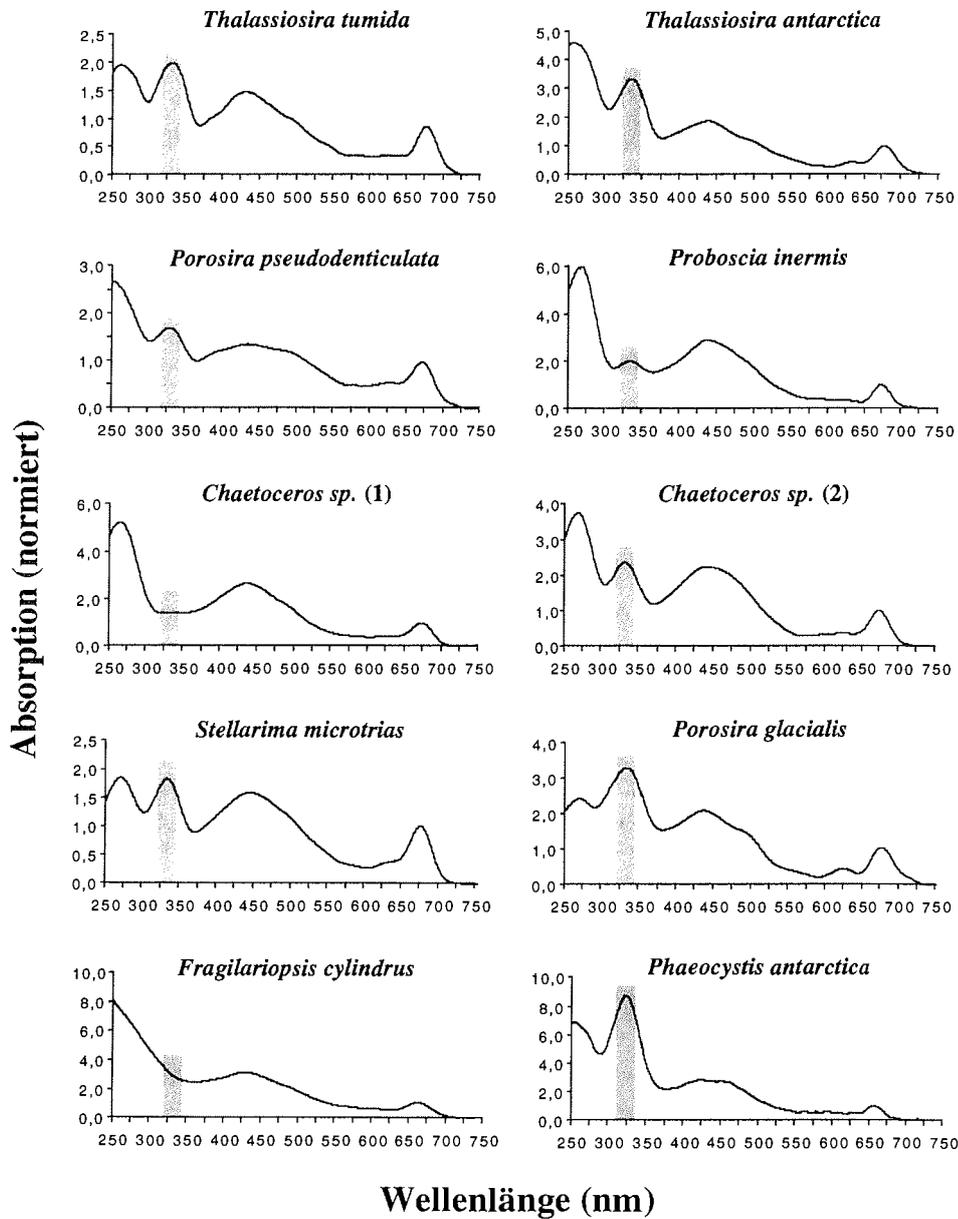
## 4.2 Vorkommen und Regulation von Mykospurin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs)

### 4.2.1 UV-Absorption verschiedener Algenkulturen

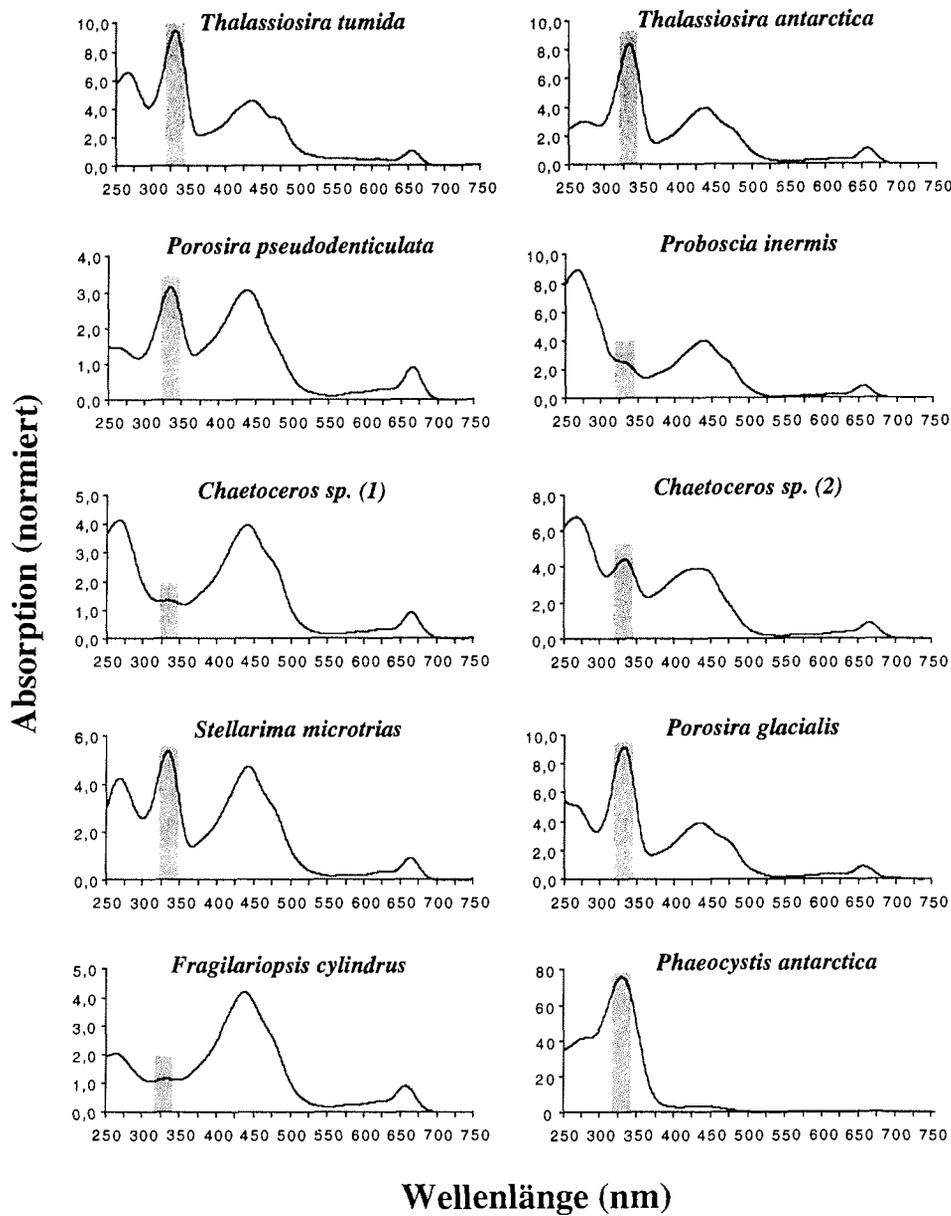
Von insgesamt 9 Diatomeenkulturen sowie von *Phaeocystis antarctica*, die hauptsächlich in Kolonieform vorlag, wurden *in vivo*- und Extrakt-Absorptionsspektren erstellt (Abb. 4.16A & 4.16B). Alle Kulturen waren zuvor für mehrere Generationen im PAR-Feld einer mittleren Bestrahlungsstärke von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert worden.

Aufgrund der photosynthetischen Pigmente besitzen alle Absorptionsspektren ein Maximum im Bereich zwischen 440 und 460 nm (Absorption von Chlorophyllen und Carotinoiden) sowie ein weiteres Maximum zwischen 660 und 680 nm (Absorption von Chl *a*) (Abb. 4.16A & 4.16B). Die meisten der Kulturen haben außerdem ein deutliches Absorptionsmaximum im ultravioletten Wellenlängenbereich zwischen 320 und 340 nm. Bei den Diatomeen lag das Absorptionsmaximum *in vivo* zwischen 330 und 333 nm (Abb. 4.16A) bzw. im Extrakt zwischen 333 und 337 nm (Abb. 4.16B). Die höchsten UV-Absorptionen, normiert auf das Maximum der Absorptionslinie des Chl *a* bei 676 nm (*in vivo*) bzw. 664 nm (Extrakt), zeigten Kulturen von *Porosira*, *Thalassiosira* und *Stellarima*. Andere Diatomeenkulturen wie *Fragilariopsis* und *Chaetoceros* (1) zeigten dagegen nur geringe Absorptionen in diesem Wellenlängenbereich (Abb. 4.16A & 4.16B).

Im Vergleich zu den untersuchten Diatomeen war das UV-Absorptionsmaximum von *Phaeocystis*-Kolonien zu kürzeren Wellenlängen hin verschoben und lag zwischen 315 und 320 nm (*in vivo*) bzw. 320 und 327 nm (Extrakt). Die relativ zur Chl *a*-Absorption gemessene UV-Absorption war bei *Phaeocystis* 3-10fach höher als bei den Diatomeen (Abb. 4.16A & 4.16B).



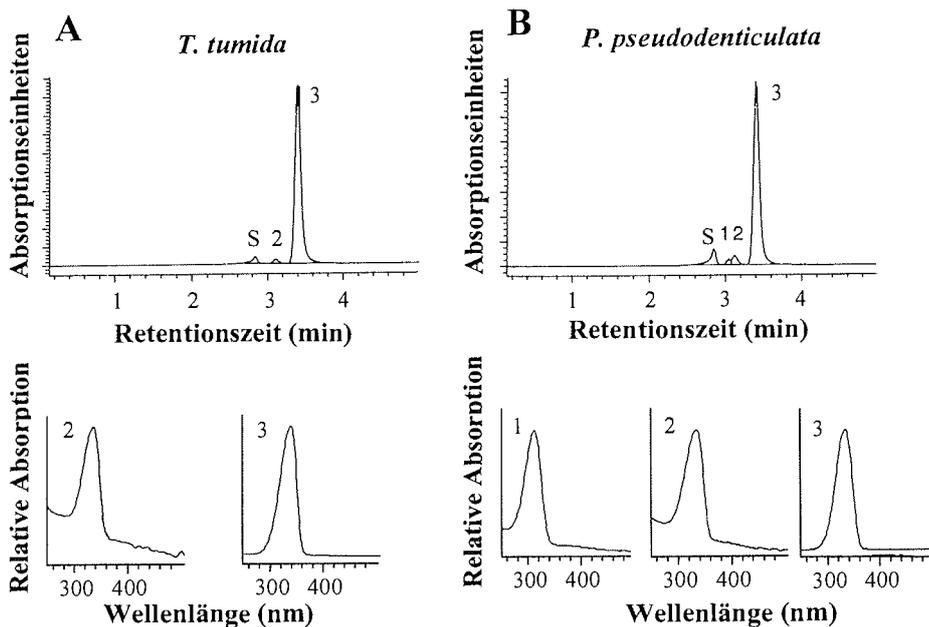
**Abb. 4.16A:** *In vivo*-Absorptionsspektren verschiedener Diatomeen-Kulturen und Kolonien von *Phaeocystis antarctica*, normiert auf das Maximum der Absorptionslinie des Chl *a* bei 676 nm. Die Kulturen waren zuvor im PAR-Feld bei  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gewachsen. Die mittlere Koloniegröße für *Phaeocystis antarctica* betrug  $800\text{-}1400 \mu\text{m}$ . Zu beachten ist die unterschiedliche Skalierung der y-Achsen. Die grauen Balken kennzeichnen das Maximum der Absorption im UV-Wellenlängenbereich zwischen 320 und 350 nm.



**Abb. 4.16B:** Extrakt-Absorptionsspektren verschiedener Diatomeen-Kulturen und Kolonien von *Phaeocystis antarctica*, normiert auf das Maximum der Absorptionslinie des Chl *a* bei 664 nm. Wachstumsbedingungen wie in Abb. 4.16A. Zu beachten ist die unterschiedliche Skalierung der y-Achsen. Die grauen Balken kennzeichnen das Maximum der Absorption im UV-Wellenlängenbereich zwischen 320 und 350 nm.

#### 4.2.2 Identifizierung der MAAs & Bestimmung des MAA-Gehaltes

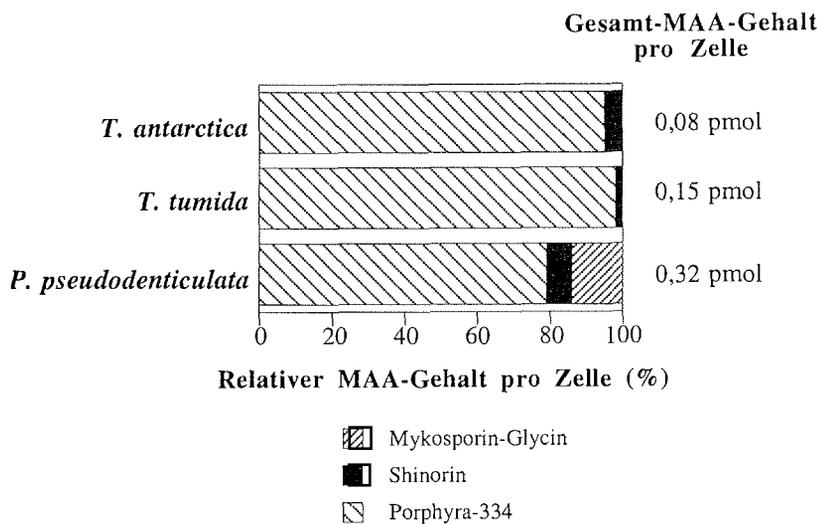
Zur Identifizierung der im UV-Bereich absorbierenden Substanzen wurden aus den methanolischen Extrakten der verschiedenen Kulturen die einzelnen Substanzen chromatographisch aufgetrennt. Die Identifikation der getrennten Substanzen erfolgte über ihre Retentionszeit und ihr Absorptionsmaximum im Vergleich zu Standardsubstanzen. In Abb 4.17 sind Beispiele von Chromatographiespektren aus Extrakten von *T. tumida* und *P. pseudodenticulata* sowie die entsprechenden Absorptionsspektren der isolierten Fraktionen dargestellt.



**Abb. 4.17:** HPLC-Chromatogramm der methanolischen Extrakte sowie Absorptionsspektren der verschiedenen Fraktionen von *T. tumida* (A) und *P. pseudodenticulata* (B). Die Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) wurden bei ihrer maximalen Absorption detektiert und identifiziert als: 1 = Mykosporin-Glycin ( $\lambda_{\max} = 310$  nm); 2 = Shinorin ( $\lambda_{\max} = 335$  nm); 3 = Porphyra-334 ( $\lambda_{\max} = 335$  nm); S = Salze und nicht identifizierte Substanzen.

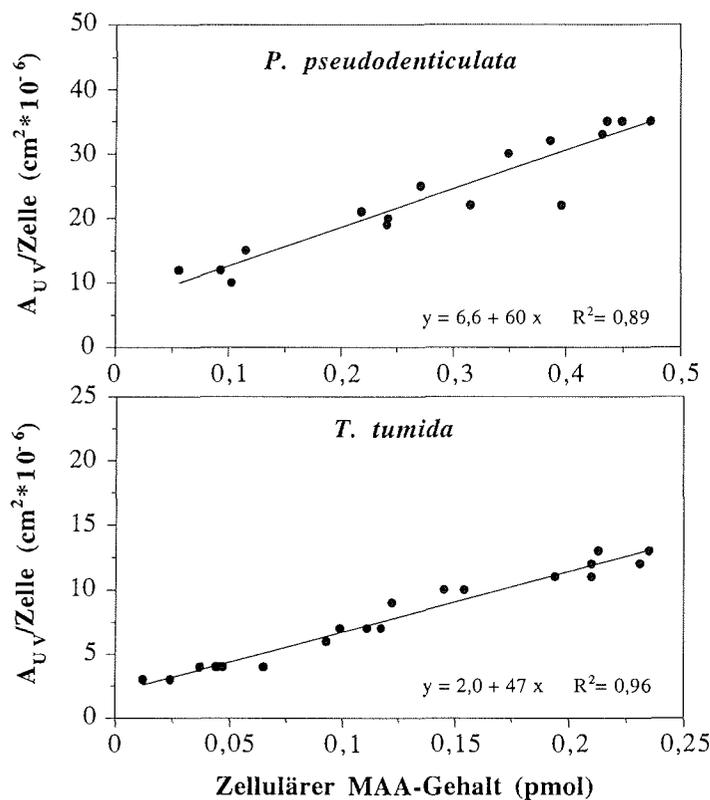
In allen untersuchten Diatomeenkulturen trat Porphyra-334 als die häufigste Mykosporin-ähnliche Aminosäure auf. In Abb. 4.18 sind die relativen MAA-Konzentrationen sowie der Gesamt-MAA-Gehalt für drei Diatomeenkulturen, *T. antarctica*, *T. tumida* und *P. pseudodenticulata* dargestellt. Shinorin wurde ebenfalls in allen untersuchten Diatomeen gefunden, allerdings in wesentlich geringeren Konzentrationen (<5% des Gesamt-MAA-Gehaltes). In *P. pseudodenticulata* konnte noch eine dritte MAA, Mykosporin-Glycin, identifiziert werden. Ihr Anteil am Gesamt-MAA-Gehalt betrug ca. 17% (Abb. 4.18).

Bei *Phaeocystis*-Kulturen erlaubte die für die Diatomeen verwendete HPLC-Methode keine ausreichende Trennung der verschiedenen Fraktionen. Aufgrund der Retentionszeiten und ihres Absorptionsverhaltens wurden die UV-absorbierenden Substanzen jedoch den MAAs zugerechnet. Dies entspricht auch den Ergebnissen der Untersuchung von Bidigare et al. (1996).



**Abb. 4.18:** Relativer Gehalt an Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) sowie Gesamt-MAA-Gehalt in Kulturen in verschiedenen Diatomeenkulturen. Die Kulturen wurden im PAR-Feld bei  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert. Der abgeschätzte Maximalfehler des zellulären MAA-Gehaltes liegt bei 10%.

Der hohe zelluläre MAA-Gehalt bei *P. pseudodenticulata* und *T. tumida* zwischen 0,15 und 0,32 pmol (Abb. 4.18) ließ vermuten, daß hauptsächlich MAAs für die *in vivo* und *in vitro*-Absorption dieser Kulturen im Wellenlängenbereich zwischen 320 und 340 nm verantwortlich sind. Die lineare Korrelation des Gesamtgehaltes UV-absorbierender Substanzen, gemessen als zellulärer Absorptionskoeffizient ( $A_{UV}/\text{Zelle}$ ), mit dem zellulären MAA-Gehalt von Kulturen von *P. pseudodenticulata* und *T. tumida* bestätigt diese Annahme (Abb. 4.19). Im folgenden wurde deshalb der Gesamtgehalt der UV-absorbierenden Substanzen als indirekte Bestimmung des zellulären MAA-Gehaltes verwendet.



**Abb. 4.19:** Abhängigkeit des zellulären Absorptionskoeffizienten ( $A_{UV}/\text{Zelle}$ ) vom zellulären MAA-Gehalt bei *P. pseudodenticulata* und *T. tumida*. Zu beachten sind die unterschiedlichen Skalierungen der beiden Achsen. Die Daten stammen aus Kulturen, die bei Strahlung unterschiedlicher Stärke oder unterschiedlicher spektraler Zusammensetzung exponiert waren (vgl. nachfolgende Untersuchungen).

### 4.2.3 Abhängigkeit der MAA-Bildung von der Zell- und Koloniegroße

Der Gesamtgehalt an UV-absorbierenden Substanzen (gemessen als  $A_{UV}/\text{Zelle}$ ) wies große Unterschiede zwischen verschiedenen Diatomeenkulturen und Kulturen von *Phaeocystis antarctica* auf (Tab. 4.3). Alle Kulturen waren vor der Messung für mindestens fünf Generationen im PAR-Feld bei  $100 \mu\text{mol Photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert worden. Große Zellen, wie *P. pseudodenticulata* und *C. centralis* (mittlerer Radius zwischen 21 und  $30 \mu\text{m}$ ), wiesen einen höheren Gehalt auf als kleinere Zellen, z.B. *F. linearis* und *Chaetoceros* sp. (1) (mittlerer Radius zwischen 1 und  $5 \mu\text{m}$ ). Diese Tendenz läßt sich auch bei verschiedenen Klonen mit unterschiedlicher Zellgröße beobachten. So weist z.B. *T. antarctica* (2) (mittlerer Radius  $24 \mu\text{m}$ ) gegenüber der kleineren *T. antarctica* (1) (mittlerer Radius  $11 \mu\text{m}$ ) einen mehr als dreifach höheren Gehalt auf (Tab. 4.3A).

Da Zählungen von Zellen aus Kolonien von *Phaeocystis antarctica* einen großen Fehler aufweisen, wurde für hier als Maß für den Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen das Verhältnis der Absorption im UV-Maximum zur Absorption des Chl *a* bei  $664 \text{ nm}$  verwendet ( $A_{UV/664}$ ). Mit zunehmendem Radius der Kolonien nahm der Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen zu (Tab. 4.3B). Große Kolonien mit einem mittleren Radius zwischen  $800$  und  $1400 \mu\text{m}$  weisen einen mehr als doppelt so hohen Gehalt auf als Kolonien mit einem Radius zwischen  $50$  und  $100 \mu\text{m}$ .

**Tab. 4.3:** Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen, Zell- und Kolonieradius sowie die aus den *in vivo*-Absorptionen berechneten Abschirmungsfaktoren (S) für Diatomeen (A) und *Phaeocystis antarctica* unterschiedlicher Koloniegröße (B). Der Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen ist für die Diatomeen als zellulärer Absorptionskoeffizient ( $A_{UV}/\text{Zelle}$ ) und für *Phaeocystis antarctica* als  $A_{UV/664}$  dargestellt. Die Zahlen in den Klammern bezeichnen verschiedene Klone einer Diatomeenart.

| A) Diatomeen                          | Valven-Radius<br>( $\mu\text{m}$ ) | $A_{UV}/\text{Zelle}$<br>( $\text{cm}^2 10^{-6}$ ) | S    |
|---------------------------------------|------------------------------------|--|------|
| <i>Thalassiosira tumida</i>           | 12,9                               | 10,0   | 0,47 |
| <i>Thalassiosira antarctica</i> (1)   | 11,1                               | 3,9  | 0,34 |
| <i>Thalassiosira antarctica</i> (2)   | 24,4                               | 17,0   | 0,43 |
| <i>Porosira pseudodenticulata</i> (1) | 21,2                               | 25,9   | 0,50 |
| <i>Porosira pseudodenticulata</i> (2) | 30,0                               | 35,1   | 0,47 |
| <i>Chaetoceros sp.</i> (1)            | 4,7                                | 0,1  | 0,09 |
| <i>Chaetoceros sp.</i> (2)            | 5,8                                | 1,0  | 0,22 |
| <i>Proboscia inermis</i>              | 2,1                                | 0,8  | 0,04 |
| <i>Porosira glacialis</i>             | 14,1                               | 11,5   | 0,40 |
| <i>Stellarima microtrias</i>          | 11,7                               | 2,6  | 0,26 |
| <i>Cosinodiscus centralis</i>         | 23,1                               | 68,2   | 0,50 |
| <i>Fragilariopsis linearis</i>        | 2,2                                | 0,05   | 0,05 |
| <i>Fragilariopsis cylindrus</i>       | 1,5                                | < 0,01   | 0,03 |

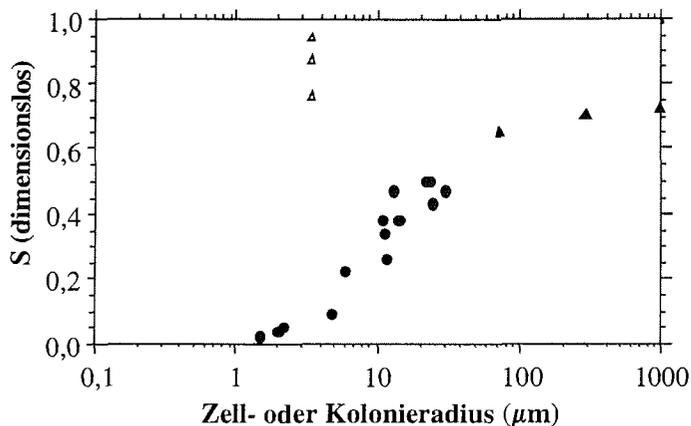
| B) <i>Phaeocystis antarctica</i>     |         | Radius ( $\mu\text{m}$ ) | $A_{UV/664}$ | S    |
|--------------------------------------|---------|--------------------------|--------------|------|
| <i>Koloniegröße optische Einheit</i> |         |                          |              |      |
| Klein                                | Kolonie | 50-100                   | 18,5         | 0,65 |
|                                      | Zelle   | 3,5                      |              | 0,76 |
| Mittel                               | Kolonie | 200-400                  | 25,2         | 0,70 |
|                                      | Zelle   | 3,5                      |              | 0,87 |
| Groß                                 | Kolonie | 800-1400                 | 48,3         | 0,72 |
|                                      | Zelle   | 3,5                      |              | 0,94 |

Zur Beurteilung der Schutzwirkung von UV-absorbierenden Substanzen ist es wichtig, den Anteil der schädigenden UV-Strahlung zu kennen, der von ihnen tatsächlich absorbiert wird. Mit Hilfe des von Garcia-Pichel (1994) entwickelten Modells wurden mit Hilfe der gemessenen MAA-Gehalte für verschiedene Diatomeenkulturen sowie Kolonien und Einzelzellen von *Phaeocystis antarctica* sogenannte Abschirmungsfaktoren für UV-

Strahlung ("Sunscreenfactors", S) berechnet (s. Kap. 3.3.3). Alle Kulturen waren zuvor für mindestens 5 Generationen unter Standardlichtbedingungen von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert worden. Bei der Berechnung der Abschirmungsfaktoren wurde angenommen, daß die UV-absorbierenden Substanzen homogen in der Zelle oder Kolonie verteilt sind und sich die zu schützende Struktur (z.B. DNA) im Zentrum der Zelle befindet. Die Werte von S sind wellenlängenabhängig und können zwischen 1 (alle Photonen werden absorbiert) und 0 (keine Absorption) variieren.

Die aus den *in vivo*-Absorptionen berechneten Abschirmungsfaktoren lagen für die verschiedenen Diatomeenkulturen zwischen 0,03 und 0,50 (Tab. 4.3A). Für kleinere Zellen wie *Fragilariopsis* und *Chaetoceros* sp. (1) mit einem mittleren Radius von  $<5 \mu\text{m}$  wurden nur sehr geringe Abschirmungsfaktoren berechnet ( $S < 0,10$ ). Größere Zellen wie *P. pseudodenticulata* (2) mit einem mittleren Radius von  $30 \mu\text{m}$  zeigten dagegen Werte bis zu 0,50. In Abb. 4.20 wurden die Abschirmungsfaktoren gegen den Radius der Zellen aufgetragen. Daraus ist zu erkennen, daß mit zunehmendem Radius der Zellen die Werte für die Abschirmungsfaktoren deutlich ansteigen.

Da über die Lokalisation der UV-absorbierenden Substanzen in *Phaeocystis*-Kolonien nur wenig bekannt ist, wurden die Abschirmungsfaktoren für die Kolonien und die Einzelzellen berechnet. Bei der Annahme, daß sich die UV-absorbierenden Substanzen hauptsächlich in der Koloniematrix befinden, ergeben sich Abschirmungsfaktoren zwischen 0,65 und 0,72. Unter der Annahme, daß die MAAs in den Zellen lokalisiert sind, ergeben sich wesentlich höhere Faktoren von bis zu 0,94 (Tab. 4.3B). Diese Werte liegen weit oberhalb der Werte für Diatomeen gleicher Größe (Abb. 4.20).



**Abb. 4.20:** Abschirmungsfaktoren für UV-Strahlung (S) für verschiedene Diatomeenkulturen in Abhängigkeit des Zellradius (•) und für *Phaeocystis antarctica*, berechnet auf die gesamte Kolonie (▲) oder einzelne Zellen (Δ).

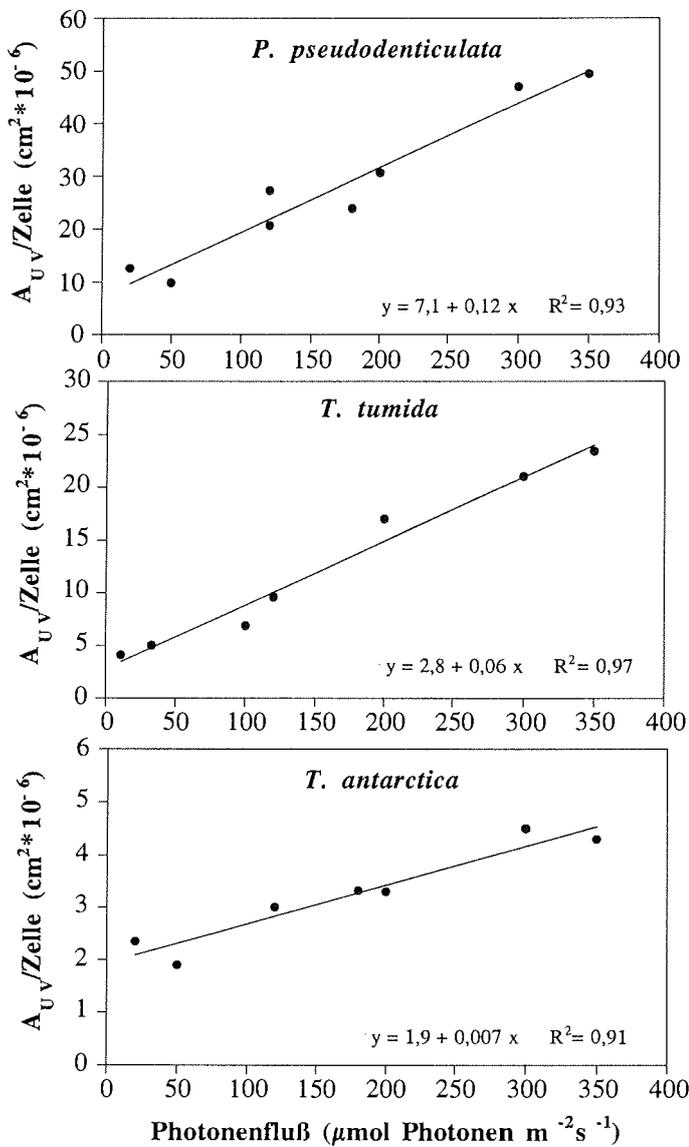
#### 4.2.4 MAA-Bildung und -Abbau in Abhängigkeit von der Wellenlänge, Dauer und dem Photonenfluß der Bestrahlung

Für die Untersuchungen über die Bildung und den Abbau von MAAs wurden Diatomeenkulturen ausgewählt, die im PAR-Feld bei mittleren Bestrahlungsstärken von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  einen relativ hohen MAA-Gehalt besitzen. Die dafür am besten geeigneten Kulturen waren *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* und *T. antarctica* (Absorptionscharakteristika vgl. Abb. 4.16 & Tab. 4.3). Für die Untersuchungen mit *Phaeocystis antarctica* wurden Kulturen verwendet, deren Koloniegröße im mittleren Bereich zwischen 200 und 400  $\mu\text{m}$  lag.

##### *Bildung von MAAs in Abhängigkeit des Photonenflusses*

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der MAA-Bildung vom Photonenfluß der photosynthetisch wirksamen Strahlung wurden verschiedene Diatomeenkulturen für mindestens drei Wochen an 7 oder 8 unterschiedliche Bestrahlungsstärken zwischen 20 und  $350 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  akklimatisiert. Mit steigendem Photonenfluß kam es bei *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* und *T. antarctica* zu einem linearen Anstieg im MAA-Gehalt (gemessen als  $A_{UV}/\text{Zelle}$ ) (Abb. 4.21). Bei der höchsten PAR-Einstrahlung von  $350 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  wurde bei allen drei Kulturen keine Sättigung des MAA-Gehaltes in der Zelle erreicht. Für diese Diatomeen kann

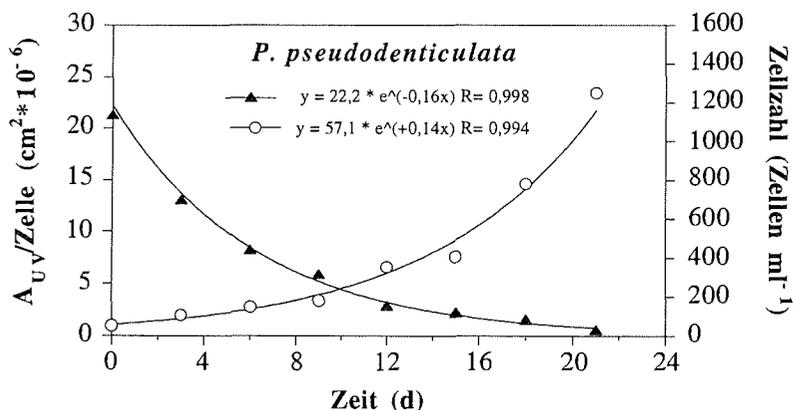
somit von einer linearen Dosis-Wirkungsbeziehung der MAA-Bildung für den Bereich zwischen 20 und 350  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ausgegangen werden.



**Abb. 4.21:** Zellulärer Absorptionskoeffizient ( $A_{UV}/\text{Zelle}$ ) in Abhängigkeit vom Photonfluß in Kulturen von *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* und *T. antarctica*. Die Kulturen wuchsen zuvor für mindestens 10 Teilungen im PAR-Feld bei Bestrahlungsstärken zwischen 20 und 350  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

### Abbau von MAAs

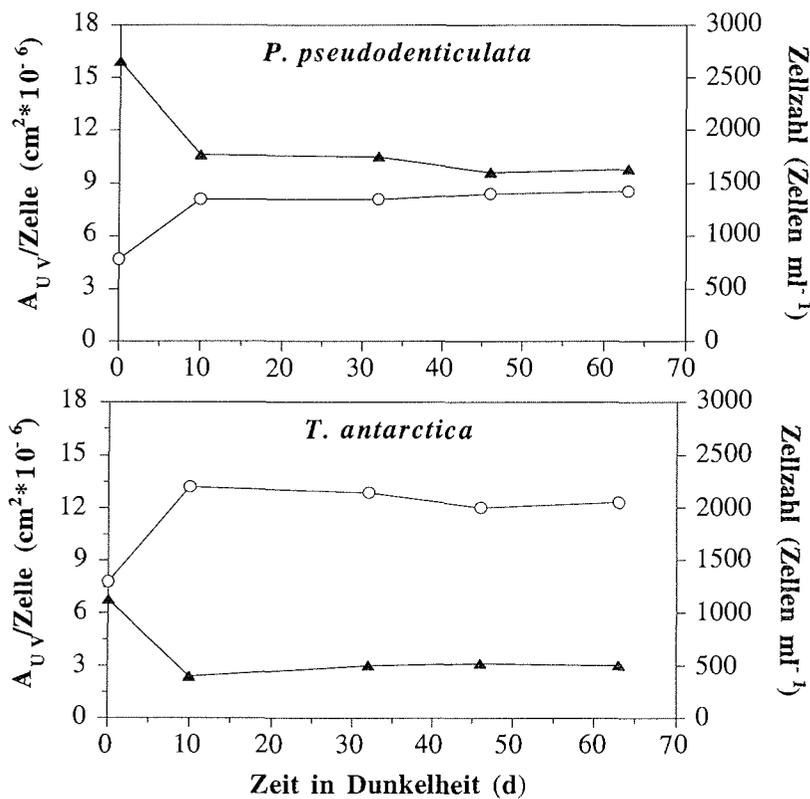
Wurden Diatomeen- und *Phaeocystis*-Kulturen, die zuvor unter PAR von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert wurden, in Rotlicht oder Gelblicht gleichen Photonenflusses gebracht (Versuchsdurchführung s. Abb. 3.3), so nahm mit zunehmender Wachstumsdauer der mittlere zelluläre UV-Absorptionskoeffizient und somit der mittlere MAA-Gehalt in den Zellen ab. Der zeitliche Verlauf dieser Abnahme ist in Abb. 4.22 exemplarisch für die Diatomee *P. pseudodenticulata* dargestellt. Nach insgesamt 4 Zellteilungsintervallen (Tag 21) war der zelluläre MAA-Gehalt auf 5% der Anfangskonzentration ausgedünnt (Abb. 4.22). Die inverse Übereinstimmung der aus den Datensätze berechneten Exponentialfunktionen sowie der über die ganze Versuchsdauer über konstant gebliebene MAA-Gehalt der Gesamtkultur (Produkt aus Zellkonzentration und Absorptionskoeffizienten) weisen darauf hin, daß die MAAs durch die fortlaufende Teilung ausgedünnt und nicht aktiv abgebaut wurden.



**Abb. 4.22:** Zeitlicher Verlauf der Zellkonzentration (○) und des mittleren zellulären Absorptionskoeffizienten ( $A_{UV}/\text{Zelle}$ ) (▲) von *P. pseudodenticulata* nach einem Wechsel von PAR (400-700 nm) in Gelblicht gleichen Photonenflusses. (Repräsentatives Ergebnis).

Eine Reduktion des mittleren zellulären MAA-Gehaltes wurde auch bei sich noch teilenden Kulturen in Dunkelheit (Versuchsdurchführung s. Abb. 3.3) beobachtet. In Abb. 4.23 ist dies für *T. tumida* und *P. pseudodenticulata* für eine Dunkelperiode von insgesamt 62 Tagen dargestellt. Die Abnahme des MAA-Gehaltes in den ersten 10 Tagen der Dun-

kelperiode um 60% (*T. antarctica*) oder 35% (*P. pseudodenticulata*) entsprach einer gleichzeitigen Zunahme der Zellzahl um 60% bzw. 42%. Danach blieb für die gesamte Dauer der Dunkelperiode sowohl die Zellzahl als auch der mittlere zelluläre MAA-Gehalt konstant. Nach dieser Dunkelperiode waren die Zellen noch teilungsfähig und zeigten, wenn sie wieder in Licht gebracht wurden, nach einer kurzen Erholungsphase wieder Wachstumsraten wie vor der Dunkelphase. Daß nach einer Dunkelphase von bis zu 272 Tagen Diatomeenzellen noch lebensfähig waren, konnte auch in den Untersuchungen von Peters & Thomas (1996) gezeigt werden. Die Kulturen konnten nach dieser Dunkelperiode wieder Zellteilungs- und Photosyntheseraten erreichen, die denen vor der Dunkelphase entsprachen.

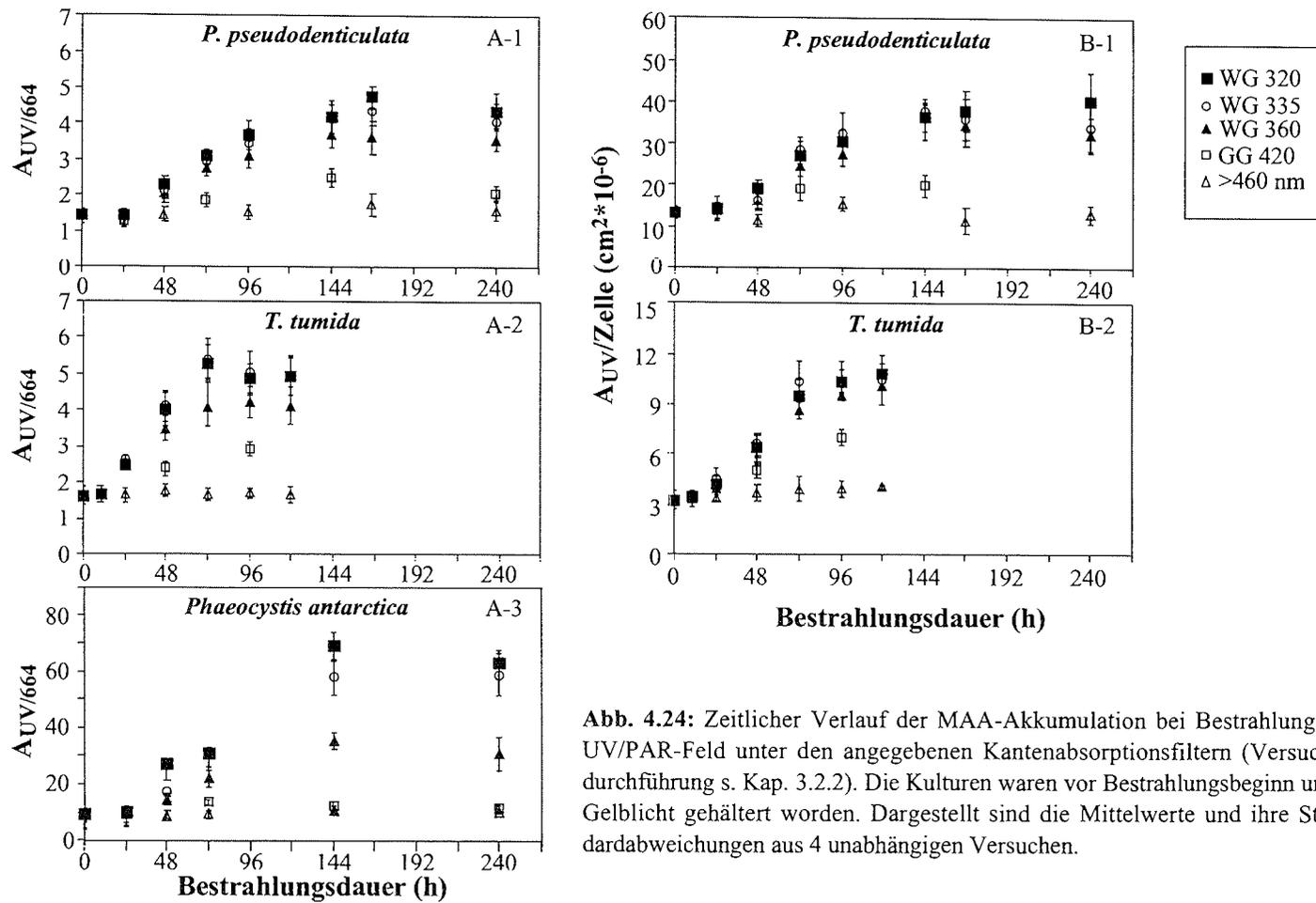


**Abb. 4.23:** Zeitlicher Verlauf der Zellkonzentration (Zellen ml<sup>-1</sup>) (○) und des zellulären Absorptionskoeffizienten (A<sub>UV</sub>/Zelle) (▲) in Kulturen von *T. antarctica* und *P. pseudodenticulata* in fortlaufender Dunkelheit. Zuvor waren die Kulturen in PAR eines Strahlungsflusses von 100 μmol Photonen m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> gehältert worden.

*Akkumulation von MAAs in Abhängigkeit der Wellenlänge*

Wurden Kulturen, die unter Gelb- oder Rotlicht gehältert wurden und somit nur einen geringen MAA-Gehalt aufwiesen (vgl. Abb. 4.22), wieder in PAR (d.h. inklusive Blaulicht) gleichen Photonenflusses gebracht, so nahm der MAA-Gehalt der Kulturen zu. Dieses Ergebnis aus Voruntersuchungen ließ vermuten, daß die Bildung von MAAs wellenlängenabhängig ist.

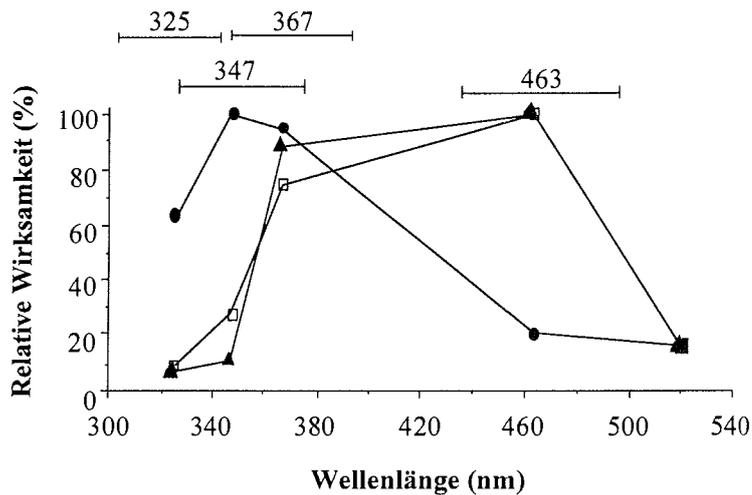
Zur genaueren Untersuchung des für die Induktion wirksamen Wellenlängenbereiches wurden Kulturen von *T. tumida*, *P. pseudodenticulata* und Kolonien von *Phaeocystis antarctica*, die für mindestens 2 Wochen in Gelblicht gewachsen waren, im UV/PAR-Feld mit Strahlung unterschiedlicher Wellenlänge bestrahlt (Versuchsdurchführung s. Abb. 3.4). Mit zunehmend kurzwelligerem Anteil der Strahlung, kam es in allen Kulturen auch zu einer Zunahme der UV-Absorption (gemessen als  $A_{UV/664}$  oder  $A_{UV}/\text{Zelle}$ ) und somit des MAA-Gehaltes (Abb. 4.24A & 4.24B). Es können drei unterschiedliche Phasen der MAA-Akkumulation beobachtet werden: eine Anfangs- oder Verzögerungsphase von 12-24 h, in der der zelluläre MAA-Gehalt konstant und gering ist, eine zweite, exponentielle Phase, in der der Gehalt mit der Bestrahlungsdauer ansteigt, und eine Sättigungsphase, bei der der MAA-Gehalt nach 72-144 h Bestrahlung ein Maximum erreicht (Abb. 4.24A & 4.24B). Für die MAA-Bildung war bei allen untersuchten Algenkulturen Dauerbestrahlung notwendig (s. auch Abb. 4.21). Eine kurze induzierende Bestrahlung von 4 h führte auch nach insgesamt 48stündigem Wachstum in Gelblicht zu keiner Erhöhung des MAA-Gehaltes (nicht dargestellte Ergebnisse).



**Abb. 4.24:** Zeitlicher Verlauf der MAA-Akkumulation bei Bestrahlung im UV/PAR-Feld unter den angegebenen Kantenabsorptionsfiltern (Versuchsdurchführung s. Kap. 3.2.2). Die Kulturen waren vor Bestrahlungsbeginn unter Gelblicht gehalten worden. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4 unabhängigen Versuchen.

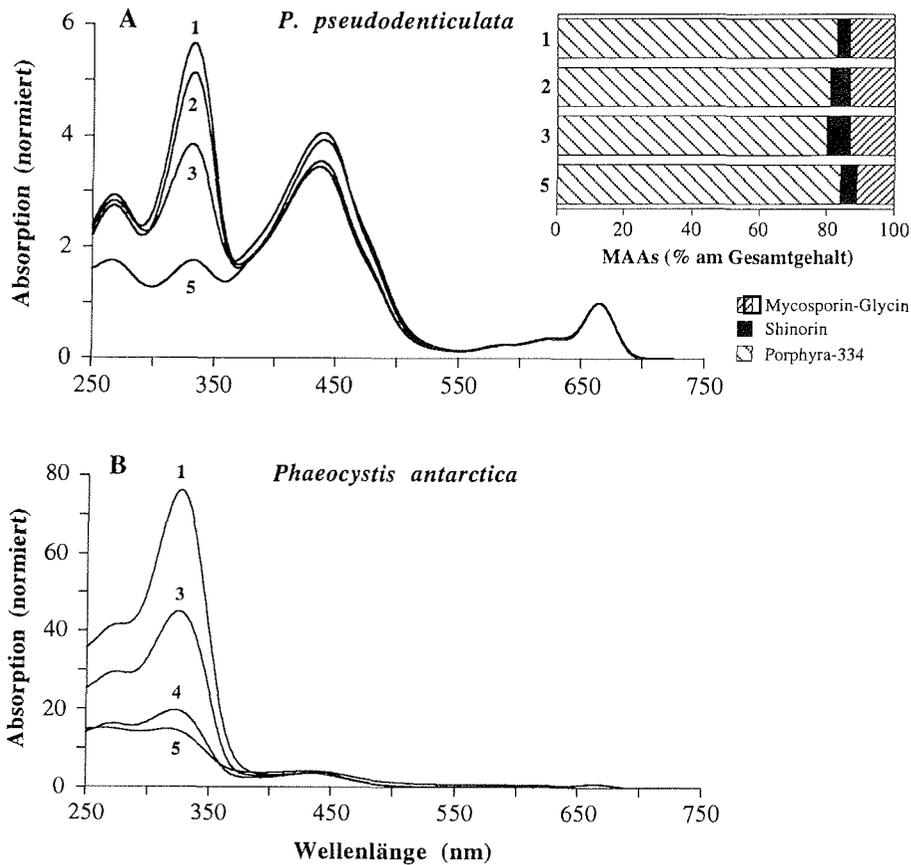
Die in Abb. 4.24 dargestellten Ergebnisse weisen auf eine Wellenlängenabhängigkeit der MAA-Bildung hin, da mit zunehmend kurzwelligerem Anteil der Strahlung der MAA-Gehalt der Kulturen ansteigt. Da gleichzeitig jedoch auch die eingestrahlte Strahlungsdosis zunimmt (vgl. Abb. 3.1 & Tab. 3.2), kann aus diesen Daten nicht eindeutig auf eine Wellenlängenabhängigkeit geschlossen werden. Zur Erstellung einer sogenannten "Wirkungskurve" der MAA-Bildung wurde deshalb die Zunahme der in Abb. 4.24 dargestellten MAA-Gehalte auf die gleiche eingestrahlte Energiedosis bezogen und gegen die mittlere Wellenlänge aufgetragen (Abb. 4.25). Als mittlere Wellenlänge wurde dabei der Medianwert des polychromatischen Differenzspektrums verwendet (s. Kap. 3.3.5). Zur Berechnung der MAA-Zunahme wurden die MAA-Gehalte im Maximum ihrer Bildung verwendet (vgl. Abb. 4.24). In Abb. 4.25 sind die resultierenden Wirkungskurven der MAA-Bildung für die beiden Diatomeen *P. pseudodenticulata* und *T. tumida* sowie für *Phaeocystis*-Kolonien dargestellt. Die Wirkung wurde normiert, indem die jeweils maximale Wirkung als 100% gesetzt wurde. Die Balken über den Kurven repräsentieren die 90%ige Bandbreite des Wellenlängenbereiches, in dem sich die aufgetragene Wirkung bewegen kann.

Bei beiden Diatomeen-Kulturen sowie *Phaeocystis*-Kolonien weisen die resultierenden Wirkungskurven auf eine Wellenlängenabhängigkeit der MAA-Bildung hin (Abb. 4.25). Bei Diatomeen ist vor allem Blau- und UVA-Strahlung (mittlere Wellenlänge 463 und 367 nm) wirksam für die MAA-Bildung (Abb. 4.25). UVB-Strahlung (mittlere Wellenlänge 325 nm) und längerwellige Strahlung bei 520 nm zeigen dagegen nur eine geringe Wirksamkeit. Im Vergleich zu den Diatomeen ist bei Kolonien von *Phaeocystis antarctica* die Wirksamkeit der Strahlung zu kürzeren Wellenlängen verschoben (mittlere Wellenlänge 347 nm und 325 nm), UVB-Strahlung (mittlere Wellenlänge 325 nm) hat hier eine deutlich induzierende Wirkung auf die MAA-Bildung (Abb. 4.25).



**Abb. 4.25:** Relative Wirksamkeit der MAA-Bildung in Abhängigkeit des eingestrahnten Wellenlängenbereiches bei *P. pseudodenticulata* (▲), *T. tumida* (◻) und *Phaeocystis*-Kolonien (●). Die Balken bezeichnen die Bandbreite, in der sich die beim Medianwert aufgetragene Wirkung bewegt.

Durch die MAA-Akkumulation wurde das Absorptionsmaximum der Extrakte im Maximum der MAA-Absorption zwischen 330 und 340 nm nicht oder nur geringfügig verschoben (Abb. 4.26). Dies deutet darauf hin, daß die relativen Konzentrationen der verschiedenen MAAs durch die Bestrahlung kaum verändert werden. Eine genauere Untersuchung der MAAs bei *P. pseudodenticulata* belegt diese Annahme (Abb. 4.26A, kleine Graphik).



**Abb. 4.26:** Extrakt-Absorptionsspektren von *P. pseudodenticulata* (A) und Kolonien von *Phaeocystis antarctica* (B), 6 Tage nach der Bestrahlung im UV/PAR-Feld unter verschiedenen Kantenabsorptionsfiltern (1 = WG 320, 2 = WG 335, 3 = WG 360, 4 = GG 420, 5 = >460 nm). Strahlungsbedingungen wie in Abb. 4.24. Zu beachten ist die unterschiedliche Skalierung der y-Achse. Die kleine Graphik in A zeigt die relative Verteilung der aus den Extrakten isolierten MAAs.

### 4.3 Schutzwirkung von MAAs vor UV-Schädigungen

In Kap. 4.2.3 wurde eine potentielle Schutzwirkung der MAAs in verschiedenen Diatomeen-Kulturen sowie Kolonien von *Phaeocystis antarctica* mit Hilfe der sogenannten Abschirmungsfaktoren abgeschätzt. Der in diesem Kapitel gewählte experimentelle Ansatz, eine Schutzwirkung der MAAs nachzuweisen, basiert auf dem Vergleich des Schadensumfangs nach schädigender UVB- oder UVA-Strahlung in Abhängigkeit vom MAA-Gehalt. Dazu wurden Kulturen gleicher Art, aber unterschiedlichen MAA-Gehaltes verwendet: Wie in Kap. 4.2 gezeigt wurde, weisen Kulturen, die bei einem niedrigen PAR-Photonenfluß oder in Gelblicht gehältert worden sind, nur einen geringen MAA-Gehalt auf. Die MAA-Bildung kann jedoch - bei großen Diatomeen wie *T. tumida* und *P. pseudodenticulata* sowie Kolonien von *Phaeocystis antarctica* - durch PAR mit hohem Photonенfluß oder durch Blau/UV-Strahlung induziert werden. Für die folgenden Untersuchungen wurden beide Möglichkeiten zur MAA-Induktion verwendet:

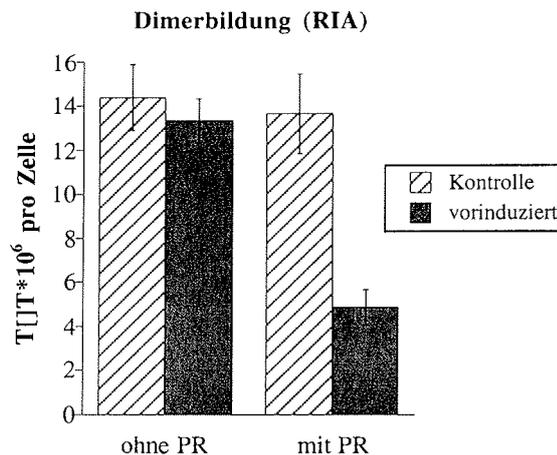
1. Kulturen, die zuvor unter Gelblicht von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert worden waren, wurden zur MAA-Induktion mit UV/Blau-Strahlung des gleichen Photonенflusses bestrahlt (Bestrahlung im UV/PAR-Feld unter WG 335; s. Abb. 3.1 & Tab. 3.2). Sie werden im folgenden als "induzierte" Kulturen bezeichnet.
2. Kulturen, die zuvor unter PAR eines geringen Photonенflusses von  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert worden waren (Schwachlicht akklimatisierte Kulturen (LL); Bestrahlung im PAR-Feld, s. Abb. 3.1 & Tab. 3.2), wurden zur MAA-Induktion in PAR eines hohen Photonенflusses von  $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gebracht (Starklicht akklimatisierte Kulturen (HL)).

Als Indikatoren für die Schädigungen durch UVA- und UVB-Strahlung wurden in den folgenden Untersuchungen die Bildung von Cyclobutyl-Pyrimidindimeren (CPD), die Überlebensrate der Zellen sowie die Quantenausbeute des Photosystems II verwendet.

### 4.3.1 Dimerbildung

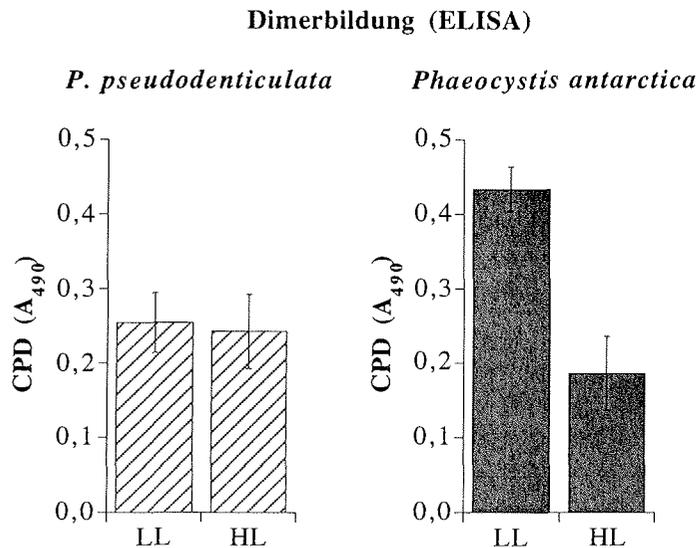
Durch Exposition im UV/Blau-Feld nimmt nicht nur der zelluläre MAA-Gehalt, sondern auch die Photoreaktivierungsrate zu (vgl. Abb. 4.13 & Abb. 4.14). Es kommt somit unter photoreaktivierenden Strahlungsbedingungen zu einer Überlagerung dieser beiden Effekte. Um eine Schutzwirkung der MAAs vor Dimerbildung zu untersuchen, wurde deshalb in den nachfolgenden Experimenten die Dimerkonzentration direkt nach der UVB-Bestrahlung gemessen. Dadurch wurde eine Photoreaktivierung größtenteils ausgeschlossen (vgl. Kap. 4.1).

Um MAAs zu induzieren, wurden Kulturen von *T. tumida*, die zuvor in Gelblicht gehältert wurden, für drei Tage mit UV/Blau bestrahlt. Dadurch nahm der zelluläre MAA-Gehalt von 0,05 auf 0,18 pmol zu. Danach wurden die Kulturen für 10 min im UVB-Feld bei  $5 \text{ W m}^{-2}$  schädigend bestrahlt und der Thymindimer-(T][T)-Gehalt unter Verwendung des Radioimmunoassays (RIA, s. Kap. 3.3.6) sowohl direkt nach der UVB- als auch nach einer photoreaktivierenden UVA-Bestrahlung von 60 min gemessen. Der mehr als dreifach höhere MAA-Gehalt in "induzierten" Kulturen hatte keine Auswirkung auf die Bildung der Dimere in den Zellen (Abb. 4.27). Dagegen resultierte die induzierende Blau/UVA-Vorbestrahlung in einer deutlich höheren Dimer-Reparatur. Innerhalb 60 min wurden in diesen Kulturen mehr als 60% der Dimere wieder repariert, während die nicht induzierten Kontrollkulturen nur eine geringe Dimer-Reparatur aufwiesen. Diese durch UV/Blau induzierte Reparaturерhöhung entspricht den schon im vorigen Abschnitt dargestellten Ergebnissen über die Abhängigkeit der Photoreaktivierung von der Wellenlänge der Vorbestrahlung (vgl. Abb. 4.13 & Abb. 4.14).



**Abb. 4.27:** Bildung und Reparatur von Thymindimeren (T[T]T) bei Kulturen von *T. tumida*. Die Kulturen wurden vor der UVB-Bestrahlung in Gelblicht gehalten (Kontrolle) oder zur Induktion der MAA-Bildung mit UV/Blau vorbestrahlt (vorinduziert). Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4 Parallelen.

In einem weiteren experimentellen Schritt wurde die Schutzwirkung der MAAs vor Dimerbildung bei *P. pseudodenticulata* und Kolonien von *Phaeocystis antarctica* untersucht. Der Gesamt-CPD-Gehalt wurde im enzymgekoppelten Immunoassay (ELISA, s. Kap. 3.3.6) gemessen. Eine Zunahme des MAA-Gehaltes in den Kulturen wurde durch Bestrahlung mit einem hohen PAR-Photonenfluß von  $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  erreicht (HL akklimatisierte Kulturen). Nach insgesamt 180 h stieg der MAA-Gehalt im Vergleich zu Kulturen, die weiterhin bei geringem Photonенfluß von  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehalten wurden (LL akklimatisierte Kulturen), um das dreifache (*P. pseudodenticulata*) bzw. fünffache (*Phaeocystis antarctica*) an. Diese Zunahme des MAA-Gehaltes hatte jedoch bei *P. pseudodenticulata* keine Auswirkung auf die durch UVB gebildeten Dimere (Abb. 4.28). Eine deutliche Reduktion der Dimerbildung konnte dagegen bei *Phaeocystis antarctica* gemessen werden. Kulturen, die zuvor unter HL gehalten wurden, zeigten im Vergleich zu LL akklimatisierten Kulturen eine mehr als 50% geringere Dimerbildung (Abb. 4.28).

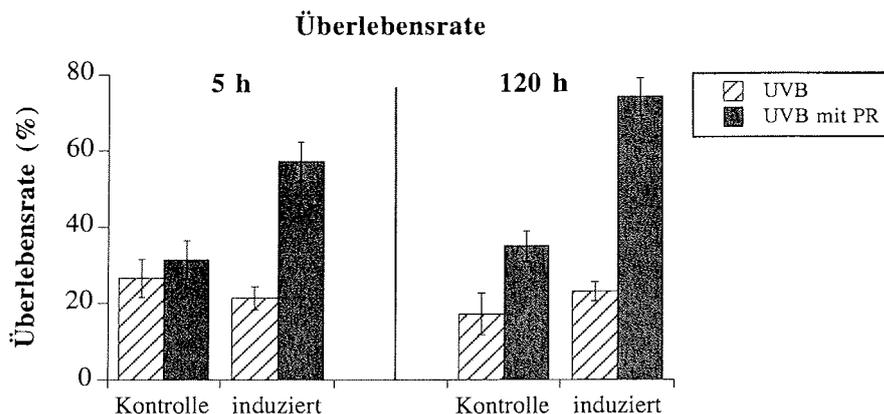


**Abb. 4.28:** Bildung von Cyclo-butyl-Pyrimidindimeren (CPD) in Schwachlicht (LL) und Starklicht (HL) akklimatisierten Kulturen. Die UVB-Bestrahlungsdauer betrug 15 min. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4 Parallelen eines Versuchsansatzes.

#### 4.3.2 Überlebensrate

Um die Schutzwirkung der MAAs auf der zellulären Ebene zu untersuchen, wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata* unterschiedlichen MAA-Gehaltes sowohl direkt nach schädigender UVB- als auch nach photoreaktivierender UVA-Bestrahlung zum weiteren Wachstum in Rotlicht gebracht und die Überlebensrate der Zellen nach 8 Tagen Wachstum ermittelt (s. 4.1.3). Die Induktion der MAAs erfolgte durch Blau/UVA-Bestrahlung. Dabei stieg der MAA-Gehalt gegenüber den unter Gelblicht gehälterten Kontrollkulturen innerhalb von 120 h von 0,05 auf 0,40 pmol pro Zelle an. Diese Zunahme des MAA-Gehaltes hatte jedoch nur eine geringe Auswirkung auf die Überlebensrate (Abb. 4.29).

Eine starke Zunahme der Überlebensrate von bis zu 50% erfolgte erst durch eine auf die UVB-Exposition direkt folgende photoreaktivierende UVA-Bestrahlung. Dabei nahm die Überlebensrate auch nach 5 h induzierenden Vorbestrahlung um mehr als 30% zu (Abb. 4.29).



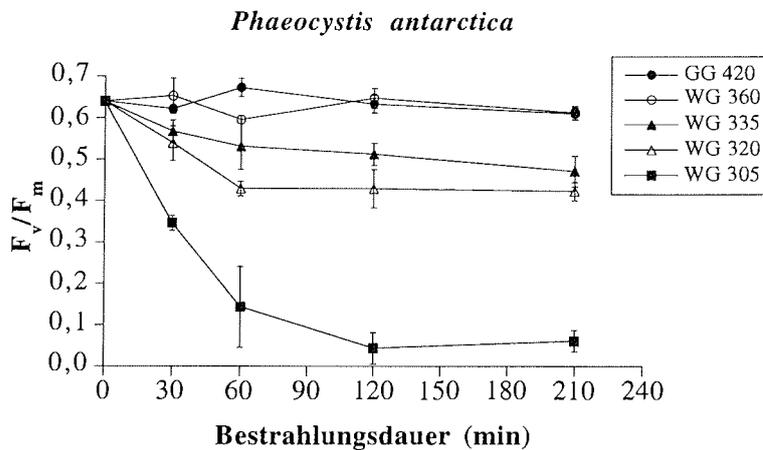
**Abb. 4.29:** Überlebensrate von *P. pseudodenticulata* nach 5 h bzw. 120 h induzierender Blau/UV-Vorbestrahlung und 10 min schädigender UVB-Bestrahlung. Die Photoreaktivierungsdauer betrug 60 min.

### 4.3.3 Photoinhibition

Im folgenden Kapitel wird die Wirkung von UVB- und UVA-Strahlung auf das Photosystem II (PS II) sowie die Schutzwirkung der MAAs vor Photoinhibition bei Diatomeen und *Phaeocystis antarctica* untersucht. Als Maß für die Wirksamkeit des PS II wird die Quantenausbeute verwendet, die sich aus dem Quotienten der variablen Fluoreszenz ( $F_v$ ) und der Maximalfluoreszenz ( $F_m$ ) ergibt (vgl. 3.3.4).

Im ersten experimentellen Ansatz wurde bei Kolonien von *Phaeocystis antarctica* die Abnahme der Quantenausbeute in Abhängigkeit von der Dauer und Wellenlänge der UV-Bestrahlung untersucht. Dazu wurden Kulturen, die zuvor unter PAR eines Photonendflusses von  $150 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert wurden, im UVB/UVA-Feld unter verschiedenen Kantenabsorptionsfiltern bestrahlt (Bestrahlungsspektren und Energieflüsse s. Abb. 3.1 & Tab. 3.2). Mit zunehmender Bestrahlungsdauer sowie mit zunehmendem Anteil kurzweiliger Bestrahlung nahm die Quantenausbeute  $F_v/F_m$  ab (Abb. 4.30). Eine starke und mit der UV-Bestrahlungsdauer zunehmende Abnahme war vor allem in Kulturen zu beobachten, die einer hohen UVB-Strahlung bis zu Wellenlängen von 295 nm (WG 305) ausgesetzt waren. Die Abnahme der Quantenausbeute wird im folgenden als Photoinhibition bezeichnet. Dabei wird nicht unterschieden,

ob es sich um eine chronische Photoinhibition oder eine Photoschädigung handelt.

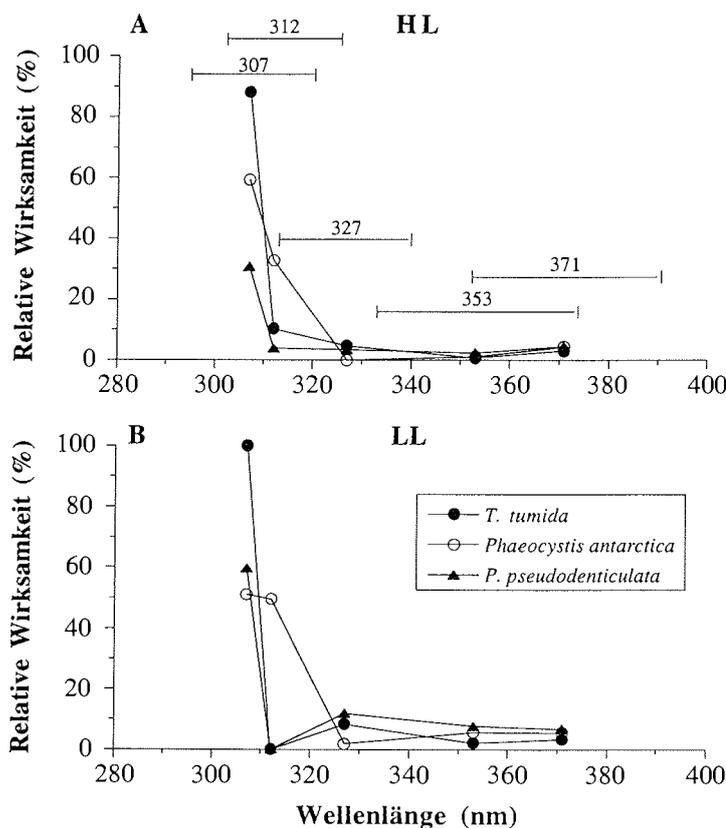


**Abb. 4.30:** Zeit- und wellenlängenabhängige Abnahme der Quantenausbeute  $F_v/F_m$  in Kolonien von *Phaeocystis antarctica*. Die Bestrahlung der Kulturen erfolgte im UVB/UVA-Feld unter den angegebenen Kantenabsorptionsfiltern. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4 Parallelen.

Zur weiteren Untersuchung des für die Photoinhibition verantwortlichen Wellenlängenbereiches sowie einer eventuellen Schutzwirkung der MAAs wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* und Kolonien von *Phaeocystis antarctica* für 3 h im UVA/UVB-Feld unter verschiedenen Kantenabsorptionsfiltern bestrahlt. Die Kulturen waren zuvor für mindestens 3 Wochen entweder an HL ( $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) oder LL ( $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) akklimatisiert. HL-akklimatisierte Kulturen wiesen gegenüber LL-akklimatisierten Kulturen eine 3-5fach höhere MAA-Konzentration auf (nicht dargestellte Ergebnisse).

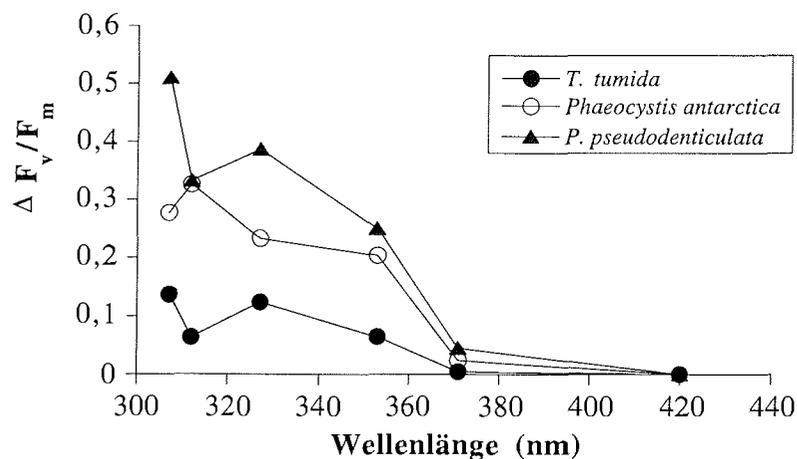
Zur Erstellung von sogenannten "Wirkungskurven" für die Photoinhibition wurden für aufeinanderfolgende Filter die Abnahme von  $F_v/F_m$  (in % der maximalen Abnahme) auf die gleiche Energiedosis normiert und gegen die mittlere Wellenlänge aufgetragen (Abb. 4.31). Als mittlere Wellenlänge wurde dabei der Medianwert des polychromatischen Differenzspektrums verwendet (s. Kap. 3.3.5). Die Balken über den Kurven in Abb. 4.31 repräsentieren die 90%ige Bandbreite des Wellenlängenbereiches, in dem sich die aufgetragene Wirkung bewegen kann. Bei beiden Diatomeenkulturen

sowie bei Kolonien von *Phaeocystis* nahm mit zunehmendem Anteil an kurzwelliger Strahlung die Photoinhibition zu. Kurzwellige UVB-Strahlung (<320 nm) führte bei allen Kulturen zu einer starken Photoinhibition, d.h. hohen Reduktion von  $F_v/F_m$  (Abb. 4.31A & 4.31B). Kulturen, die unter HL akklimatisiert waren, zeigten im UVB- und kurzwelligem UVA-Bereich eine geringere Photoinhibition als LL akklimatisierte Kulturen (Abb. 4.31A & 4.31B).



**Abb. 4.31:** Relative Photoinhibition (Abnahme von  $F_v/F_m$ ) in Abhängigkeit des eingestrahnten Wellenlängenbereiches bei *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* und Kolonien von *Phaeocystis antarctica*. Die Kulturen wurden vor der UV-Bestrahlung an HL (PAR von  $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (A) bzw. an LL (PAR von  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) akklimatisiert (B). Die Balken bezeichnen die Bandbreite der 90%igen Energiedifferenz, die Zahlen den Medianwert, bei denen die Wirksamkeit aufgetragen wurde. Sie gelten auch für B, bei der sie der Übersichtlichkeit halber nicht dargestellt wurden. Dargestellt sind die Mittelwerte aus drei Parallelen.

Zur besseren Darstellung der in Abb. 4.30 ersichtlichen Unterschiede der Photoinhibition unterschiedlich akklimatisierter Kulturen wurden die Differenzen ( $\Delta F_v/F_m$ ) der Quantenausbeute von HL und LL akklimatisierten Kulturen gebildet und diese gegen die Wellenlänge aufgetragen (Abb. 4.32). Bei allen drei Kulturen nahm  $\Delta F_v/F_m$  im kurzwelligen UVA-Bereich (<370 nm) deutlich zu. Das bedeutet, daß in diesem Wellenlängenbereich HL akklimatisierte Kulturen mit höherem MAA-Gehalt eine höhere Fluoreszenzausbeute und somit eine geringere Photoinhibition aufweisen als LL akklimatisierte Kulturen mit geringem MAA-Gehalt. Hohe Unterschiede von  $F_v/F_m$  zwischen HL und LL akklimatisierten Kulturen wurden vor allem im Wellenlängenbereich zwischen 310 und 350 nm gemessen, dem Bereich, in dem die MAAs hauptsächlich absorbieren (vgl. Abb. 16A & 16B). Bei *P. pseudodenticulata*, der größeren der beiden untersuchten Diatomeen (mittlerer Radius 30  $\mu\text{m}$ ) ist diese Differenz um mehr als das Doppelte höher als bei der kleineren *T. tumida* (mittlerer Radius 12  $\mu\text{m}$ ).



**Abb. 4.32:** Differenz von  $F_v/F_m$  ( $\Delta F_v/F_m$ ) von LL und HL akklimatisierten Kulturen in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Versuchsbedingungen siehe Abb. 4.31. Dargestellt sind die Mittelwerte aus drei Parallelen. Der abgeschätzte Maximalfehler beträgt 18%.

#### 4.4 Schädigung und Schutz unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen und erhöhter UVB-Bestrahlung

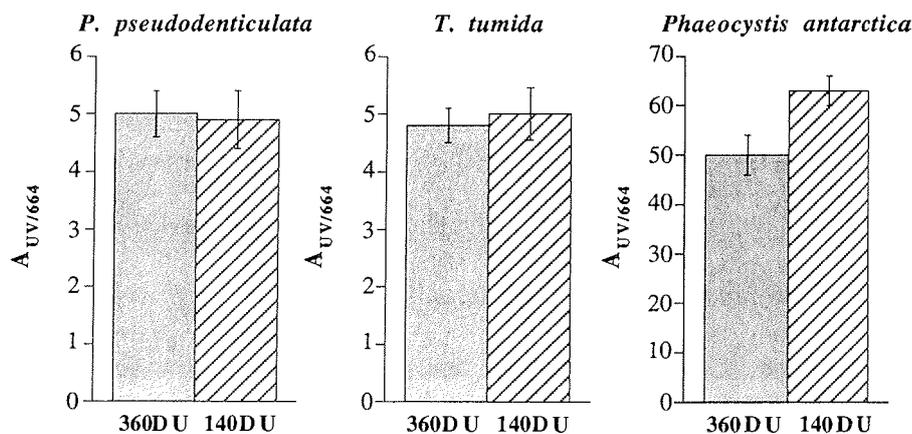
Mit Hilfe des Sonnenscheinsimulators war es möglich, Kulturen bei annähernd gleichbleibender UVA- und photosynthetisch wirksamer Strahlung mit unterschiedlicher UVB-Strahlung zu bestrahlen (vgl. Kap. 3.2.4). In diesem Kapitel werden MAA-Akkumulation, Dimerbildung, Wachstum und Photosyntheserate unter normaler und erhöhter UVB-Strahlung untersucht. Dazu wurden Spektren verwendet, die einem normalen Ozongehalt von 360 Dobson Unit (DU) oder einem reduzierten Ozongehalt von 140 DU entsprechen. Alle verwendeten Bestrahlungsspektren sowie die entsprechenden Energieflüsse sind in Abb. 3.7 und Tab. 3.3 zu finden.

##### 4.4.1 Akkumulation von MAAs

Die Ergebnisse der in Kap. 4.2 untersuchten Wellenlängenabhängigkeit der MAA-Bildung bei Diatomeen und Kolonien von *Phaeocystis antarctica* weisen darauf hin, daß es bei einer Zunahme der natürlichen UVB-Strahlung (<320 nm) bei Diatomeen zu keiner und bei *Phaeocystis* zu einer geringfügigen Erhöhung der MAA-Konzentration kommt. Um dies unter simulierten natürlichen Strahlungsbedingungen zu überprüfen, wurden Kulturen von *T. tumida* und *P. pseudodenticulata* sowie Kolonien von *Phaeocystis antarctica* mit normaler und erhöhter UVB-Strahlung bestrahlt (s. Abb. 3.7A). Dazu wurden Kulturen, die zuvor unter Ausschluß von UV-Strahlung gehältert wurden (PAR-Feld,  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), im Sonnenscheinsimulator für insgesamt 5 Tage bei gleicher Bestrahlungsstärke inklusive UVB-Strahlung (entsprechend 360 DU) bestrahlt. Nach dieser Zeit sollten die Kulturen den maximalen MAA-Gehalt unter diesen Strahlungsbedingungen erreicht haben (vgl. Abb. 4.24). Anschließend wurden die Kulturen für drei weitere Tage unter erhöhter UVB-Strahlung (entsprechend 140 DU) exponiert.

Die Diatomeen *P. pseudodenticulata* und *T. tumida* wiesen nach dem Wechsel von 360 DU nach 140 DU keine signifikante Erhöhung des MAA-Gehaltes auf (gemessen als  $A_{UV/664}$ ) (Abb. 4.33). Bei Kolonien von *Phaeocystis antarctica* nahm dagegen der MAA-Gehalt um ca. 20% zu (Abb. 4.33). Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist allerdings zu be-

achten, daß es aufgrund der Filtercharakteristika bei zunehmender UVB-Einstrahlung auch zu einer Zunahme der Strahlung mit Wellenlängen  $>580$  nm kommt (vgl. Abb. 3.7). So stieg die Bestrahlungsstärke im PAR-Bereich bei einem Wechsel von 360 DU auf 140 DU um ca. 30% auf insgesamt  $130 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an (Tab. 3.3). Da allerdings Strahlung im Wellenlängenbereich  $>580$  nm keine Auswirkung auf die MAA-Bildung hat (vgl. Abb. 4.24 & Abb. 4.25), hat die Strahlungserhöhung im vorliegenden Versuch vermutlich keine Bedeutung auf die MAA-Bildung.



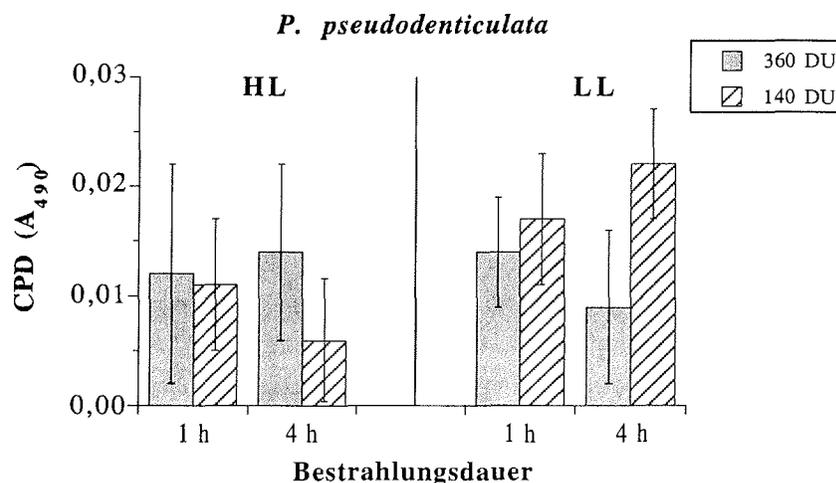
**Abb. 4.33:** MAA-Gehalt ( $A_{UV/664}$ ) bei Kulturen von *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* sowie Kolonien von *Phaeocystis antarctica* nach fünf Tagen Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator bei 360 DU und drei weiteren Tagen bei 140 DU. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4 Parallelen.

#### 4.4.2 Dimerbildung

Im folgenden Experiment wurde die Bildung von Cyclobutyl-Pyrimidindimere (CPD) bei der Diatomee *P. pseudodenticulata* unter normaler und erhöhter UVB-Strahlung untersucht. Zur Quantifizierung der Dimere wurde die empfindlichere ELISA-Methode verwendet (s. Kap. 3.3.6). Die Kulturen wurden vor der UV-Bestrahlung unter PAR eines Photonenflusses von  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (LL) oder  $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (HL) gehältert. HL akklimatisierte Kulturen wiesen gegenüber LL akklimatisierten Kulturen einen 5-fach höheren MAA-Gehalt auf. Um einen möglichst ho-

hen UVB-Fluß zu erreichen, erfolgte die Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator bei ungefähr  $1000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Bestrahlungsspektren und -stärken s. Abb. 3.7 & Tab. 3.3). Selbst bei dem daraus resultierenden hohen UVB-Energiefluß von  $1,1 \text{ W m}^{-2}$  kam es nur zu einer geringen Dimerbildung, die eng an der Nachweisgrenze der verwendeten Methode liegt (Abb. 4.34).

Die an LL akklimatisierten Kulturen zeigten bei höherer UVB-Bestrahlung (140 DU) tendenziell eine höhere Dimerbildung als HL akklimatisierte Kulturen. Deutlich wird dieser Unterschied vor allem bei den für 4 h bestrahlten Kulturen (Abb. 4.34). Eindeutige Aussagen können jedoch aufgrund des hohen Fehlers nicht gemacht werden. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist zu beachten, daß unter natürlichen Strahlungsbedingungen, bei denen Dimerbildung und Photoreaktivierung gleichzeitig ablaufen, die Schutzwirkung durch höhere MAA-Bildung nicht von der Wirkung durch Induktion der Photoreaktivierung (vgl. Kap. 4.1) zu trennen ist.



**Abb. 4.34:** Dimerbildung bei Kulturen von *P. pseudodenticulata* nach einer Bestrahlung von ein oder 4 h im Sonnenscheinsimulator bei 360 DU oder 140 DU. (Bestrahlungsbedingungen vgl. 3.3). Die Kulturen wurden vor der Bestrahlung für mehrere Tage bei  $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (HL) oder  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (LL) gehältert. Dargestellt sind die Mittelwerte aus drei Parallelen.

#### 4.4.3 Wachstum

Wie in Kap. 4.2 dargestellt wurde, führt hohe UVB-Bestrahlung zu einem Verlust der Zellteilungs- und Überlebensfähigkeit der Zellen. Im folgenden Versuchsansatz wurde das Wachstum von Diatomeen unter normaler (360 DU) und erhöhter (140 DU) UVB-Strahlung im Sonnenscheinsimulator untersucht. Dazu wurden Kulturen von *P. pseudodenticulata* und *T. antarctica*, die zuvor unter Ausschluß von UVB-Strahlung bei einem mittleren Photonenfluß von  $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gehältert wurden, für insgesamt 5 Tage im Sonnenscheinsimulator bei normaler UVB-Strahlung (360 DU) sowie erhöhter UVB-Strahlung (140 DU) exponiert (Bestrahlung s. Abb. 3.7 & Tab. 3.3) (Abb. 4.35).

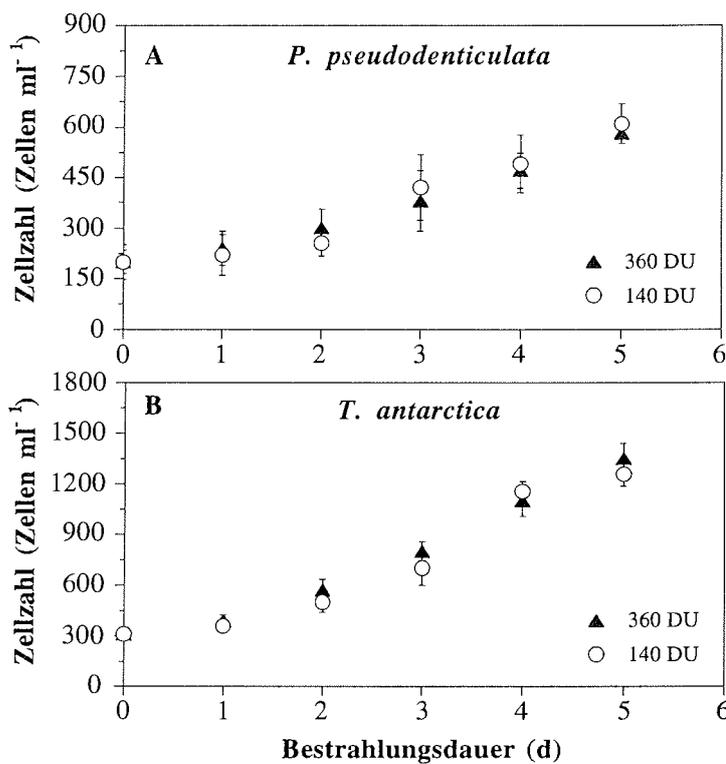


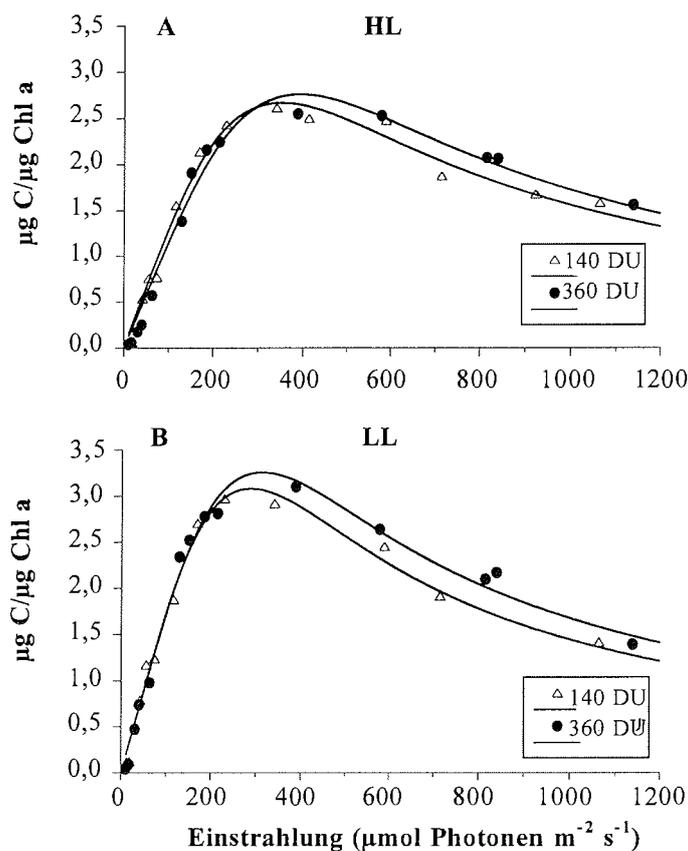
Abb. 4.35: Zellzahl von *P. pseudodenticulata* (A) und *T. antarctica* (B) während einer Bestrahlung von insgesamt 5 Tagen bei 360 DU oder 140 DU.

Während der gesamten Bestrahlungsdauer von insgesamt 5 Tagen konnten weder bei *P. pseudodenticulata* noch *T. antarctica* signifikante Unterschiede in der Zellzahl festgestellt werden (Abb. 4.35). Es ist jedoch zu beachten, daß auch bei diesem Versuchsansatz die PAR-Bestrahlungsstärke bei 140 DU um etwa 30% höher lag ( $130 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) als bei einer UVB-Bestrahlung von 360 DU ( $100 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). In keiner der Versuchsansätze wurden morphologisch veränderte Zellen oder leere Schalen beobachtet.

#### 4.4.4 Photosyntheserate

Im folgenden Experiment wurde untersucht, inwieweit es bei unterschiedlich akklimatisierten Kulturen bei normaler und erhöhter UVB-Strahlung zu einer Beeinflussung der Photosyntheserate kommt. Dazu wurden Kulturen von *T. antarctica*, die zuvor unter Ausschluß von UVB-Strahlung an 50 (LL) oder  $150 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (HL) akklimatisiert waren (PAR-Feld), im Sonnenscheinsimulator bei verschiedenen Bestrahlungsstärken unter normaler (360 DU) und erhöhter UVB-Strahlung (140 DU) exponiert.

Bei geringen Bestrahlungsstärken bis zu  $200 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  führte eine höhere UVB-Bestrahlung zu keiner wesentlichen Änderung der Photosyntheserate ( $\text{CO}_2$ -Fixierung, bezogen auf *Chl a*) (Abb. 4.36A & 4.36B). Dies zeigt sich auch daran, daß der lineare Anfangsanstieg ( $\alpha$ ) der Photosynthese-Strahlungskurve (PI-Kurve) nicht oder nur geringfügig durch die erhöhte UVB-Strahlung beeinflusst wird (Tab. 4.4). Dagegen führte eine UVB-Erhöhung bei höheren Bestrahlungsstärken von  $>200 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zu geringeren Photosyntheseraten. Diese Abnahme war bei HL akklimatisierten Kulturen größer als bei LL akklimatisierten Kulturen (Abb. 4.36). Eine deutliche Wirkung hatte die UVB-Zunahme auch auf die maximale Photosyntheserate ( $P_{\text{max}}$ ). Sie nahm bei LL akklimatisierten Kulturen um 5,5%, bei HL akklimatisierten Kulturen um 3,6% ab (Tab. 4.4).



**Abb. 4.36:** Photosynthese-Strahlungskurven (PI-Kurven) von *T. antarctica* bei Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator. Die Kulturen wurden im PAR-Feld bei  $150 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (HL) (A) oder  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (LL) (B) gehältert, bevor sie für eine Stunde im Sonnenscheinsimulator bei normaler (360 DU) oder erhöhter UVB-Strahlung (140 DU) bestrahlt wurden.

**Tab. 4.4:** Verschiedene Parameter der PI-Kurven aus Abb. 4.36:  $\alpha$ : linearer Anfangsanstieg der PI-Kurven,  $P_{\text{max}}$  = maximale Photosyntheserate,  $E_{\text{m}}$  = Ansatzpunkt der Photoinhibition,  $E_{\text{k}}$  = Ansatzpunkt der Lichtsättigung (Schnittpunkt von  $\alpha$  und  $P_{\text{max}}$ ). Zur Berechnung der verschiedenen Parameter wurde die Modellgleichung von Eilers & Peeters 1988 verwendet (s. Kap. 3.3.4).

|                  | $P_{\text{max}}$ | $\alpha$ | $E_{\text{m}}$ | $E_{\text{k}}$ |
|------------------|------------------|----------|----------------|----------------|
| <b>HL 360 DU</b> | 2,76             | 0,011    | 393,3          | 252,7          |
| <b>HL 140 DU</b> | 2,66             | 0,012    | 352,0          | 210,2          |
| <b>LL 360 DU</b> | 3,26             | 0,017    | 312,8          | 195,7          |
| <b>LL 140 DU</b> | 3,08             | 0,017    | 287,9          | 185,3          |

## 5 DISKUSSION

Zur Beantwortung der Frage, inwieweit Phytoplanktonorganismen durch eine (natürliche oder ozonreduktionsbedingte) Veränderung der UV-Strahlung geschädigt werden, ist es wichtig, die Wirksamkeit und Kapazität sowie Anpassungsfähigkeit der verschiedenen Schutz- und Reparaturmechanismen gegen diese Schädigungen zu kennen. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Untersuchung von Photoreaktivierung und Mykospurin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) bei verschiedenen antarktischen Diatomeen und der Prymnesiophyte *Phaeocystis antarctica*. Während es sich bei der Photoreaktivierung um eine direkte Reparatur der durch UVB-Strahlung entstandenen Dimeren in der DNA handelt, wird den MAAs aufgrund ihrer Absorption im UV-Wellenlängenbereich eine schützende Funktion zugeschrieben. Im folgenden werden die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen in Bezug auf die natürliche Strahlungssituation und eine UVB-Erhöhung durch eine Ozonreduktion diskutiert und bewertet.

### 5.1 DNA-Schädigung und Photoreaktivierung

In einem wesentlichen Teil der vorliegenden Arbeit wurde die Bildung und Reparatur von Cyclobutyl-Pyrimidindimeren (CPD) in der Desoxyribonukleinsäure (DNA) bei antarktischen Diatomeen sowie *Phaeocystis antarctica* untersucht. Während für die Bildung dieser Dimere hauptsächlich kurzwellige UVB-Strahlung (<320 nm) verantwortlich ist, wird für ihre Reparatur durch Photoreaktivierung energieärmere UVA/Blau-Strahlung im Wellenlängenbereich zwischen 360 und 460 nm benötigt (Kiefer 1987, Sancar & Sancar 1988, Quate et al. 1992). Unter natürlichen Strahlungsbedingungen, bei denen beide Strahlungsbereiche vorhanden sind, werden die durch UVB verursachten Schäden durch Photoreaktivierung sofort wieder repariert, so daß es vermutlich zu keiner oder nur einer geringen Dimerkonzentration in den Zellen kommt. Über eine Zunahme der Dimerkonzentration bei einer natürlichen oder ozonreduktionsbedingten Erhöhung der UVB-Strahlung können bisher keine Aussagen gemacht werden. Ein wesentliches Problem liegt dabei darin, den unter natürlichen Strah-

lungsbedingungen vermutlich nur relativ geringen Anteil an Dimeren im Gesamtgenom von insgesamt  $10^8$ - $10^9$  Nucleotidbasen pro Zelle zu bestimmen. So liegen die bei antarktischem Zooplankton (Malloy et al. 1997) und Bakterien (Jeffrey et al. 1996) unter natürlichen Strahlungsbedingungen gemessenen Dimerkonzentrationen nahe an der Nachweisgrenze der verwendeten Bestimmungsmethode. Auch in den vorliegenden Untersuchungen konnte mit den verwendeten Antikörpertests (RIA und ELISA; Kap. 3.3.6) keine signifikante Dimerkonzentration unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen gemessen werden (Kap. 4.4). In der vorliegenden Arbeit wurde daher der Ansatz verfolgt, Dimerschädigung und Photoreaktivierung getrennt zu untersuchen. Dazu war es notwendig die beiden Prozesse, die in der Natur parallel ablaufen, zu entkoppeln. Dies war möglich durch die Verwendung von verschiedenen Lichtfeldern, mit denen die Kulturen zuerst mit schädigender UVB-Strahlung und anschließend mit photoreaktivierend wirksamer UVA/Blau-Strahlung bestrahlt wurden. Im Vordergrund der Untersuchungen stand die Abhängigkeit beider Mechanismen von Stärke, Dosis und Bestrahlungsdauer sowie die Anpassungsfähigkeit der Photoreaktivierung an höhere UV-Strahlung.

#### *Dimerbildung durch UVB-Strahlung*

Aus früheren Arbeiten mit verschiedenen Diatomeenkulturen ist bekannt, daß bei künstlicher UVB-Bestrahlung mit zunehmender Strahlungsdosis die Dimerkonzentration in den Zellen zu- und die Überlebensrate der Zellen abnimmt (Karentz et al. 1991a, Buma et al. 1995). Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen dies auch für die Diatomee *P. pseudodenticulata* und zeigen, daß es bei Strahlungsdosen bis zu  $6 \text{ kJ m}^{-2}$  zu einer annähernd linearen Zunahme der Dimerbildung und zu einer überlinearen Abnahme der Überlebensrate mit zunehmender UVB-Dosis kommt (Abb. 4.8 & Abb. 4.9). Im untersuchten Bereich von 0 bis 20 min bzw. 0 bis  $5 \text{ W m}^{-2}$  (das entspricht in etwa dem 3 bis 50fachen der natürlichen UVB-Bestrahlungsstärke (vgl. Tab. 3.2 & Tab. 3.3) besteht sowohl auf molekularer als auch auf zellulärer Ebene eine Reziprozität zwischen Bestrahlungsdauer und Bestrahlungsfluß (Abb. 4.9). Dies bedeutet, daß eine kurze Bestrahlungsdauer mit hoher Bestrahlungsstärke zur gleichen Dimerbildung und Abnahme der Überlebensrate führt wie eine lange Bestrahlungsdauer mit geringer Bestrahlungsstärke. Maßgeblich ist somit allein die Anzahl der auf

die Organismen eingestrahnten UVB-Quanten, d.h. die Schädigung ist proportional zur eingestrahnten Quantenzahl.

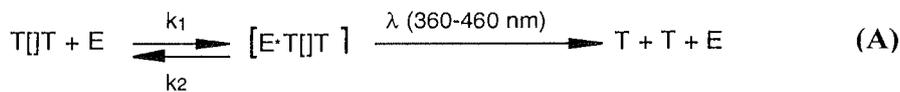
Die lineare Dosisabhängigkeit der Dimerbildung und die Reziprozität zwischen Bestrahlungsdauer und Bestrahlungsstärke ist übereinstimmend mit dem photochemischen Modell dieses Prozesses: Bei der Bildung von Dimeren aus zwei benachbarten Pyrimidinen handelt es sich um einen reversiblen Prozeß, dessen Gleichgewichtskonstante von der spektralen Verteilung der Strahlung abhängt (s. Abb. 1.4). Dabei erfolgt die Dimerbildung in höchster Ausbeute im Absorptionsmaximum der Pyrimidinbasen bei 260 nm (Kiefer 1989, Heelis et al. 1993), während die Rückreaktion durch Einstrahlung von kurzwelliger UVC-Strahlung im Absorptionsmaximum der Dimere bei 240 nm bewirkt wird (Deering & Setlow 1963). Im UVB-Bereich oberhalb 290 nm, den Wellenlängen, die einerseits noch auf die Erdoberfläche auftreffen und andererseits noch wirksam für eine Dimerisierung sind (Matsunaga et al. 1991, Quaite et al. 1992, Buma et al. 1997), ist das Gleichgewicht somit zur Bildung hin verschoben.

In der vorliegenden Arbeit wurden im Labor und unter Ausschluß der Photoreaktivierung bei UVB-Bestrahlungsstärken bis zu  $5 \text{ W m}^{-2}$  bzw. einer UVB-Dosis von  $6 \text{ kJ m}^{-2}$  nicht alle relevanten Stellen in der DNA dimertisiert (Abb. 4.8 & 4.9). Daher ist anzunehmen, daß dies erst recht nicht unter den für das Südpolarmeer typischen natürlichen UVB-Bestrahlungsstärken von maximal  $0,8 \text{ W m}^{-2}$  bzw. einer über den Tag integrierten maximalen Gesamteinstrahlung von  $25 \text{ kJ m}^{-2}$  (Booth et al. 1994) und gleichzeitig ablaufender Photoreparatur der Fall ist. Vermutlich kann somit auch unter natürlichen Bestrahlungsbedingungen von einer annähernd linearen Dosisabhängigkeit der Dimerbildung und einem reziproken Verhalten von Bestrahlungsdauer und -stärke ausgegangen werden.

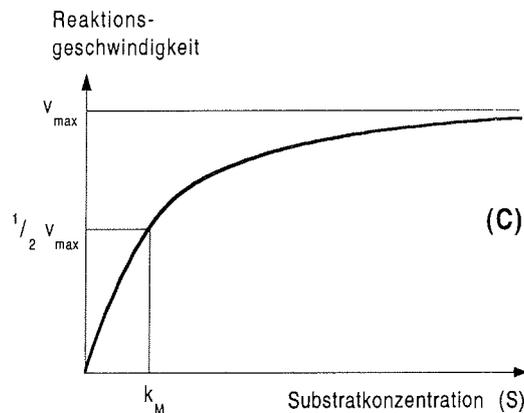
Eine lineare Dosisabhängigkeit der Dimerbildung würde bedeuten, daß jede Zunahme der UVB-Strahlung (sei es durch eine natürliche Strahlungserhöhung oder eine UVB-Erhöhung aufgrund der Ozonreduktion) auch zu einer höheren Dimerbildung in den Zellen führt, die durch einen erhöhten Photoreaktivierungsprozeß wieder abgebaut werden müßte. So würde eine Erhöhung des UVB-Anteils um mehr als das zweifache, so wie sie bei der über der Antarktis stattfindenden Ozonreduktion im Frühling zu erwarten ist (Booth et al. 1994), nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchungen zu einer annähernd doppelt so hohen Dimerbildung führen (Abb. 4.9).

*Reparatur durch Photoreaktivierung*

Die Reparatur der Dimere durch Photoreaktivierung ist im Gegensatz zu ihrer photochemischen Bildung ein enzymatischer Prozeß (Abb. 5.1). In Abb. 5.1A sind die beiden wesentlichen Teilreaktionen schematisch dargestellt:



$$v = k_3 [E_t] \frac{[S]}{[S] + k_M} \quad (\text{B})$$



**Abb. 5.1:** Reaktionsschema der Photoreaktivierung (A) dargestellt an einem Thymin-dimer (T[T] (T = Thymin; E = Photolyase;  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$  = Reaktionskonstanten) und allgemeine Michaelis-Menten-Gleichung für Enzymreaktionen (B) und die Substrat-Sättigungskurve bei konstanter Enzymkonzentration (C). ( $[E_t]$  = Gesamtenzymkonzentration,  $[S]$  = Substratkonzentration,  $v$  = Reaktionsgeschwindigkeit,  $v_{\max}$  = maximale Reaktionsgeschwindigkeit,  $k_M$  = Michaeliskonstante).

Die Bindung des photoreaktivierenden Enzyms (Photolyase) an sein Substrat (Dimer) erfolgt in einem ersten, lichtunabhängigen Schritt. In einem zweiten Schritt absorbiert das Enzym über seine beiden Chromophore Strahlung im Wellenlängenbereich der UVA/Blau-Strahlung ( $\lambda_{\max} = 360-460 \text{ nm}$ ) und spaltet mit Hilfe dieser Energie die Dimere auf (Sancar & Sancar 1988). Diese Reaktionen können durch die allgemein für Enzymreaktionen geltende Michaelis-Menten-Gleichung beschrieben werden (Rupert 1962a; Abb. 5.1B), mit der wichtigen Einschränkung, daß der zweite Schritt, die Dimerspaltung, nur stattfindet, wenn UVA/Blau-Strahlung vorhanden ist. Über die Effektivität der Photoreaktivierung und

ihre Abhängigkeit von der Dimer- und Enzymkonzentration sowie der Verfügbarkeit der für die Spaltung des Komplexes notwendigen UVA/Blau-Photonen liegen bisher bei Phytoplankton keine und allgemein bei Pflanzen nur wenige Untersuchungen vor (Kap. 1.3.2). Auch über die Reaktionskonstanten und die Michaliskonstante  $k_M$  (letzere gibt die Affinität des Enzyms zum Substrat an) gibt es bisher keine Untersuchungen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit der Diatomee *P. pseudodenticulata* weisen darauf hin, daß die Photoreaktivierung bei den untersuchten UVA-Bestrahlungsstärken von 0 bis  $3 \text{ W m}^{-2}$ , das ist der Strahlungsbereich, der auch unter natürlichen Bedingungen relevant ist (Roy et al. 1994), keine eindeutige Dosisabhängigkeit besitzt (Abb. 4.11). So ist oberhalb von  $0,3 \text{ W m}^{-2}$  sowohl die Dimerspaltung als auch die Erholung der Zellen alleine von der Dauer der photoreaktivierenden UVA-Bestrahlung abhängig und nicht von der Bestrahlungsstärke (Abb. 4.10A & Abb. 4.10B). Das bedeutet, daß schon bei relativ geringen UVA-Bestrahlungsstärken von  $\sim 0,3 \text{ W m}^{-2}$  eine Sättigung eintritt, d.h. alle Enzymkomplexe photochemisch aktiviert sind. Da die beiden Chromophore der Photolyase über ein relativ breites Absorptionsmaximum zwischen 360 und 460 nm verfügen und die Energieübertragung vom zweiten Chromophor, der als Lichtsammler dient, auf den Hauptchromophor mit 60-100% sehr effizient ist (Sancar 1994b), kann wahrscheinlich ein großer Teil der auf die Algen auftreffenden UVA/Blau-Strahlung für die Dimerspaltung genutzt werden. Daher ist es plausibel, daß schon bei relativ geringen Bestrahlungsstärken eine Sättigung auftritt.

Übertragen auf die natürliche Strahlungssituation bedeuten diese Ergebnisse, daß die Verfügbarkeit von UVA-Strahlung erst unterhalb von  $0,3 \text{ W m}^{-2}$ , dies entspricht einer PAR-Einstrahlung von 10 bis  $15 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , limitierend für die Dimerspaltung ist. Da bei solch geringen Bestrahlungsstärken jedoch nur wenige Dimere gebildet werden können, kommt es vermutlich nicht zu einer Akkumulation der Dimere in der DNA. Werden die Phytoplanktonorganismen jedoch bei einer Ozonreduktion einer höheren UVB-Strahlung ausgesetzt, so könnte dies dazu führen, daß selbst bei einer zu dieser Jahreszeit nur geringen Gesamteinstrahlung (s. Kap. 1.2) die Leistungsfähigkeit der Photoreaktivierung nicht ausreicht, um die höhere Dimerbildung (s. oben) zu kompensieren und es dadurch zu einer Akkumulation der Dimere in der DNA

kommt.

Werden im offenen Ozean die Phytoplanktonorganismen an der Wasseroberfläche einer starken Solarstrahlung ausgesetzt und schnell in tiefere Wasserschichten mit geringen Bestrahlungsstärken unterhalb des Sättigungswertes transportiert, könnte dies ebenfalls zu einer Akkumulation der Dimere führen. Zu einer solchen Situation mit einer starken und tiefen Durchmischung der Wassersäule kommt es im Südlichen Ozean vor allem im Herbst (El-Sayed & Fryxell 1993). Dabei beträgt die Einstrahlung an der Wasseroberfläche bis zu  $1000 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , während in tieferen Wasserschichten Bestrahlungsstärken  $<15 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gemessen werden (vgl. Kap. 1.2). Sind die Organismen nicht in der Lage, rechtzeitig die in der oberen Wasserschicht gebildeten Dimere wieder zu spalten, so kann ein Transport der Organismen in eine hohe Tiefe dazu führen, daß aufgrund der abnehmenden Photoreaktivierungsleistung irreparable Schäden auftreten, da schon acht Stunden nach einer schädigenden UVB-Bestrahlung die Zellen nicht mehr in der Lage sind, Dimere zu reparieren (Abb. 4.1).

#### *Induktion der Photoreaktivierung*

In einigen der bisherigen Untersuchungen wurde die Vermutung aufgestellt, daß die Photoreaktivierung durch PAR oder kurzwellige UVB-Strahlung induziert wird (Smith et al. 1992, Buma et al. 1995). Hinweise darauf geben Untersuchungen an Hefe (Fukui & Laskowski 1984), Goldfischzellkulturen (Yasuhira & Yasui 1992) und höheren Pflanzen (Langer & Wellmann 1990, Pang & Hays 1991), bei denen eine Vorbestrahlung mit Weißlicht zu einer Zunahme der Photolyaseaktivität führte (vgl. Kap. 1.3.2). Ein zentrales Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist, daß sowohl bei Diatomeen als auch bei *Phaeocystis antarctica* die Photoreaktivierung von der spektralen Zusammensetzung des Strahlungsfeldes, in dem die Kulturen vor der schädigenden UVB-Bestrahlung exponiert worden waren, abhängt. Bei Kulturen, die unter Ausschluß von Blaustrahlung, d.h. bei Wellenlängen  $>460 \text{ nm}$  gehältert wurden, war unter photoreaktivierender Bestrahlung sowohl die Dimerreparatur als auch die Erholung der Zellen nur gering. Bei zusätzlicher Vorbestrahlung der Kulturen mit Blau oder Blau/UVA stieg dagegen die Reparaturrate sowohl der Thymindimere (gemessen im RIA) als auch der Gesamtdimere (gemessen im ELISA) bis

auf 90% an und die Überlebensrate der Zellen nahm um bis zu 35% zu (Abb. 4.12, Abb. 4.13, Abb. 4.27 & Abb. 4.29). Da es sich dabei nicht um die eigentliche Aktivierung des Enzym-Substratkomplexes handeln kann (die Bestrahlung erfolgte vor der Dimerbildung) ist zu vermuten, daß durch Blau/UVA-Strahlung die Enzymkonzentration erhöht wird. Ob es sich bei diesem sogenannten Blaulichteffekt nur um eine Aktivierung des Enzyms selbst oder tatsächlich um eine Neubildung desselben handelt und das Enzym auf Transkriptions- oder Translationsebene reguliert wird, ist nach heutigem Wissensstand noch unklar. Auch in anderen Untersuchungen, bei denen eine Lichtinduktion der Photolyase vermutet wird (Fukui & Laskowski 1984, Yasuhira & Yasui 1992), wurde diese Frage nicht endgültig geklärt.

Aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß unter natürlichen Strahlungsbedingungen ein fein reguliertes Gleichgewicht zwischen Dimerbildung und Dimerabbau besteht, welches sowohl von der schädigenden UVB- als auch von der reparierenden wie induzierenden Blau/UVA-Strahlung abhängt. Da bei höheren Pflanzen bei der Photolyaseinduktion die maximale Konzentration schon innerhalb weniger Minuten erreicht ist (Langer & Wellmann 1990, Buchholz et al. 1995), ist zu vermuten, daß auch Phytoplanktonorganismen sich schnell an eine Strahlungsänderung anpassen können. Eine solche Anpassung spielt nicht nur eine wichtige Rolle bei der im Frühling oder Sommer zunehmenden Einstrahlung (vgl. Kap. 1.2), sondern auch bei den im vorigen Abschnitt beschriebenen Mischungsvorgängen im offenen Ozean. Der Induktionsbereich der Photoreaktivierung überlappt dabei mit dem Wellenlängenbereich, der sowohl in die freie Wassersäule als auch in das Eis am tiefsten eindringt (vgl. Abb. 1.3). Organismen, die aus tieferen Wasserschichten in höhere lichtdurchflutete Schichten transportiert werden, haben dadurch die Möglichkeit, sich schon früh und innerhalb kurzer Zeit durch die Produktion bzw. Aktivierung von Photolyaseenzymen an eine hohe UVB-Strahlung anzupassen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen weisen außerdem darauf hin, daß auch UVB-Strahlung eine induzierende Wirkung auf die Photolyasebildung oder -aktivierung hat. So wurde bei Kulturen, die 20 min schädigend mit UVB vorbestrahlt wurden, eine mehr als 60% höhere Reparaturrate gemessen als bei Kulturen, die nur für 10 min bestrahlt wurden (Abb. 4.15). Daß dies nicht auf eine höhere Dimerkonzentration, sondern auf eine höhere Enzymkonzentration zurückzuführen ist, kann aus der

oben dargestellten Michaelis-Menten-Gleichung (Abb. 5.1B) gefolgert werden. In den vorliegenden Untersuchungen war während der photoreaktivierenden UVA-Bestrahlung die Geschwindigkeit der Dimerreparatur annähernd konstant, d.h. sie hing nicht von der Substratkonzentration ab (Abb. 4.15). Unter dieser Annahme läßt sich eine Geschwindigkeitszunahme nur durch eine höhere Enzymkonzentration erklären. Diese Hypothese wird durch die Beobachtung unterstützt, daß bei *P. pseudodenticulata* durch eine Vorbestrahlung mit zusätzlichem UVB-Anteil von  $0,5 \text{ W m}^{-2}$  die Gesamtdimerkonzentration weiter abnahm (Abb. 4.13) und die Überlebensrate um mehr als 13% zunahm (Abb. 4.14). Bei einer hohen UVB-Bestrahlung von  $1,1 \text{ W m}^{-2}$  stieg dagegen die Dimerkonzentration wieder an und die Überlebensrate nahm wieder ab (Abb. 4.13 & 4.14). Daher ist zu vermuten, daß schon während der UVB-Vorbestrahlung Dimere akkumulierten und damit eine mögliche Induktion der Photoreaktivierung durch diesen Strahlungsbereich überdeckten. Tatsächlich weisen stärker UVB-bestrahlte Kulturen trotz Zunahme der Reparaturrate eine höhere Dimerkonzentration auf als schwächer bestrahlte Kulturen (Abb. 4.15). Offensichtlich reichte die Zunahme der Photoreaktivierungsrate nicht aus, um die höhere Dimerbildung zu kompensieren.

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß es bei einer Ozonreduktion, bei der nur der UVB-Anteil, nicht aber der UVA- und der sichtbare Anteil der Strahlung zunimmt (vgl. Abb. 1.2), zu einer Verschiebung der Balance zwischen Dimerbildung und Reparatur und somit zu einer Zunahme der Dimerkonzentration in den Zellen kommen kann. Auch die Ergebnisse unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen weisen darauf hin, daß es bei einer Zunahme der UVB-Bestrahlungsstärke - entsprechend einer Ozonreduktion von 360 DU auf 140 DU - zu einer höheren Dimerkonzentration in den Zellen kommt (Abb. 4.34). Kulturen, die zuvor unter PAR von  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  gehältert wurden, weisen nach einer vierstündigen Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator (140 DU) eine - wenn auch aufgrund des hohen Fehlers nicht signifikant - höhere Dimerkonzentration auf als nach Bestrahlung unter 360 DU. Interessanterweise weisen Kulturen, die zuvor unter Starklicht von  $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  gehältert wurden, bei der gleichen UVB-Erhöhung keine Zunahme der Dimerkonzentration auf. Hier könnte, wie im letzten Abschnitt diskutiert, eine Zunahme der Enzymkonzentration ausgereicht haben, um die Zunahme der Dimerbildung in den Zellen zu kompensieren. Wichtig für die Betrachtung

der Wirkung der UVB-Erhöhung durch Ozonreduktion ist also auch der Akklimatisierungszustand, in dem sich die Zellen vor der Bestrahlung befinden. Hierzu sind in Zukunft noch weitere Untersuchungen sowohl unter konstanten und somit reproduzierbaren Versuchsbedingungen im Labor als auch besonders unter natürlichen Strahlungsbedingungen notwendig.

*Inter- und intraspezifische Art-Unterschiede der Dimerbildung und Photoreaktivierung*

Bisherige Untersuchungen über UVB-Schädigungen bei Phytoplankton deuten auf inter- und intraspezifische Unterschiede in der UV-Empfindlichkeit sowie der Wirksamkeit von Schutzmechanismen hin (Karentz 1991a, Smith et al. 1992, Davidson et al. 1994, Karentz & Spero 1995, Davidson et al. 1996). So wurde unter künstlicher UVB-Bestrahlung bei kleinen Diatomeen im Vergleich zu großen Diatomeen eine höhere Dimerbildung sowie eine geringere Überlebensrate gemessen (Karentz et al. 1991a). Die Autoren begründeten dies hauptsächlich mit dem höheren Verhältnis von Oberfläche zu Volumen der kleinen Diatomeen. Auch bei benthischen Diatomeen unterscheiden sich die Überlebensraten nach künstlicher UVB-Bestrahlung um mehr als den Faktor 10 (Peletier et al. 1996). Allerdings zeigte sich hier keine Korrelation zwischen Zellgröße und Ausmaß der Schädigung. Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können eine von der Zellgröße abhängige Dimerbildung sowie eine unterschiedliche Dimerreparatur bei Diatomeen nicht bestätigen, da keine signifikanten Unterschiede gemessen wurden (Tab. 5.1). Allerdings weisen *Phaeocystis*-Kolonien im Vergleich zu Diatomeen eine fast doppelt so hohe Dimerbildung aber auch doppelt so hohe Dimerreparatur auf (Tab. 5.1). Da diese Arbeit die bisher einzige Untersuchung über die Bildung sowie Photoreaktivierung von Dimeren bei *Phaeocystis* ist, können dazu keine Vergleiche aus der Literatur herangezogen werden.

**Tab. 5.1:** Bildung und Reparatur von Thymindimeren (gemessen im RIA) und Gesamt-CPD (gemessen im ELISA) bei antarktischen Diatomeen und *Phaeocystis antarctica*. Dargestellt sind die Mittelwerte und ihre Standardabweichungen aus 4-6 Parallelen.

| Organismen                    | Radius<br>( $\mu\text{m}$ ) | Thymindimere<br>(* $10^6$ pro Zelle) |               | Gesamt-Dimere<br>$A_{490}$ pro $\mu\text{g}$ DNA |                 |
|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------|--|-----------------|
|                               |                             | Bildung                              | Reparatur     | Bildung  | Reparatur       |
| <i>P. pseudodenticulata</i>   | 21,5                        | 12,2 $\pm$ 0,3                       | 7,7 $\pm$ 0,3 | 0,28 $\pm$ 0,05                                  | 0,20 $\pm$ 0,04 |
| <i>T. antarctica</i>          | 12,3                        | 13,1 $\pm$ 0,5                       | 8,1 $\pm$ 0,4 | 0,31 $\pm$ 0,06                                  | 0,30 $\pm$ 0,05 |
| <i>T. tumida</i>              | 12,7                        | 15,0 $\pm$ 0,6                       | 7,3 $\pm$ 0,5 | ---  | ---             |
| <i>Phaeocystis antarctica</i> | 3,5                         | ---                                  | ---           | 0,45 $\pm$ 0,05                                  | 0,41 $\pm$ 0,08 |

Ein direkter Vergleich von Dimerbildung und Dimerreparatur sowie eine daraus abgeleitete schädigende Wirkung für den Gesamtorganismus ist jedoch aus verschiedenen Gründen schwierig: So kann der DNA-Gehalt eines Organismus sowie auch zwischen verschiedenen Arten stark schwanken. Verantwortlich für diese Schwankungen ist zum einen der sich während der DNA-Replikation verdoppelnde DNA-Gehalt und zum anderen die unterschiedliche Anzahl an Chloroplasten und ihrer DNA. Des weiteren bedeutet eine gleiche Dimerbildung oder -reparatur nicht, daß diese auch eine gleiche Auswirkung auf die Zelle hat. Denn diese ist davon abhängig, wo die Dimere im Genom gebildet und repariert werden und welche Gene betroffen sind (Gale & Smerdon 1990). So kann die Schädigung eines lebenswichtigen Gens, wie z.B. des Gens, das für die Photo-lyase codiert, zu schwerwiegenden Beeinträchtigungen der Zelle führen, während Schädigungen in nicht aktiven oder nicht codierenden Regionen der DNA sowie Schädigungen im Chloroplastengenom, deren Gene in vielfacher Codierung vorliegen (Cannon et al. 1995), vermutlich eine geringe Schädigung auf zellulärer Ebene zur Folge haben. Die bisherigen Untersuchungen bei Phytoplankton bieten nur ungenügende Informationen über die Auswirkung einer Dimerbildung auf die Zelle, da dabei stets hohe UVB-Bestrahlungsstärken bis zu  $5 \text{ W m}^{-2}$  verwendet wurden und gleichzeitig die Photoreaktivierung ausgeschlossen oder zumindest reduziert wurde (Karentz et al. 1991a, Buma et al. 1995). Als Folge dieser hohen Bestrahlung kam es vermutlich aufgrund der noch stattfindenden Synthese von Zellproteinen bei gleichzeitigem Zellteilungsstillstand oder -verzögerung zu stark vergrößerten Zellen oder sogar zum Absterben der Zellen. Diese Zell-

veränderungen wurden auch in der vorliegenden Untersuchung unter hoher UVB-Einstrahlung beobachtet (Kap. 4.1.2). Unter natürlichen Strahlungsbedingungen (Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator) kam es dagegen selbst bei einer fünftägigen Bestrahlung mit einer UVB-Bestrahlungsstärke von  $0,5 \text{ W m}^{-2}$  (Abb. 4.35) oder einer vierstündigen hohen Bestrahlung von  $2,9 \text{ W m}^{-2}$  (Abb. 4.34) zu keinen sichtbaren Zellveränderungen.

Bei der Dimerbildung und -reparatur sowie bei deren Auswirkung auf die Zelle spielt vermutlich der Zeitpunkt im Zellzyklus, in dem sich die Zelle während der Bestrahlung befindet, eine wichtige Rolle. Im allgemeinen ist die Empfindlichkeit der Zellen gegen UV-Strahlung während der DNA-Replikation (S-Phase) am größten und während der DNA-Transkription und der Proteinsynthese ( $G_1$ -Phase) sowie zu Beginn der Zellteilung ( $G_2$ -Phase) am geringsten (Kiefer 1989). So wird vermutet, daß bei Zellen, die sich während der UVB-Bestrahlung kurz vor oder in der Phase der DNA-Replikation befinden, eine Dimerisierung der Basen zur Blockierung oder zum Stillstand im Zellzyklus führt (Kiefer 1989). Befinden sich die Zellen dagegen bei Bestrahlungsbeginn in der  $G_2$ -Phase oder der Mitose, so könnte die Zellteilung ohne Störung abgeschlossen und weiterhin Proteine und Stoffwechselprodukte synthetisiert werden, bis es dann beim nächsten Teilungszyklus zur Blockierung der Zellteilung kommt. Diese These wird durch die Beobachtungen dieser Arbeit unterstützt: So war nach der UVB-Bestrahlung ein Teil der sich asynchron teilenden Diatomeenzellen noch physiologisch aktiv, und konnte sich noch ein- oder zweimal teilen, während andere Zellen nach der Bestrahlung sofort abstarben. Ein weiterer Teil der Zellen teilte sich mit annähernd normaler Rate weiter (Kap. 4.1.2). Allerdings haben Untersuchungen an Diatomeen gezeigt, daß eine UVB-Bestrahlung von Zellen in der  $G_1$ - und S-Phase zu keiner unterschiedlichen Dimerbildung führt (Buma et al. 1996). Auch hierzu sind in Zukunft noch weitere Untersuchungen notwendig.

Abschließend sei noch bemerkt, daß vermutlich bei allen pflanzlichen Organismen durch UVB-Bestrahlung neben den hier untersuchten CPD noch weitere Schädigungsprodukte, vor allem (6-4)-Photoprodukte, in der DNA entstehen und neben der Photoreaktivierung vermutlich auch die lichtunabhängige Excisionsreparatur eine Rolle spielt (s. Kap. 1.3.2). Allerdings weisen die bisherigen Ergebnisse darauf hin, daß diese Mechanismen wahrscheinlich bei Pflanzen eine geringere Rolle als die hier untersuchten spielen (Mitchell & Karentz 1993).

## 5.2 Bedeutung der MAAs im UV-Schutz

Der zweite Teil der vorliegenden Arbeit beinhaltet Untersuchungen über die Bildung sowie über die Schutzwirkung von Mykosporin-ähnlichen Aminosäuren (MAAs) bei verschiedenen antarktischen Diatomeen sowie Kolonien von *Phaeocystis antarctica*. Kennzeichnend für MAAs ist, daß sie in den meisten der bisher untersuchten marinen Organismen vorkommen (Karentz et al. 1991b, Mitchell & Karentz 1993), so auch in Phytoplankton (Davidson et al. 1994, Karentz 1994, Vernet et al. 1994, Karsten et al. 1998, Häder 1999). Ihre Absorption im Wellenlängenbereich der UV-Strahlung zwischen 320 und 340 nm (vgl. Kap. 1.3.3) ist die Grundlage für die Vermutung, daß sie eine wichtige Rolle im UV-Schutz bei marinen Organismen spielen (z.B. Karentz et al. 1991b, Smith et al. 1992, Davidson et al. 1994). Obwohl in den letzten Jahren zahlreiche Untersuchungen über MAAs durchgeführt wurden (Zusammenfassung in Bandaranayake 1998), ist ihre Schutzfunktion gegen UV-Schädigungen sowie die Frage nach einer Anpassungsfähigkeit an höhere UV-Strahlung noch nicht geklärt (vgl. Kap. 1.3.3).

### *Schutzwirkung der MAAs vor UVA- und UVB-Schädigung*

Eine wesentliche Voraussetzung für die Wirksamkeit von Substanzen im UV-Absorptionsschutz ist die Überlappung ihres *in vivo*-Absorptionsspektrums mit den Wellenlängen der schädigenden Strahlung. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die z.T. hohe *in vivo*-Absorption im Wellenlängenbereich zwischen 315 und 340 nm bei den untersuchten Diatomeen sowie Kolonien von *Phaeocystis antarctica* hauptsächlich auf die Existenz von MAAs zurückgeht (Abb. 4.16A & 4.16B, Abb. 4.18). MAAs absorbieren somit hauptsächlich in dem Wellenlängenbereich, der unter natürlichen Strahlungsbedingungen die größte Inhibition der Photosynthese verursacht (Helbling et al. 1992 & 1994, Arrigo 1994, Cullen & Neale 1994). Im kürzerwelligen Strahlungsbereich zwischen 290 und 315 nm - dem Teil des Spektrums, der zum einen zur Dimerbildung in der DNA führt (Buma et al. 1997 und Kap. 5.1 dieser Arbeit) und zum anderen überwiegend durch eine Ozonreduktion beeinflusst wird (Abb. 1.2) - zeigen dagegen alle *in vivo*-Spektren der untersuchten Organismen ein Absorptionsminimum (Abb. 4.16A & 4.16B).

Den Hauptanteil am MAA-Gehalt stellt bei allen untersuchten Diatomeenkulturen - unabhängig von der Stärke sowie der spektralen Zusammensetzung der Strahlung - Porphyra-334 ( $\lambda_{\max} = 335$  nm; Abb. 4.18). Dies ist übereinstimmend mit den Ergebnissen der Untersuchungen an natürlichem Phytoplankton (Villafane et al. 1995, Bidigare et al. 1996). Daneben besteht ein geringer Anteil (<8%) aus Shinorin ( $\lambda_{\max} = 335$  nm) sowie bei *P. pseudodenticulata* zusätzlich aus Mykospurin-Glycin ( $\lambda_{\max} = 310$  nm; Abb. 4.18). Trotz des relativ hohen Anteils von 17% führt diese MAA jedoch zu keiner wesentlichen Verschiebung des Absorptionsmaximums von *P. pseudodenticulata* (Abb. 6.16A).

Im Vergleich zu den Diatomeen ist das Absorptionsmaximum bei Kolonien von *Phaeocystis antarctica* um wenige nm zu kürzeren Wellenlängen hin verschoben und liegt zwischen 315 und 320 nm (Abb. 4.16A). Vermutlich ist diese Absorptionsverschiebung auf eine unterschiedliche MAA-Zusammensetzung zurückzuführen. Eine genaue Identifizierung der bei *Phaeocystis* vorkommenden MAAs war mit der verwendeten HPLC-Methode nicht möglich (Kap. 4.2) und wurde auch in früheren Untersuchungen (Bidigare et al. 1996) nicht durchgeführt.

Zur Bewertung der Schutzwirkung der MAAs reicht die alleinige Betrachtung der spektralen Abhängigkeit ihres Absorptionsverhaltens nicht aus. Bedeutend ist vor allem, wieviele der auf die Organismen auftreffenden UV-Quanten abgeschirmt werden. Zunächst kann der von den MAAs absorbierte Anteil jedoch nicht direkt aus der Gesamtabsorption abgeleitet werden, da neben den MAAs möglicherweise auch andere Substanzen mit konjugierten Doppelbindungen, zyklische und polyzyklische Moleküle, wie z.B. Flavine, Quinone und Metall-Coenzyme (Garcia-Pichel 1994), und zu einem geringen Anteil auch die Opalschalen der Diatomeen (Davidson et al. 1994) zur UV-Absorption beitragen. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb das von Garcia-Pichel (1994) entwickelte Modell zur Berechnung von Abschirmungsfaktoren ("Sunscreenfactors" = S) benutzt, um den Anteil der UV-Strahlung zu quantifizieren, der von den MAAs absorbiert wird, bevor diese auf die UV-empfindlichen Strukturen wie z.B. die DNA im Zellinnern trifft. Die Ergebnisse dieser Berechnungen zeigen, daß bei den untersuchten Diatomeen bis zu 50% ( $S = 0,5$ ) der Strahlung im jeweiligen *in vivo*-Absorptionsmaximum, das zwischen 330 und 333 nm liegt, absorbiert wird (Tab. 4.3). Dies weist darauf hin, daß MAAs im kurzwelligen UVA-Bereich tatsächlich eine Schutzwirkung haben. Hohe Abschir-

mungsfaktoren weisen allerdings nur große Diatomeen wie *P. pseudodenticulata*, *Thalassiosira tumida* und *T. antarctica* (Valvenradius  $>10 \mu\text{m}$ ) auf. Für kleine Diatomeen wie *Fragilariopsis linearis* und *F. cylindrus* (Valvenradius  $<3 \mu\text{m}$ ) ergaben sich dagegen nur sehr geringe Faktoren kleiner als 0,1 (Tab. 4.3). Auf diese zellgrößenabhängigen Unterschiede wird noch näher eingegangen.

Unterhalb von 333 nm nehmen die Abschirmungsfaktoren bei Diatomeen zu kleinen Wellenlängen hin ab. So sind sie im Bereich der für die Dimerbildung wirksamen Strahlung zwischen 300 und 310 nm selbst für große Diatomeen schon kleiner als 0,2 (nicht dargestellte Ergebnisse). Bei *Phaeocystis*-Kolonien wurden in diesem Wellenlängenbereich S-Faktoren bis zu 0,4 bestimmt, im Absorptionsmaximum zwischen 315 und 320 nm sogar S-Faktoren bis zu 0,7 (Tab. 4.3). Diese Phytoplanktongruppe ist somit nach diesem Modell besser gegen UVB-Strahlung geschützt.

Bei der Bewertung dieser Abschirmungsfaktoren ist zu beachten, daß alle hier untersuchten Organismen Abweichungen von der für ihre Berechnung zugrunde gelegten "Idealzelle" (sphärisch, gleichmäßige Verteilung der MAAs sowie zentrale Lokalisation der UV-empfindlichen Moleküle oder Strukturen) aufweisen. Die ermittelten Faktoren stellen somit Maximalwerte dar.

Obwohl in vielen der bisherigen Untersuchungen die Hypothese vertreten wird, daß MAAs eine Schutzfunktion gegen UV-Schädigungen besitzen (z.B. Karentz et al. 1991b, Marchant et al. 1991, Davidson et al. 1994, Vernet et al. 1994), sind bisher noch keine Befunde publiziert worden, die einen Kausalzusammenhang zwischen MAA-Gehalt und einer Schadensreduktion belegen. Verschiedene experimentelle Ansätze wären denkbar, um die UV-Schutzwirkung der MAAs nachzuweisen, z.B. mit Hilfe spezifischer Inhibitoren des MAA-Syntheseweges oder Mutanten mit einem genetischen Block im Stoffwechselweg der MAA-Bildung. Bisher gibt es jedoch nur wenige Informationen über den Syntheseweg der MAAs und somit keine Möglichkeiten, Inhibitoren oder Mutanten zu erzeugen<sup>6</sup>. Der im Rahmen der vorliegenden Untersuchung gewählte experimentelle Ansatz,

---

<sup>6</sup> In der bisher einzigen Untersuchung zu diesem Thema konnte gezeigt werden, daß in Pilzen der Cyclohexanonring ( $\text{C}_6\text{-C}_1$ -Einheit) der nah mit den MAAs verwandten Mykosporine im Shikimatweg gebildet werden (Favré-Bonvin 1979). Daß auch bei Phytoplankton die MAAs auf diesem Syntheseweg gebildet werden, wurde bisher jedoch nicht bestätigt (vgl. Kap. 1.3.3).

eine Schutzwirkung der MAAs gegen UVA- oder UVB-Schädigungen nachzuweisen, basiert auf dem Vergleich des Schadensumfangs nach UV-Bestrahlung in Abhängigkeit von dem zu diesem Zeitpunkt vorhandenen MAA-Gehalt, der in den untersuchten Kulturen entweder durch hohe PAR-Einstrahlung oder Bestrahlung mit Blau/UVA (<460 nm) induziert wurde (Kap. 4.3 & 4.4). Die Ergebnisse dieser Experimente belegen die im letzten Absatz aufgestellte These, daß für Diatomeen die Akkumulation von MAAs nur ein geringer Schutz vor Schädigungen durch kurzwellige UVB-Strahlung darstellt: Trotz einer Zunahme des zellulären MAA-Gehaltes auf das ca. 3-6fache des Ausgangswertes wurden bei *T. tumida* (Abb. 4.27) und *P. pseudodenticulata* (Abb. 4.28) nach schädigender UVB-Bestrahlung die gleiche Anzahl an Dimeren gebildet. Auch auf der zellulären Ebene war kein deutlicher Anstieg der Überlebensrate festzustellen (Abb. 4.29).

Unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen weisen Kulturen, die unter Starklicht gehältert wurden, im Vergleich zu Schwachlicht akklimatisierten Kulturen mit einem 5fach geringeren MAA-Gehalt eine geringere Dimerbildung auf, die jedoch innerhalb der Nachweisgrenze dieser Methodik liegt (Ab. 4.34). Mit großer Wahrscheinlichkeit ist diese geringere DNA-Schädigung hauptsächlich auf die Wirkung der durch die Vorbestrahlung ebenfalls erhöhten Photoreaktivierung zurückzuführen (vgl. Abb. 4.29 sowie Kap. 5.1). Daraus ist zu schließen, daß auch unter natürlichen Strahlungsbedingungen MAAs für Diatomeen kaum dazu beitragen, die Organismen vor den Schädigungen durch UVB-Strahlung zu schützen. Auch in anderen Untersuchungen gibt es keine Hinweise auf eine Schutzwirkung der MAAs vor kurzweiliger UVB-Bestrahlung bei Diatomeen. So berichten Davidson et al. (1994) zwar von unterschiedlichen Überlebensraten verschiedener Diatomeenkulturen nach künstlicher und hoher UVB-Bestrahlung, es zeigt sich jedoch kein Zusammenhang zwischen der Höhe der UV-Absorption und der Schadensreduktion. Diese Ergebnisse sind somit übereinstimmend mit der nur geringen *in vivo*-Absorption der MAAs in dem Wellenlängenbereich der Strahlung (<310 nm), der hauptsächlich für die Dimerbildung verantwortlich ist.

Im Gegensatz zu den untersuchten Diatomeen führt unter künstlichen Bestrahlungsbedingungen eine MAA-Akkumulation bei Kolonien von *Phaeocystis antarctica* zu einer deutlich geringeren Dimerbildung von fast 50% (Abb. 4.28). Dies entspricht den zuvor erwähnten hohen Abschirmungsfaktoren auch im UVB-Bereich. Die Hypothese einer Schutzfunktion

der MAAs bei *Phaeocystis*-Kolonien wird auch unterstützt durch die Untersuchungen von Marchant et al. (1991), bei denen Kolonien von *Phaeocystis pouchetii* mit einem hohen Gehalt an UV-absorbierenden Substanzen nach schädigender UVB-Bestrahlung eine bis zu 50% höhere Überlebensrate aufwiesen als Kolonien mit geringer bzw. freilebende Flagellaten ohne UV-Absorption. Hier wäre es interessant, eine Schutzwirkung der MAAs auch unter natürlichen Strahlungsbedingungen zu untersuchen.

Neben der Bildung von Dimeren in der DNA gilt die Inhibition der Photosynthese als eine der wichtigsten Schäden, die durch UV-Strahlung hervorgerufen werden, da es zu einer direkten Abnahme in der Primärproduktion kommen kann (Cullen et al. 1992, Helbling et al. 1992). Im Gegensatz zur Dimerbildung ist dafür jedoch nicht nur kurzwellige UVB-Strahlung, sondern auch langwellige UVA-Strahlung verantwortlich (Cullen & Neale 1994, Hanelt et al. 1997). Auch in der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß sowohl bei Diatomeen als auch *Phaeocystis antarctica* UVA-Strahlung zu einer Photoinhibition führt. Allerdings ist diese im kurzweligen UVB-Bereich um ein vielfaches höher (Abb. 4.30 & Abb. 4.31). Kulturen, die vor der schädigenden Bestrahlung unter hoher PAR-Bestrahlung von  $180 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gewachsen waren und einen 3-5fach höheren MAA-Gehalt aufweisen als in Schwachlicht von  $50 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  gewachsene Kulturen, zeigen dabei eine geringere Photoinhibition (Abb. 4.31). Da die wellenlängenabhängige Abnahme der Photoinhibition bei Kulturen, in denen MAAs induziert wurden, mit dem Absorptionsspektrum der MAAs überlappt (Abb. 4.32), kann daraus geschlossen werden, daß MAAs sowohl für Kolonien von *Phaeocystis antarctica* als auch für Diatomeen einen gewissen Schutz gegen Photoinhibition durch UV-Strahlung bieten. Allerdings war die Differenz in der Photosynthese-Effizienz zwischen Starklicht und Schwachlicht akklimatisierten Kulturen nicht sehr hoch. Eine erst kürzlich erschienene Arbeit (Neale et al. 1998b) bestätigt eine MAA-Schutzwirkung auch bei *Gymnodinium*. Allerdings ist zu beachten, daß durch höhere PAR-Einstrahlung auch andere Schutzmechanismen in den Zellen induziert werden können. So wurde in früheren Untersuchungen wiederholt die Induktion sowie Schutzfunktion von Carotinoiden oder Chlorophyllen gegen UVA-Schädigungen diskutiert (z.B. Bidigare et al. 1993). Die photosynthetisch aktiven Pigmente zeigen jedoch im kurzweligen UVA-Bereich nur eine geringe Ab-

sorption (Hager 1970).

Kolonien von *Phaeocystis antarctica* weisen im UVB-Bereich (mittlere Wellenlänge bei 307 nm) eine höhere Photoinhibition, aber auch eine höhere MAA-Schutzwirkung auf als die untersuchten Diatomeen (Abb. 4.31). Dies ist übereinstimmend mit den Ergebnissen aus anderen Arbeiten, daß *Phaeocystis* durch UVB-Strahlung stärker geschädigt wird als Diatomeen (Davidson et al. 1994, Karentz & Spero 1997). Vermutlich bietet für diese empfindlichere Phytoplanktonart die Produktion von MAAs ein wichtiger Schutz gegen UV-Schädigungen der DNA als auch der Photosynthese (s. nächsten Abschnitt).

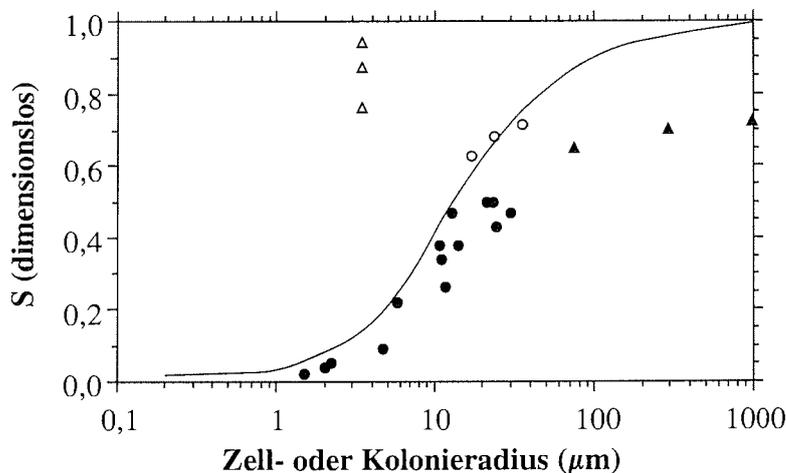
Unter annähernd natürlichen Strahlungsbedingungen (Experimente mit dem Sonnenscheinsimulator) wiesen Kulturen von *T. antarctica*, die unter Starklicht gehältert wurden, eine höhere Photosyntheseleistung auf (gemessen als CO<sub>2</sub>-Fixierung) als Kulturen, die vor der Bestrahlung in Schwachlicht gehältert wurden (Abb. 4.36). Dieser Effekt zeigt sich auch bei einer UVB-Erhöhung entsprechend einer Ozonreduktion von 360 auf 140 DU. Diese Unterschiede sind jedoch erst ab einer Bestrahlungsstärke von 300  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  sichtbar. Auch aus diesen Ergebnissen ist zu schließen, daß zum einen eine höhere UVB-Bestrahlung zu einer Zunahme der Photoinhibition führt und zum anderen eine Akklimation an höhere Strahlungsbedingungen und die damit verbundene Zunahme des MAA-Gehaltes die schädigende Wirkung der UVA und UVB-Strahlung - wenn auch nur geringfügig - reduziert. Bei den vorliegenden Untersuchungen ist allerdings zu beachten, daß nur ein geringer UVB-Anteil eingestrahlt wurde, der übertragen auf die natürlichen Strahlungsverhältnisse im Südpolarmeer ungefähr einer Wassertiefe von 10-20 m entspricht (vgl. Tab. 3.3 & Abb. 1.3). Außerdem nahm durch eine UVB-Erhöhung auch der Anteil der noch photosynthetisch wirksamen Rotstrahlung (>560 nm) zu (Abb. 3.7), was zu einer höheren Photosyntheserate geführt haben könnte. Es ist somit zu erwarten, daß die schädigenden Effekte unter natürlichen UVB-Strahlungsbedingungen vor allem bei einer hohen Einstrahlung an der Wasseroberfläche höher sind als die hier erzielten. Hierzu sollten sich in Zukunft weitere Untersuchungen unter natürlichen Strahlungsbedingungen auch bei anderen Diatomeenarten sowie *Phaeocystis antarctica* anschließen.

*MAA-Schutzwirkung und Organismengröße*

Wie zuvor erwähnt wurde, weisen kleine Diatomeen wie *Fragilariopsis linearis* und *F. cylindrus* (Valvenradius  $<5 \mu\text{m}$ ) nur einen geringen MAA-Gehalt und Abschirmungsfaktoren  $<0,1$  auf, während große Diatomeen wie *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* und *T. antarctica* (Valvenradius  $>10 \mu\text{m}$ ) einen hohen MAA-Gehalt mit Abschirmungsfaktoren bis zu 0,5 besitzen (Tab. 4.3). Auch in früheren Untersuchungen wurden bei gleichen Strahlungsbedingungen unterschiedliche MAA-Gehalte bei antarktischen Diatomeen gemessen. Vor allem Vertreter der meist sehr kleinen pennaten Diatomeen, weisen nur geringe MAA-Gehalte bzw. geringe Absorptionen im kurzwelligen UVA-Bereich auf (Davidson et al. 1994, Bidigare et al. 1996, Helbling et al. 1996). Diese Ergebnisse stützen die von Garcia-Pichel (1994) aufgestellte These, daß der intrazellulären Konzentration von MAAs physikalische wie auch physiologische Grenzen gesetzt sind. Während die physikalische Konzentrationsgrenze von der Löslichkeit und den osmotischen Eigenschaften der Substanzen abhängt, können physiologische Grenzen z.B. durch die Toxizität der Substanzen oder durch den für ihre Synthese notwendigen energetischen Aufwand und der damit verbundenen Kosten-Nutzen Relation bedingt sein (Garcia-Pichel 1994). Eine solche obere Konzentrationsgrenze für die MAAs, so vermutete der Autor, müßte im Bereich von 1% des Trockengewichtes der Zellen liegen, da auch andere Pigmente selten einen höheren Anteil haben und auch die bisher bei Cyanobakterien ermittelten MAA-Konzentrationen unterhalb von 1% des Trockengewichtes liegen (Garcia & Castenholz 1993). Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen diese Schlußfolgerung und belegen für antarktische Diatomeen einen mit der Zellgröße zunehmenden MAA-Gehalt, aber begrenzte MAA-Konzentration. Alle Abschirmungsfaktoren der untersuchten Organismen liegen knapp unterhalb der Werte, die entsprechend einer 1%igen MAA-Konzentration berechnet wurden (Abb. 5.2). Sehr kleine Diatomeen wie *Chaetoceros* sp. (1), *Fragilariopsis linearis* und *F. cylindrus* (Valvenradius  $<6 \mu\text{m}$ ) sind somit im Gegensatz zu größeren Diatomeen wie *P. pseudodenticulata*, *T. tumida* und *T. antarctica* (Valvenradius  $>11 \mu\text{m}$ ) nicht in der Lage - selbst unter hohen PAR-Bestrahlungsstärken von  $350 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$  - einen schützenden MAA-Gehalt zu produzieren (Abb. 5.2).

Diese intrazelluläre Konzentrationsgrenze für MAAs sowie der nur geringe Absorptionsweg bei kleinen Diatomeen führt dazu, daß für diese

Zellen die Bildung von MAAs kein wirkungsvoller Schutz gegen UV-Strahlung darstellt. Die für kleine Diatomeen wie *F. linearis* und *F. cylindrus* (Valvenradius  $<3 \mu\text{m}$ ) berechneten S-Werte von  $<0,1$  (Tab. 4.3) bedeuten, daß höchstens 10% der auf die Organismen auftreffenden UV-Strahlung im Wellenlängenbereich zwischen 330 und 337 nm von den MAAs absorbiert werden kann. Für größere Diatomeen mit einem Radius  $>20 \mu\text{m}$  ( $S>0,5$ ) bieten MAAs dagegen einen begrenzten Schutz vor UV-Schädigungen. Für einen wirkungsvollen und effizienten Schutz wäre sogar ein Zellradius größer als  $200 \mu\text{m}$  ( $S>0,9$ ) notwendig. Die Abhängigkeit der Schutzwirkung von der Zellgröße zeigt sich auch experimentell im Vergleich der Photosyntheseinhibition: Durch eine MAA-Induktion wurde bei der größeren Diatomee *P. pseudodenticulata* (mittlerer Radius  $30 \mu\text{m}$ ) eine größere Schutzwirkung vor Photosyntheseinhibition erzielt als bei der kleineren Diatomee *T. tumida* (mittlerer Radius  $12,9 \mu\text{m}$ ) (Abb. 4.32). Allerdings könnte hier auch die geringe antioxidative Schutzwirkung von Mykosporin-Glycin (Dunlap & Yamamoto 1995) eine Rolle spielen. *P. pseudodenticulata* wies als einzige der hier untersuchten Diatomeen einen relativ hohen Gehalt an dieser MAA von bis zu 18% auf (Abb. 4.18).



**Abb. 5.2:** Abschirmungsfaktoren (S) für verschiedene Diatomeenkulturen in Abhängigkeit des Zellradius (gehältert bei  $100 \text{ (●)}$  bzw.  $350 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (○) sowie *Phaeocystis antarctica*, berechnet für einzelne Zellen (△) oder die gesamte Kolonie (▲)). Die Linie repräsentiert den von Garcia-Pichel (1994) für den jeweiligen Radius bestimmten Abschirmungsfaktor, bei Annahme eines MAA-Gehaltes von 1% des Trockengewichtes.

Die für die Diatomeen ermittelte Abhängigkeit der MAA-Bildung von der Zellgröße gilt nicht für Kolonien aus relativ kleinen Zellen wie bei *Phaeocystis antarctica* (mittlerer Zellradius 3,5 µm). Unter der Annahme, daß sich die Substanzen innerhalb der Koloniezellen befinden, wurden je nach Koloniegröße Abschirmungsfaktoren zwischen 0,76 und 0,94 ermittelt (Tab 4.3). Das würde einem MAA-Gehalt von ca. 20-40% des Trockengewichtes dieser Zellen entsprechen, was deutlich über dem oben beschriebenen Maximalwert von 1% liegt (Abb. 5.2). Aufgrund der hohen Konzentration an UV-absorbierenden Substanzen in *Phaeocystis pouchetii*-Kolonien vermuteten Marchant und seine Mitautoren (Marchant et al. 1991), daß diese Substanzen extrazellulär mit der Koloniematrix assoziiert sind. Die Autoren berichteten außerdem, daß freilebende Flagellaten von *P. pouchetii*, die keine außerzelluläre Matrix besitzen, nicht in der Lage sind, UV-absorbierende Substanzen zu bilden oder zu akkumulieren. Neueren Untersuchungen zufolge ist es wahrscheinlich, daß sich die MAAs an der Peripherie der Kolonie und möglicherweise sogar in der Koloniehaut befinden. So zeigten die Untersuchungen von Rijssel et al. (1997) und Hamm et al. (1999), daß Aminogruppen, die auch Bestandteil der MAAs sind (vgl. Abb. 1.6), bei *Phaeocystis globosa* in einer sehr dünnen Koloniehülle konzentriert sind und sich keine festen Substanzen im Innern der Hülle befinden. Die unter dieser Annahme neu berechneten Abschirmungsfaktoren stützen die These, daß der größte Anteil der UV-absorbierenden Substanzen sich außerhalb der Zelle befindet. So liegen die für die Gesamtkolonien (Kolonieradius 50-1400 µm) berechneten Werte bei ca. 0,7, was in etwa einem 1%igen zellulären MAA-Gehalt entspricht (Abb. 5.2). Diese extrazelluläre Akkumulation von UV-absorbierenden Substanzen könnte eine wichtige ökologische Bedeutung haben, da kleine Zellen einen wesentlich höheren UV-Absorptionsschutz bekommen können, indem sie Kolonieform annehmen.

#### *Induktion von MAAs*

Auf der Grundlage der zumindest teilweise schützenden Wirkung von MAAs gegen UV-Schädigungen wurde in der vorliegenden Arbeit die Frage untersucht, ob sich Phytoplanktonorganismen durch eine Akkumulation dieser Substanzen an eine Zunahme der UV-Strahlung anpassen können. Hinweise auf eine durch Licht gesteuerte Bildung der MAAs sind in Un-

tersuchungen an antarktischen Phytoplankton (Carreto et al. 1990, Vernet et al. 1994) sowie Diatomeen-Kulturen (Helbling et al. 1996, Marchant et al. 1991, Davidson et al. 1994, Bidigare et al. 1996) zu finden. Bisher lagen jedoch keine genauen Ergebnisse über eine Wellenlängen- und Dosisabhängigkeit der MAA-Bildung vor. Die in der vorliegenden Arbeit erstmalig für MAAs erstellten Wirkungskurven (Abb. 4.25) belegen nun, daß die Bildung von MAAs sowohl bei antarktischen Diatomeen als auch Kolonien von *Phaeocystis antarctica* ein lichtkontrollierter Prozeß ist, der von der Wellenlänge der eingestrahlten Strahlung abhängt. Dabei überlappt der Wellenlängenbereich mit der höchsten Quantenwirksamkeit (345-460 nm; Abb. 4.25) mit dem Wellenlängenbereich der UVA-Strahlung, die unter natürlichen Strahlungsbedingungen für die größte absolute photosynthetisch schädigende Wirkung verantwortlich ist (Helbling et al. 1992 & 1994, Arrigo 1994, Cullen & Neale 1994). Daraus, sowie aus der linearen Dosis-Wirkungsbeziehung der MAA-Bildung (Abb. 4.21) ist zu schliessen, daß Phytoplanktonorganismen in der Lage sind, sich an eine Strahlungserhöhung anzupassen, indem sie bei höherer schädigender Strahlung mehr Schutzsubstanzen produzieren. Dies gilt jedoch aufgrund der intrazellulären Konzentrationsgrenze nur für große Diatomeen und Kolonien von *Phaeocystis antarctica* (s. oben).

Bei antarktischen Diatomeen zeigt Strahlung im Wellenlängenbereich zwischen 305 und 340 nm nur eine geringe MAA-induzierende Wirkung (Abb. 4.25). Dies weist darauf hin, daß eine infolge Ozonabbaus auftretende alleinige Zunahme des UVB-Anteils der Strahlung nicht wesentlich zu einer vermehrten Ausbildung von MAAs beitragen würde. Die vorliegenden Untersuchungen unter simulierten natürlichen Strahlungsbedingungen und erhöhter UVB-Strahlung bestätigen diese Annahme. So konnte bei einer UVB-Erhöhung, entsprechend einer Ozonreduktion von 360 auf 140 DU, keine signifikante Zunahme des MAA-Gehaltes bei Diatomeen gemessen werden. Diese Organismen dürften also nicht in der Lage sein, sich einem veränderten UV-Strahlungsklima, wie es durch eine Verringerung der Ozonschicht zu erwarten wäre, bezüglich der Ausbildung von Schutzsubstanzen anzupassen.

Im Vergleich zu Diatomeen liegt das Maximum der MAA-Induktion bei Kolonien von *Phaeocystis antarctica* bei kürzeren Wellenlängen ( $\lambda_{\max} = 340$  nm) und Strahlung im UVB-Bereich hat noch eine deutlich MAA-induzierende Wirkung (Abb. 4.25). Tatsächlich nimmt unter annä-

hernd natürlichen Strahlungsbedingungen bei einer UVB-Erhöhung entsprechend einer Ozonreduktion von 360 DU auf 140 DU, der MAA-Gehalt um ca. 25% zu (Abb. 4.33). Auch für *Phaeocystis pouchetii* konnte gezeigt werden, daß nach künstlicher UVB-Bestrahlung die UV-Absorption auf ungefähr das dreifache anstieg (Marchant et al. 1991). *Phaeocystis*-Kolonien können sich somit durch eine Akkumulation von UV-absorbierenden Substanzen nicht nur an eine höhere Gesamteinstrahlung, sondern auch an eine alleinige UVB-Erhöhung anpassen. Da MAAs bei Kolonien von *Phaeocystis* auch im UVB-Bereich eine schützende Wirkung besitzen (s. oben), kann gefolgert werden, daß diese Organismen in der Lage sind, sich durch die Produktion von UV-absorbierenden Substanzen zumindest teilweise vor einer Zunahme der Schädigung durch UVB-Erhöhung zu schützen. Inwieweit dies für diese Organismen bei einer Ozonreduktion von Vorteil ist und ob dadurch die Zusammensetzung des Phytoplanktons beeinflusst werden könnte, ist eine interessante Frage, die es in weiteren Untersuchungen zu beantworten gilt. Daß die höhere Konzentration an UV-absorbierenden Substanzen bei *Phaeocystis* jedoch nicht unbedingt auch zu einer geringeren Schädigung durch UVB-Strahlung führt, zeigen die Untersuchungen von Davidson et al. (1994) sowie Karentz & Spero (1996), bei denen *Phaeocystis* eine größere Empfindlichkeit gegenüber UVB-Schädigungen aufwies als Diatomeen.

### 5.3 Lichtregulation von Schutz- und Reparaturmechanismen

Ein wichtiges Ergebnis der vorliegenden Arbeit ist, daß sowohl Photoreaktivierung als auch MAA-Bildung wellenlängenabhängige Prozesse sind, die durch Blau/UVA-Strahlung induziert werden (s. Kap. 5.1 & Kap. 5.2). Dabei ist von besonderer Bedeutung, daß sowohl der Bereich der Photoreaktivierung als auch der MAA-Bildung mit dem Wellenlängenbereich überlappt, der in die freie Wassersäule und in das Eis am tiefsten eindringt (vgl. Abb. 4.25 & Abb. 1.3). Bisher war vor allem bei höheren Pflanzen bekannt, daß sie sich, unter Vermittlung von spezifischen Photorezeptoren wie dem Phytochromsystem oder Blaulicht-(UV)-Rezeptor, bezüglich ihrer UV-Schutzmechanismen an wechselnde Strahlungsbedingungen anpassen können (Langer & Wellmann 1990, Beggs & Wellmann 1994, Buchholz 1996). Die hier in der vorliegenden Arbeit gezeigte Quantenwirksamkeit

der MAA-Bildung und Photoreaktivierung im Bereich der Blau/UVA-Strahlung sowie der Befund, daß das Phytochromsystem hauptsächlich auf höhere Pflanzen begrenzt ist und bisher nicht in Algen gefunden wurde (Ruyters 1989, Mancinelli 1994), weist darauf hin, daß die Regulation von UV-Schutzmechanismen bei Diatomeen und *Phaeocystis* über einen Blau/UV-Rezeptor vermittelt wird. Allerdings konnten diese Rezeptoren trotz zahlreicher Untersuchungen bisher nicht identifiziert werden (Ninnemann 1980, Briggs 1983, Ninnemann 1995). Eine weitere noch offene Frage ist, wie die Information von den Rezeptoren weitergegeben und die Expression der durch die Rezeptoren regulierten Gene kontrolliert wird. Auch dies ist bisher noch ungeklärt. Besonders interessant sind dabei die Ergebnisse aus Untersuchungen an höheren Pflanzen, bei denen gezeigt wurde, daß Proteine, die vermutlich eine Rolle bei blaulichtabhängigen Reaktionen spielen, eine hohe Homologie mit dem Reparaturenzym der Photoreaktivierung (Photolyase) aufweisen (Ahmad et al. 1993, Batschauer 1993). Dies ist übereinstimmend mit der These von Yasuhira & Yasui (1992), daß bei Goldfischzellen die Photolyase selbst die Expression ihres Gens regulieren könnte. Bei einigen der bei Pflanzen untersuchten blaulichtabhängigen Reaktionen wird auch vermutet, daß diese über die Photosynthese oder in Verbindung mit photosynthetischen Prozessen gesteuert werden (López-Figueroa & Niell 1990).

Viele der bekannten blaulichtabhängigen Reaktionen benötigen im Gegensatz zu Phytochrom-vermittelten Reaktionen kontinuierliche Bestrahlung (Ninnemann 1980). Auch bei der in der vorliegenden Arbeit untersuchten MAA-Bildung mußten die Kulturen für mindestens 72-144 Stunden bestrahlt werden, bevor das Maximum der MAA-Bildung erreicht war (Abb. 4.24). Eine kurze induzierende Bestrahlung von 4 Stunden führte auch nach insgesamt 48stündigem Wachstum in Gelblicht zu keiner MAA-Akkumulation (Kap. 4.2). Eine Akklimatisierung an höhere Bestrahlungsstärken setzt somit zumindest für die MAA-Bildung voraus, daß die Organismen eine hinreichend lange Zeit der induzierenden Strahlung ausgesetzt sind. Da der Induktionsbereich der MAA-Bildung mit dem Wellenlängenbereich der am tiefsten in das Wasser eindringenden Strahlung überlappt, (vgl. Abb. 4.25 & Abb. 1.3) ist zu vermuten, daß Phytoplanktonorganismen sich während der Zirkulation von tieferen Schichten an die Oberfläche schon früh an eine Erhöhung der Einstrahlung anpassen können. Die Anpassung der in der durchmischten Wasserschicht lebenden Organismen

hängt dabei auch von der Tiefe und der Durchmischungsgeschwindigkeit der durchmischten Wasserschicht ab (s. Kap. 1.2). Bei einer geringen Stratifizierung mit tiefer Durchmischung und hohen Durchmischungsgeschwindigkeiten befinden sich die Organismen nur relativ kurze Zeit in der Nähe der Wasseroberfläche. Es ist daher fraglich, ob sich die Organismen bezüglich der MAA-Bildung rechtzeitig an die dort herrschenden Strahlung anpassen können. Dagegen sind bei einer starken Stratifizierung die Organismen in der oberen durchmischten Schicht längere Zeit einem hohen Strahlungsfluß ausgesetzt. Daraus ist zu folgern, daß die Organismen in dieser Situation in der Lage sind, einen hohen MAA-Gehalt auszubilden. Hinweise darauf, daß Organismen bei einer starken Stratifizierung tatsächlich eine geringere Schädigung aufweisen und Akklimatisierungsprozesse dabei eine Rolle spielen, geben die Untersuchungen von Holm-Hansen et al. (1993), Helbling et al. (1996) und Neale et al. (1998a). Da innerhalb von 60 Tagen in Dunkelheit keine MAAs abgebaut werden (Abb. 4.23), kann außerdem geschlossen werden, daß die Organismen auch bei geringen Bestrahlungsstärken ihren hohen MAA-Gehalt behalten.

Im Vergleich zur MAA-Bildung ist die Induktion der Photolyase ein schneller Prozeß, der vermutlich innerhalb von wenigen Minuten abgeschlossen ist (s. Kap. 5.1). Bezüglich der Photoreaktivierung kann deshalb von einer schnellen Anpassung an hohe Bestrahlungsstärken ausgegangen werden. MAA-Bildung und Photoreaktivierung unterscheiden sich somit nicht nur in der Art ihrer Schutzwirkung, sondern auch in ihrer Fähigkeit sich schnell an die jeweiligen Strahlungsbedingungen anzupassen.

## 6 LITERATUR

- Abele-Oeschger D, Tüg H, Röttgers R (1997) Dynamics of UV-driven hydrogen peroxide formation on an intertidal sandflat. *Limnol Oceanogr* 42:1406-1415
- Adams NL, Shick JM (1996) Mycosporine-like amino acids provide protection against ultraviolet radiation in eggs of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Photochem Photobiol* 64:149-158
- Ahmad M, Cashmore AR (1993) *HY4* gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature* 366:162-166
- Arrigo KR (1994) Impact of ozone depletion on phytoplankton growth in the Southern Ocean: large-scale spatial and temporal variability. *Mar Ecol Prog Ser* 114:1-12
- Banaszak AT, Trench RK (1995) Effects of ultraviolet (UV) radiation on marine microalgal-invertebrate symbioses. II. The synthesis of mycosporine-like amino acids in response to exposure to UV in *Anthopleura elegantissima* and *Cassiopeia xamachana*. *JEMBE* 194:233-250
- Bandaranayake WM (1998) Mycosporines: are they nature's sunscreens?. *Nat Product Rep*:159-172
- Batschauer A, Ehmann B, Schäfer E (1991) Cloning and characterization of a chalcone synthase gene from mustard and its light-dependent expression. *Plant Mol Biol* 16:175-185
- Batschauer (1993) A plant gene for photolyase: An enzyme catalyzing the repair of UV-light induced DNA-damage. *Plant J* 4:705-709
- Beggs CJ, Wellmann E (1994) Photocontrol of flavonoid biosynthesis. In: Kendrick RE, Kronenberg GHM (eds) *Photomorphogenesis in plants*, Ed 2. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht Boston London, p 733-750
- Bidigare RR, Ondrusek ME, Kennicutt MC, Iturriaga R, Harvey HR, Hoham RW, Macko SA (1993) Evidence for a photoprotective function for secondary carotenoids of snow algae. *J Phycol* 29:427-434
- Bidigare RR, Iriarte JL, Kang SH, Ondrusek ME, Karentz D, Fryxell GA (1996) Phytoplankton: quantitative and qualitative assessments. In: Ross R, Hofmann E, Quetin L. (eds) *Foundations for ecosystem research in the western Antarctic peninsula region*. Antarctic Res. Ser. Vol. 70, American Geophysical Union, Washington, DC, p 173-198
- Booth CR, Lucas TB, Morrow JH (1994) The United States National Science Foundation's Polar Network for monitoring ultraviolet radiation. In: Weiler CS, Penhale PA (eds) *Ultraviolet radiation and biological research in Antarctica*. American Geophysical Union, Washington, DC, p 17-37
- Bracher AU, Wiencke C (1999) Simulation of naturally enhanced UV-radiation on photosynthesis of Antarctic phytoplankton. *Mar Ecol Prog Ser* (in press)
- Brash DE, Haseltine WA (1982) UV-induced hotspots occur at DNA damage hotspots. *Nature* 298:189-192

- Briggs WR (1993) New light on stem growth. *Nature* 366:110-111
- Britt AB (1995) Repair of DNA damage induced by ultraviolet radiation. *Plant Physiol* 108:891-896
- Buchholz G (1996) Schutzmechanismen gegen die UV-induzierte Bildung von Thymindimeren in höheren Pflanzen. Dissertation, Universität Freiburg
- Buchholz G, Ehmann B, Wellmann E (1995) Ultraviolet light inhibition of phytochrome-induced flavonoid biosynthesis and DNA photolyase formation in mustard cotyledons (*Sinapis alba* L.). *Plant Physiol* 108:227-234
- Buckley RG, Trodahl HJ (1987) Scattering and absorption of visible light by sea ice. *Nature* 326:867-869
- Buma AGJ, Van Hanne E, Roza L, Veldhuis MJW, Gieskes WWC (1995) Monitoring Ultraviolet-B-induced DNA damage in individual diatom cells by immunofluorescent thymine dimer detection. *J Phycol* 31:314-321
- Buma AGJ, Zemelink HJ, Sjollem K, Gieskes WWC (1996) UVB radiation modifies protein and photosynthetic pigment content, volume and ultrastructure of marine diatoms. *Mar Ecol Prog Ser* 142:47-54
- Buma AGJ, Engelen AH, Gieskes WWC (1997) Wavelength-dependent induction of thymine dimers and growth rate reduction in the marine diatom *Cyclotella* sp. exposed to ultraviolet radiation. *Mar Ecol Prog Ser* 153:91-97
- Caldwell MM (1971) Solar UV Irradiation and the growth and development of higher plants. In: Giese AC (ed) *Photophysiology*. Academic press, New York, Vol. 6, p 131-177
- Caldwell MM, Robberecht R, Flint SD (1983) Internal filters: Prospects for UV-acclimation in higher plants. *Physiol Plant* 58:445-450
- Cannon GC, Hedrick LA, Heinhorst S (1995) Repair mechanisms of UV-induced DNA-damage in soybean chloroplasts. *Plant Mol Biol* 29:1267-1277
- Carroll AK, Shick JM (1996) Dietary accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*) *Mar Biol* 124:561-569
- Carreto JJ, Lutz VA, De Marco SG, Carignan MO (1990) Fluence and wavelength dependence of mycosporine-like amino acid synthesis in the dinoflagellate *Alexandrium excavatum*. In: Graneli E, Edler L, Sundström B, Anderson DM (eds) *Toxic Marine Phytoplankton*, Elsevier, New York, p 275-279
- Chard T (1978) An introduction to radioimmunoassay and related techniques. In: Work TS, Work E (eds) *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology*. Vol 6, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, p 292-531
- Cullen JJ, Neale PJ (1994) Ultraviolet radiation, ozone depletion and marine photosynthesis. *Photosyn Res* 39:303-320
- Cullen JJ, Neale PJ, Lesser MP (1992) Biological weighting function for the inhibition of phytoplankton photosynthesis by ultraviolet radiation. *Science* 258:646-650
- Cullen JJ, Neale PJ (1997) Biological weighting functions for describing the effects of ultraviolet radiation on aquatic systems. In: Häder DP (ed) *Effects of ozone depletion on aquatic ecosystems*, RG Landes Company, Austin p 97-118

- Davidson AT, Bramich D, Marchant HJ, McMinn A (1994) Effects of UV-B irradiation on growth and survival of Antarctic marine diatoms. *Mar Biol* 119:507-515
- Davidson AT, Marchant HJ, Mare de la WK (1996) Natural UVB exposure changes the species composition of Antarctic phytoplankton in mixed culture. *Aquat Microb Ecol* 10:299-305
- Deering RA, Setlow RB (1963) Effects of ultraviolet light on thymidine dinucleotide and polynucleotide. *Biochem Biophys Acta* 68:526-534
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *FOCUS* 12:1213-1215
- Dunlap WC, Chalker BE (1986) Identification and quantification of near-UV absorbing compounds (S-320) in a hermatypic scleractinian. *Coral Reefs* 5:155-159
- Dunlap WC, Yamamoto Y (1995) Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. *Comp Biochem Physiol* 112B:105-114
- Eilers PHC, Peeters JCH (1988) A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. *Ecol Modelling* 42:199-215
- El Sayed SZ, Fryxell GA (1993) Phytoplankton. In: Friedman IE (ed) *Antarctic Microbiology*, Wiley & Sons, New York, p 65-122
- Eppley RW (1972) Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fis Bull NOAA* 70:1063-1085
- Evans CA, O'Reilly JE, Thomas JP (1987) A handbook for the measurement of chlorophyll *a* and primary production. Biomass 8, Texas A&M University, College Station
- Farman JC, Gardiner BG, Shanklin JD (1985) Large loss of total ozone in Antarctica reveal seasonal ClO<sub>x</sub>/NO<sub>x</sub> interaction. *Nature* 315:207-210
- Favré-Bonvin J, Bernillon J, Salin N, Arpin N (1987) Biosynthesis of mycosporines: Mycosporine glutaminol in *Trichothecium roseum*. *Phytochemistry* 26:2509-2514
- Floss HG (1979) The shikimate pathway. In: Swain T, Harborne JB, Sumere CF *van* (eds) *Recent advances in phytochemistry: biochemistry of plant phenolics*. Plenum Press, New York, p 59-89
- Frederick JE, Snell HE, Haywood EK (1989) Solar ultraviolet radiation at the earth's surface. *Photochem Photobiol* 50:443-450
- Fukui A, Laskowski W (1984) Modifying factors of the cellular concentration of photolyase molecules in *Saccharomyces cerevisiae* I. Effect of temperature and light. *Photochem Photobiol* 39:613-617
- Garcia-Pichel F (1994) A model for internal self-shading in planktonic organisms and its implication for the usefulness of ultraviolet sunscreens. *Limnol Oceanogr* 39:1704-1717
- Garcia-Pichel F, Castenholz RW (1993) Occurrence of UV-absorbing, mycosporine-like compounds among cyanobacterial isolates and an estimate of their screening capacity. *Appl Environ Microbiol* 59:163-169
- Garrison DL, Buck KR, Fryxell GA (1987) Algal assemblages in Antarctic pack ice and in ice-edge plankton. *J Phycol* 23:564-572

- Gieskes WWC, Draay GW (1990) Transmission of ultraviolet light in the Weddell Sea: report of the first measurements made in the Antarctic. *BIOMASS Newsl* (College Station, Tex) 12:12-14
- Gordon LK, Haseltine WA (1982) Quantitation of cyclobutane pyrimidine dimer formation in double- and single-stranded DNA fragments of defined sequence. *Radiat Res* 89:99-112
- Häder DP (ed) (1997) The effects of ozone depletion on aquatic ecosystems, Academic Press, Landes Company, Austin
- Hager A (1970) Ausbildung von Maxima im Absorptionsspektrum von Carotinoiden im Bereich um 370 nm; Folgen für die Interpretation bestimmter Wirkungsspektren. *Planta* 91:38-53
- Hashimoto T, Shichijo C, Yatsuhashi H (1991) Ultraviolet action spectra for the induction and inhibition of anthocyanin synthesis in broom sorghum seedlings. *J Photochem Photobiol B* 11:353-364
- Halldal P (1964) Ultraviolet action spectra of photosynthesis and photosynthetic inhibition in a green and red alga. *Physiol Plant* 17:414-421
- Hamm CE, Simson DA, Merkel R, Smetacek V (1999) Colonies of *Phaeocystis globosa* are protected by a thin but tough skin. *MEPS* (accepted)
- Hanelt D, Wiencke C, Nultsch W (1997) Influence of UV radiation on the photosynthesis of Arctic macroalgae in the field. *J Photochem Photobiol B* 38:40-47
- Heelis PF, Deeble D, Kim ST, Sancar A (1993) Splitting of cyclobutane thymine dimers by radiolysis and its relevance to enzymatic photoreactivation. *Int J Radiat Biol* 62:137-143
- Helbling EW, Villafane V, Ferrario M, Holm-Hansen O (1992) Impact of natural ultraviolet radiation on rates of photosynthesis and on specific marine phytoplankton species. *Mar Ecol Prog Ser* 80:89-100
- Helbling EW, Villafane V, Holm-Hansen O (1994) Effects of ultraviolet radiation on Antarctic marine phytoplankton photosynthesis with particular attention to the influence of mixing. In: Weiler CS, Penhale PA (eds) *Ultraviolet radiation and biological research in Antarctica*. American Geophysical Union, Washington, DC, p 207-227
- Helbling EW, Chalker BE, Dunlap WC, Osmund HH, Villafane VE (1996) Photoacclimation of antarctic marine diatoms to solar ultraviolet radiation. *J Exp Mar Biol Ecol* 204:85-101
- Holm-Hansen O, Lubin D, Helblin EW (1993) Ultraviolet radiation and its effects on Organisms in aquatic environments. In: Young AR, Moan J, Björn LO, Nultsch (eds) *Environmental UV Photobiology*, Plenum Press, New York and London
- Horneck G (1997) Biological UV dosimetry. In: Häder DP (ed) *Effects of ozone depletion on aquatic ecosystems*, RG Landes Company, Austin p119-142
- Hough AM, Derwent RG (1990) Changes in the global concentration of tropospheric ozone due to human activities. *Nature* 344:645-648
- Ito S, Hirata Y (1977) Isolation and structure of a mycosporine from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrahedron Lett* 28:2429-2430

- Jaques G (1983) Some ecophysiological aspects of the Antarctic phytoplankton. *Polar Biol* 27:27-33
- Jeffrey WH, Aas P, Lyons MM, Coffin RB, Pledger RJ, Mitchell DL (1996) Ambient solar radiation-induced photodamage in marine bacterioplankton. *Photochem Photobiol* 1996 64:419-427
- Jones LW, Kok B (1966) Photoinhibition of chloroplast reactions. I. Kinetics and action spectra. *Plant Physiol* 41:1037-1043
- Jones AE, Shanklin JD (1995) Continued decline of total ozone over Halley, Antarctica, since 1985. *Nature* 376:409-411.
- Karentz D (1991) Ecological considerations of antarctic ozone depletion. *Antarctic Science* 3:3-11
- Karentz D, Cleaver JE, Mitchell DL (1991a) Cell survival characteristics and molecular responses of Antarctic phytoplankton to ultraviolet-B radiation. *J Phycol* 27:326-341
- Karentz D, McEuen FS, Land MC, Dunlap WC (1991b) Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Marine Biology* 108:157-166
- Karentz D (1994) Ultraviolet tolerance mechanisms in Antarctic marine organisms. In: Weiler CS, Penhale PA (eds) *Ultraviolet radiation and biological research in Antarctica*, American Geophysical Union, Washington, DC, p 93-110
- Karentz D, Spero HJ (1995) Response of a natural *Phaeocystis* population to ambient fluctuations of UVB radiation caused by Antarctic ozone depletion. *J Plankton Res* 17:1771-1789
- Karsten U, Sawall T, Hanelt D, Bischof K, Figueroa L, Flores-Moya A, Wiencke C (1998) An inventory of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in macroalgae from polar to warm-temperate regions. *Bot Mar* 41:443-453
- Kelner A (1949) The effect of visible light on the recovery of *Streptomyces griseus* conidia from ultraviolet irradiation injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 35:73-79
- Kiefer J (1989) *Biologische Strahlenwirkung*. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin
- Kim S-T, Sancar A (1991) Effect of base, pentose, and phosphodiester backbone structures on binding and repair of pyrimidine dimers by *Escherichia coli* DNA photolyase. *Biochemistry* 30:8623-8630
- Kirk JTO (1994) *Light and photosynthesis in aquatic ecosystems* Ed 2, University Press, Cambridge
- Klocker H, Auer B, Burtscher HJ, Hofmann J, Hirsch-Kaufmann M, Schweiger M (1982) A sensitive radioimmuno assay for thymine dimers. *Mol Gen Genet* 186:475-477
- Kloepfer R, Morrison H (1972) Organic photochemistry XVII. The solution-phase photodimerization of dimethylthymine. *J Am Chem Soc* 94:255-264
- Langer B, Wellmann E (1990) Phytochrome induction of photoreactivating enzyme in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings. *Photochem Photobiol* 52:861-863
- Langer B (1995) *Die Photoreaktivierung in vivo und in vitro in Hypokotylhaken von Phaseolus vulgaris L.* Dissertation, Universität Freiburg

- Lesser MP (1996) Acclimation of phytoplankton to UV-B radiation: oxidative stress and photoinhibition of photosynthesis are not prevented by UV-absorbing compounds in the dinoflagellate *Prorocentrum micans*. MEPS 132:287-297
- López-Figueroa F, Niell FX (1990) Effects of light quality on chlorophyll and biliprotein accumulation in seaweeds. Mar Biol 104:321-327
- Lubin D, Frederick JE, Both CR, Lucas T, Neuschuler D (1989) Measurements of enhanced springtime ultraviolet radiation at Palmer Station, Antarctica. Geophys Res Lett 16:783-785
- Madronich S (1994) Increases in biologically damaging UV-B radiation due to stratospheric ozone reductions: A brief review. Arch Hydrobiol Beih 43:17-30
- Malloy KD, Holman MA, Mitchell D, Detrich HW (1997) Solar UVB-induced DNA damage and photoenzymatic DNA repair in antarctic zooplankton. Proc Natl Acad Sci 94:1258-1263
- Mancinelli AL (1994) The physiology of phytochrome action. In: Kendrick RE, Kronenberg GHM (eds) Photomorphogenesis in plants Ed 2, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht Boston London, p 211-269
- Marchant HJ, Davidson AT, Kelly GJ (1991) UV-B protecting compounds in the marine algae *Phaeocystis pouchetii* from Antarctica. Mar Biol 109:391-395
- Matsunaga T, Hieda K, Nikaïdo O (1991) Wavelength dependent formation of thymine dimers and (6-4)photoproducts in DNA by monochromatic ultraviolet-light ranging from 150 to 365 nm. Photochem Photobiol 54:403-410
- McClintock JB, Karentz D (1997) Mycosporine-like amino acids in 38 species of subtidal marine organisms from McMurdo Sound, Antarctica. Ant Science 9:392-398
- Mitchell DL, Jen J, Cleaver JE (1992) Sequence specificity of cyclobutane pyrimidine dimers in DNA treated with solar (ultraviolet B) radiation. Nucl Acids Res 20:225-229
- Mitchell DL, Karentz D (1993) The induction and repair of DNA photodamage in the environment. In: Young AR, Moan J, Björn LO, Nultsch W (eds) Environmental UV Photobiology, Plenum Press, New York and London, 345-377 p
- Mohr H, Schopfer P (1978) Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- Molina MJ, Rowland FS (1974) Stratospheric sink for chlorofluoromethanes - chlorine atom catalyzed destruction of ozone. Nature 249:810-812
- Mori T, Nakane M, Hattori T, Matsunaga T, Ihara M, Nikaïdo O (1991) Simultaneous establishment of monoclonal antibodies specific for either cyclobutane pyrimidine dimer or (6-4)photoproduct from the same mouse immunized with ultraviolet irradiated DNA. Photochem Photobiol 54:225-232
- Nägeli C (1849) Gattungen einzelliger Algen, physiologisch und systematisch bearbeitet. Neue Denkschrift Allg Schweiz Natur Ges 10:1-138
- Nakamura H, Kobayashi J, Hirata Y (1982) Separation of mycosporine-like amino acids in marine organisms using reversed-phase high-performance liquid chromatography. J Chromat 250:113-118

- Neale PJ, Davis RF, Cullen JJ (1998a) Interactive effects of ozone depletion and vertical mixing on photosynthesis of Antarctic phytoplankton. *Nature* 392:585-589
- Neale PJ, Banaszak AT, Jarriel CR (1998b) Ultraviolet sunscreens in *Gymnodinium sanguineum* (Dinophyceae): Mycosporine-like amino acids protect against inhibition of photosynthesis. *J Phycol* 34:928-938
- Ninnemann H (1980) Blue light photoreceptors. *BioScience* 30:166-170
- Ninnemann H (1995) Some aspects of blue light research during the last decade. *Photochem Photobiol* 61:22-31
- Pang Q, Hays JB (1991) UV-B-inducible and temperature-sensitive photoreactivation of cyclobutane pyrimidine dimers in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 95:536-543
- Peletier H, Gieskes WW, Buma AGJ (1996) Ultraviolet-B radiation resistance of benthic diatoms isolated from tidal flats in the Dutch Wadden Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 135:163-168
- Perovich DK (1993) A theoretical model of ultraviolet transmission through Antarctic Sea Ice. *J Geophys Res* 98:22579-22587
- Peters E, Thomas DN (1996) Prolonged darkness and diatom mortality I: Marine Antarctic species. *J Exp Mar Biol Ecol* 207:25-41
- Prézelin BB, Moline MA, Matlick HA (1998) Icecolors '93: Spectral UV radiation effects on Antarctic frazil ice algae. In MP Lizotte, KR Arrigo (eds) *Antarctic Sea Ice: Biological Processes, Interactions and Variability*. Antarctic Res Ser Vol 73, American Geophysical Union, Washington, DC, p 45-83
- Ruyters G (1989) Einfluß der Lichtqualität auf den Stoffwechsel von Algen. *Biol Rundsch* 27:7-21
- Quaite FE, Sutherland BM, Sutherland JC (1992). Action spectrum for DNA damage in alfalfa lowers predicted impact of ozone depletion. *Nature* 358:576-578
- Riegger L (1991) Zur Schutzfunktion von Flavonoiden und DNA-Photolyase vor Thymindimer-Bildung in Blättern von *Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.f. *alba*. Diplomarbeit, Universität Freiburg
- Rijssel M van, Hamm CE, Gieskes WWC (1997) *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) colonies: hollow structures build with small amounts of polysaccharides. *Eur J Phycol*. 32:185-192
- Rupert CS (1962a) Photoenzymatic repair of ultraviolet damage in DNA. I Kinetics of the reaction. *J Gen Physiol* 45:703-724
- Rupert CS (1962b) Photoenzymatic repair of ultraviolet damage in DNA. II Formation of the enzyme substrate complex. *J Gen Physiol* 45:719-723
- Rousseau V, Vaultot D, Casotti R, Cariou V, Lenz J, Gunkel J, Baumann MM (1994) The life cycle of *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae): Evidence and hypotheses. *J Mar Systems* 5:23-39
- Roy CR, Gies HP, Tomlinson DW (1994) Effects of ozone depletion on the ultraviolet radiation environment at the Australian Stations in Antarctica. In: Weiler CS, Penhale PA (eds) *Ultraviolet radiation and biological research in Antarctica*. American Geophysical Union, Washington, DC, p1-15

- Rundel RD (1983) Action spectra and estimation of biologically effective UV radiation. *Physiol Plant* 58:360-366
- Rupert CS (1962a) Photoenzymatic repair of ultraviolet damage in DNA. I Kinetics of the reaction. *J Gen Physiol* 45:703-724
- Rupert CS (1962b) Photoenzymatic repair of ultraviolet damage in DNA. II Formation of the enzyme substrate complex. *J Gen Physiol* 45:719-723
- Saito N, Werbin H (1969) Action spectrum for a DNA-photoreactivating enzyme in higher plants. *Photochem Photobiol* 9:389-393
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T (1989) *Molecular cloning: A Laboratory manual*. Cold Spring Harbour Laboratory, Cold Spring Harbour, New York
- Sancar A (1994a) Mechanisms of DNA excision repair. *Science* 266:1954-1958
- Sancar A (1994b) Structure and function of DNA photolyase. *Biochemistry* 33:2-9
- Sancar A, Sancar GB (1988) DNA repair enzymes. *Ann Rev Biochem* 28(57):29-67
- Sancar A, Tang MS (1993) Photobiology School: Nucleotide excision repair. *Photochem Photobiol* 57:905-921
- Sancar GB, Smith FW, Sancar A (1985) Binding of *Escherichia coli* DNA photolyase to UV-irradiated DNA. *Biochemistry* 24:1849-1855
- Scharek R (1991) Die Entwicklung des Phytoplanktons im östlichen Weddellmeer (Antarktis) beim Übergang vom Spätwinter zum Frühjahr. *Ber Polarforsch* 94
- Scharek R, Smetacek V, Fahrbach E, Gordon LI, Rohardt G, Moore S (1993) The transition from winter to spring in the eastern Weddell Sea, Antarctica. I Phytoplankton and suspended matter in the eastern Weddell Gyre. *Deep Sea Res I* 41:1231-1250
- Schofield O, Kroon BMA, Prézelin BB (1995) Impact of ultraviolet-B radiation on photosystem II activity and its relationship to the inhibition of carbon fixation rates for antarctic ice algae communities. *J Phycol* 31:703-715
- Schuman-Jorns M, Baldwin ET, Sancar GB, Sancar A (1987) Action mechanism of *Escherichia coli* DNA photolyase. II. Role of the chromophores in catalysis. *J Biol Chem* 262:486-491
- Setlow RB, Carrier WL (1966) Pyrimidine dimers in ultraviolet irradiated DNA's. *J Mol Biol* 17:237-254
- Setlow RB (1974) The wavelengths in solar radiation effective in producing skin cancer: A theoretical analysis. *Proc Nat Acad Sci USA* 71:3363-3366
- Shibata K (1969) Pigments and a UV-absorbing substance in corals and a blue-green alga living in the Great Barrier Reef. *Plant and Cell Physiol* 10:325-335
- Shick JM, Lesser MP, Stochaj WR (1991) Ultraviolet radiation and the photooxidative stress in zooxanthellate anthozoa: The sea anemone *Phyllodiscus semoni* and the octocoral *Clavaria* sp. *Symbiosis* 10:145-173
- Smetacek V, Scharek R, Gordon LI, Eicken H, Fahrbach E, Rohardt G, Moore S (1992) Early spring phytoplankton blooms in ice platelet layers of the southern Weddell Sea, Antarctica. *Deep-Sea Res* 39:153-168
- Smith RC, Baker KS (1979) Penetration of UV-B and biologically effective dose-rates in natural waters. *Photochem Photobiol* 29:311-323

- Smith RC, Nelson DM (1990) Phytoplankton growth and new production in the Weddell Sea marginal ice Zone in the austral spring and autumn. *Limnol Oceanogr* 35:809-821
- Smith RC, Prézelin BB, Baker KS, Bidigare RR, Boucher NP, Coley T, Karentz D, Coley D, MacIntyre S, Matlick HA, Menzies D, Ondrusek M, Wan Z, Waters KJ (1992) Ozone depletion: Ultraviolet radiation and phytoplankton biology in antarctic waters. *Science* 255:952-959
- Stochaj WR, Dunlap WC, Shick JM (1994) Two new UV-absorbing mycosporine-like amino acids from the sea anemone *Anthopleura elegantissima* and the effects of zooxanthellae and spectral irradiance on chemical composition and content. *Mar Biol* 118:149-156
- Stosch von JA, Drebes G (1964) Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentralen Diatomeen. IV: Die Planktondiatomee *Stephanopyrix turris*, ihre Behandlung und Entwicklungsgeschichte. *Helgoländer Wiss Meeresunters* 11:209-257
- Strickland JDH, Parsons TR (1972) A practical handbook of seawater analysis. 2nd ed. *Bull fish Res Bd Canada*
- Strid A, Chow WS, Anderson JM (1994) UV-B damage and protection at the molecular level in plants. *Photosyn Res* 39:475-489
- Sullivan CW, McClain CR, Comiso JC, Smith WOJ (1988) Phytoplankton standing crops within an Antarctic ice edge assessed by satellite remote sensing. *J Geophys Res* 93:12487-12498
- Sutherland BM (1981) Photoreaktivierende Enzymes. In: PD Boyer (ed) *The Enzymes*, Vol. XIV, Nucleic Acids, Part A. Academic Press, New York p 481-515
- Takano S, Uemura D, Hirata Y (1978) Isolation and structure of a new amino acid, palythanol and palythene, from zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrahydron Lett* 49:4909-4912
- Trodahl HJ, Buckley RG (1990) Enhanced ultraviolet transmission of Antarctic Sea Ice during the austral spring. *Geophys Res Lett* 17:2177-2179
- Tüg H, Baumann MEM (1994) Problems of UV-B radiation measurements in biological research. Critical remarks on current techniques and suggestions for improvements. *Geophys Res Lett* 21:689-692
- Utermöhl H (1958) Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Int Ver Theor Angewandte Limnol Mitt* 9:1-38
- Vernet M, Brody EA, Holm-Hansen O, Mitchell BG (1994) The response of Antarctic phytoplankton to ultraviolet radiation: absorption, photosynthesis, and taxonomic composition. In: Weiler CS, Penhale PA (eds) *Ultraviolet radiation and biological research in Antarctica*. American Geophysical Union, Washington, DC, p 143-158
- Villafane VE, Helbling EW, Holm-Hansen O, Chalker BE (1995) Acclimatization of Antarctic natural phytoplankton assemblages when exposed to solar ultraviolet radiation. *J Plankton Res* 17:2295-2306
- Vincent WF, Roy S (1993) Solar ultraviolet-B radiation and aquatic primary production: damage, protection, and recovery. *Environ Rev* 1:1-12

- 
- Weiler S, Penhale P (eds) (1994) Ultraviolet radiation and biological research in Antarctica Vol 62, American Geophysical Union, Washington, DC
- Worrest RC (1983) Impact of solar ultraviolet-B radiation (290-320 nm) upon marine microalgae. *Physiol Plant* 58:428-434
- Yasuhira S, Yasui A (1992) Visible light-inducible photolyase gene from the goldfish *Carassius auratus*. *J Biol Chem* 267:25644-25647
- Zwally HJ, Comiso JC, Parkinson CL, Campbell WJ, Carsey FD, Gloersen P (1983) Antarctic sea ice, 1973-1976: satellite passive-microwave observations. NASA, Washington (NASA SP, 459)

## DANKSAGUNG

An dieser Stelle bedanke ich mich ganz herzlich bei meinen Prüfern und Gutachern:

- Prof. Dr. Victor Smetacek für die Vergabe des Themas und die Anregungen zu dieser Arbeit.
- PD Dr. Christian Wiencke für die Übernahme des Korreferates.
- Dr. habil. Dieter Hanelt für die Korrektur des Manuskriptes und die Teilnahme an der Prüfungskommission.
- Prof. Dr. G. Kirst für die Teilnahme an der Prüfungskommission.

Weiterhin möchte ich allen danken, die in der einen oder anderen Weise zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben:

- Dale Robinson für die anregende, unterstützende und freundschaftliche Zusammenarbeit und Betreuung.
- Der Arbeitsgruppe von Prof. E. Wellmann in Freiburg, die mir einen Arbeitsplatz und alle Materialien zur Durchführung der Antikörpertests zur Bestimmung der Dimere zur Verfügung stellten. Insbesondere danke ich Günter Buchholz für seine Unterstützung bei der Lösung von kniffligen Problemen bei der Bearbeitung der Proben und für viele anregende Diskussionen.
- Marcus Baumann für seine Betreuung zu Beginn der Arbeit.
- Bernd Kroon für viele Anregungen und hilfreiche Korrekturen.
- Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Sektion Biologie II, insbesondere Helga Schwarz, Rüdiger Röttgers, Gerhard Dieckmann, Christian Hamm, Sven Günter, Steffen Burckhard, Markus Gleitz, Inga Hense, Uschi Wellbrock, Corinna Dubischar, Dick Crawford und Uli Bathmann sowie Heiko Jansen und Michael Tibcken für die Unterstützung in vielerlei Hinsicht.
- Stefan Sievert, Torsten Schlusche, Siecke Martin und Fite Kersting für das Lesen diverser Teilentwürfe dieser Arbeit und ihre hilfreichen Anregungen.
- Den Mitgliedern der Meßstelle für Arbeits- und Umweltschutz (MAUS) für ihre finanzielle, aber auch sonstige Unterstützung.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei meinen Freundinnen und Freunden, die mich in den schwierigen Zeiten in vielfältiger Weise unterstützten. Mein ganz besonderer Dank gilt Volker Hormann für seine liebevolle Unterstützung, sein Interesse an interdisziplinären Fragen und seine anregenden Diskussionsbeiträge und Korrekturen.

Gedankt sei auch all denjenigen, die nicht namentlich erwähnt wurden, deren Hilfe aber dennoch zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen hat.

## 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 Mikronektonnetzfänge  
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 ‚Polarstern‘ (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 Grundschnepnetznetzfänge und Liste der Probenahme 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 Fahrleiters 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 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 physio-geographische Forschungen in der Antarktis. – Bericht über die Kampagne 1983/84“ von Dietrich Barsch, Wolf-Dieter Blümel, Wolfgang Flügel, Roland Mäusbacher, Gerhard Stäblein, 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** – „Spätpleistozäne 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 antarktischen 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 Hoerber 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 Sigrüd 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 Brodschöll
  - **Heft Nr. 49/1988** – „Zur Bedeutung der Lipide im antarktischen Zooplankton“ von Wilhelm Hagen
  - **Heft Nr. 50/1988** – „Die zeitenbedingte 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. Meinke 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 Kellerermann
  - 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 beschalten 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. Kurbjewit 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 (Südhellandinseln, 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** – „Paläoglazologie und Paläozeanographie im Spätquartär am Kontinentalrand des südlichen Weddellmeeres, Antarktis“, von Martin Melles
  - Heft Nr. 82/1991** – „Quantifizierung von Meereseigenschaften: 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-Meereres 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, Nordpolarmeere“, 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 Mariefeld
- Heft Nr. 97/1991 – „Strukturelle Entwicklung und Abkühlungsgeschichte von Heimfrontfjella (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 Meerwasser 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 Köttmeier 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 norwestlichen Weddellmeeres“, von Isa Brehme.
  - Heft Nr. 111/1992 – „Die Lebensbedingungen in den Solekanälchen des antarktischen Meeres“, 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 Katthner.
  - 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 Heimfrontfjella (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 Spätquartier 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 Kurbjweit
- Heft Nr. 130/1993** – „Untersuchungen zu Temperaturregime und Massenhaushalt des Filchner-Ronne-Schelfeises, Antarktis, unter besonderer Berücksichtigung von Anfríer- 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 halogenierter Kohlenwasserstoffe durch Makroalgen der Polarregionen“, von Frank Laturnus
- Heft Nr. 133/1994** – „Radiation and Eddy Flux Experiment 1993 (REFLEX II)“, by Christoph Koltmeier, Jörg Hartmann, Christian Wamser, Axel Bocher, 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 kánozoische 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 Heidmarie Kassens, Hans-Wolfgang Hubberten, Sergey M. Pryamikov and 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 Gerd 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 Heidmarie 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 and 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 – „Meerestransportiertes lithogenes Feinmaterial in spätquartären Tiefseesedimenten des zentralen 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 Meereismodells 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 einer 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 Heimfrontjella (westliches Dronning Maud Land/Antarktika)“, von Wilfried Bauer.
  - Heft Nr. 172/1995 – „Die Struktur der Erdkruste im Bereich des Scoresby Sund, Ostgrönland: Ergebnisse refraktionseismischer 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 Gmityr 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 Eisdriftanzeiger 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 Aphroditen und Polynoiden (Polychaeta) im östlichen Weddellmeer 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 Gerion 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 Oncaeiidae (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 Bocher.
- 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): Freilandbeobachtungen, 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 Bocher, 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 Jokat 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 Lukas und 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 Rächor.

**Heft Nr. 227/1997** – „Der Einfluß kompatibler Substanzen und Kryoprotektoren auf die Enzyme Malatdehydrogenase (MDH) und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) aus *Acrosiphonia arcta* (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 *Emiliania huxleyi* und der antarktischen Diatomee *Nitzschia lecontei*“, von Doris Meyerdierrks.

**Heft Nr. 234/1997** – „Die Expedition ARCTIC '96 des FS ‚Polarstern‘ (ARK XIII) 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. Bolshiyarov.

**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 in 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 Graw, 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 Adreas Starms.

**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 Bungee-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 flugzeuggetragener 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 'Akademic 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 Jokut und Hans Orter.
- 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, Per Loewe, Dominik Weiel, Hartmut Nies, Gesa Kuhlmann, Christian Bahe and Gennady Tarasov.
- Heft Nr. 272/1998** – „FTIR-Emissionsspektroskopische Untersuchungen der arktischen Atmosphäre“, von Edo Becker.
- 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 von 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 Koordinierten 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 von aquatischen Palynomorphen“, von Martina Kunz-Pirrung.
- 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 Utschakowski.
- Heft Nr. 293/1998** – „Rekonstruktion der spätquartären Klima- und Umweltgeschichte der Schirmacher Oase und des Wohlthät 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, Antarctica, 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 Ravegnani, Andreas Reuter, Giuliano Trivellone and Angelo 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 R. 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 Meereisdrift 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** – „Adaption an niedrige Temperaturen: Lipide in Eisdiatomeen“, von Heidi Lehmal.
- Heft-Nr. 318/1999** – „Effiziente parallele Lösungsverfahren für elliptische partielle Differentialgleichungen in der numerischen Ozeanmodellierung“, von Natalja Rakowsky.

**Heft-Nr. 319/1999** – „The Ecology of Arctic Deep-Sea Copepods (Euchaetidae and Aetideidae). Aspects of their Distribution, Trophodynamics and Effect on the Carbon Flux“, by Holger Auel.

**Heft-Nr. 320/1999** – „Modellstudien zur arktischen stratosphärischen Chemie im Vergleich mit Meßdaten“, von Veronika Eyring.

**Heft-Nr. 321/1999** – „Analyse der optischen Eigenschaften des arktischen Aerosols“, von Dagmar Nagel.

**Heft-Nr. 322/1999** – „Messungen des arktischen stratosphärischen Ozons: Vergleich der Ozonmessungen in Ny-Ålesund, Spitzbergen, 1997 und 1998“, von Jens Langer

**Heft-Nr. 323/1999** – „Untersuchung struktureller Elemente des südöstlichen Weddellmeeres / Antarktis auf der Basis mariner Potentialfelddaten“, von Uwe F. Meyer.

**Heft-Nr. 324/1999** – „Geochemische Verwitterungstrends eines basaltischen Ausgangsgesteins nach dem spätpleistozänen Gletscherrückzug auf der Taimyrhalbinsel (Zentralsibirien) - Rekonstruktion an einer sedimentären Abfolge des Lama Sees“, von Stefanie K. Harwart.

**Heft-Nr. 325/1999** – „Untersuchungen zur Hydrologie des arktischen Meereises - Konsequenzen für den kleinskaligen Stofftransport“, von Johannes Freitag.

**Heft-Nr. 326/1999** – „Die Expedition ANTARKTIS XIV/2 des Forschungsschiffes 'Polarstern' 1998“, herausgegeben von Eberhard Fahrbach.

**Heft-Nr. 327/1999** – „Gemeinschaftsanalytische Untersuchungen der Harpacticoidenfauna der Magellanregion, sowie erste similitäranalytische Vergleiche mit Assoziationen aus der Antarktis“, von Kai Horst George.

**Heft-Nr. 328/1999** – „Rekonstruktion der Paläo-Umweltbedingungen am Laptev-See-Kontinentalrand während der beiden letzten Glazial/Interglazial-Zyklen anhand sedimentologischer und mineralogischer Untersuchungen“, von Claudia Müller.

**Heft-Nr. 329/1999** – „Räumliche und zeitliche Variationen atmosphärischer Spurengase aus bodengebundenen Messungen mit Hilfe eines Michelson Interferometers“, von Justus Notholt.

**Heft-Nr. 330/1999** – „The 1998 Danish-German Excursion to Disko Island, West Greenland“, edited by Angelika Brandt, Helge A. Thomsen, Henning Heide-Jørgensen, Reinhardt M. Kristensen and Hilke Ruhberg.

**Heft-Nr. 331/1999** – „Poseidon“ Cruise No. 243 (Reykjavik - Greenland - Reykjavik, 24 August - 11 September 1998): Climate change and the Viking-age fjord environment of the Eastern Settlement, sw Greenland“, by Gerd Hoffmann, Antoon Kuijpers, and Jörn Thiede.

**Heft-Nr. 332/1999** – „Modeling of marine biogeochemical cycles with an emphasis on vertical particle fluxes“, by Regina Usbeck.

**Heft-Nr. 333/1999** – „Die Tanaidaceenfauna des Beagle-Kanals und ihre Beziehungen zur Fauna des antarktischen Festlandssockels“, von Anja Schmidt.

**Heft-Nr. 334/1999** – „D-Aminosäuren als Tracer für biogeochemische Prozesse im Fluß-Schelf-Ozean-System der Arktis“, von Hans Peter Fitznar.

**Heft-Nr. 335/1999** – „Ökophysiologische Ursachen der limitierten Verbreitung reptanter decapoder Krebse in der Antarktis“, von Markus Frederich.

**Heft-Nr. 336/1999** – „Ergebnisse der Untersuchung des grönländischen Inlandeises mit dem elektromagnetischen Reflexionsverfahren in der Umgebung von NGRIP“, von Fidan Göktas.

**Heft-Nr. 337/1999** – „Paleozoic and mesozoic tectono-thermal history of central Dronning Maud Land, East Antarctica, – evidence from fission-track thermochronology“, by Stefanie Meier.

**Heft-Nr. 338/1999** – „Probleme hoher Stoffwechselraten bei Cephalopoden aus verschiedenen geographischen Breiten“, von Susanne Zielinski.

**Heft-Nr. 339/1999** – „The Expedition ARKTIS XV/1“, edited by Gunther Krause.

**Heft-Nr. 340/1999** – „Microbial Properties and Habitats of Permafrost Soils on Taimyr Peninsula, Central Siberia“, by Nicolé Schmidt.

**Heft-Nr. 341/1999** – „Photoacclimation of phytoplankton in different biogeochemical provinces of the Southern Ocean and its significance for estimating primary production“, by Astrid Bracher.

**Heft-Nr. 342/1999** – „Modern and Late Quaternary Depositional Environment of the St. Anna Trough Area, Northern Kara Sea“, edited by Ruediger Stein, Kirsten Fahl, Gennadij I. Ivanov, Michael A. Levitan, and Gennady Tarasov.

**Heft-Nr. 343/1999** – „ESF-IMPACT Workshop/Oceanic impacts: mechanisms and environmental perturbations, 15 - 17 April 1999 in Bremerhaven“, edited by Rainer Gersonde and Alexander Deutsch.

**Heft-Nr. 344/1999** – „Die Klimageschichte der hohen nördlichen Breiten seit dem mittleren Miozän: Hinweise aus sedimentologischen- und mineralogischen Analysen (OPD Leg 151, zentrale Framstraße)“, von Amelie Winkler.

**Heft-Nr. 345/1999** – „Kurzfristige Klimaschwankungen im Scotiamer und Ergebnisse zur Kalbungsgeschichte der Antarktis während der letzten 200 000 Jahre“, von Annette Hofmann.

**Heft-Nr. 346/2000** – „Glazialmarine Sedimentationsentwicklung am westantarktischen Kontinentalrand im Amundsen- und Bellingshausenmeer - Hinweise auf Paläumweltveränderungen während der quartären Klimazyklen“, von Claus-Dieter Hillenbrand

**Heft-Nr. 347/2000** – „Zur Ökologie des Phytoplanktons im arktischen Laptevmeer - ein jahreszeitlicher Vergleich“, von Kirsten Tuschling.

**Heft-Nr. 348/2000** – „Untersuchungen zum Fettstoffwechsel des Südlichen See-Elefanten (*Mirounga leonina* L.) in der Antarktis“, von Sven Ramdohr.

**Heft-Nr. 349/2000** – „Licht- und Temperatureinfluß auf den enzymatischen Oxidationsschutz der antarktischen Eisdiatomee *Entomoneis kufferathii* Manguin“, von Raimund Schriek.

**Heft-Nr. 350/2000** – „Die Expedition ARKTIS XV/3 des Forschungsschiffes 'Polarstern' 1999“  
herausgegeben von Ursula Schauer.

**Heft-Nr. 351/2000** – „Dissolution kinetics of biogenic silica in marine environments“, by Dirk Rickert.

**Heft-Nr. 352/2000** – „Geometrie und Kinematik des tertiären Deckenbaus im West Spitzbergen Falten- und Überschiebungsgürtel, Brøggerhalvøya, Svalbard“, von Kerstin Saalman.

**Heft-Nr. 353/2000** – „Zur Ökologie der Benthos-Foraminiferen der Potter Cove (King George Island, Antarktis)“, von Michaela Mayer.

**Heft-Nr. 354/2000** – „Expeditions in Siberia in 1999“, edited by Volker Rachold.

**Heft-Nr. 355/2000** – „Temperaturrekonstruktion im Tropischen Atlantik für das Letzte Glaziale Maximum: CLIMAP neu betrachtet.“, von Carsten Porthun.

**Heft-Nr. 356/2000** – „Niederfrequente Variabilität großräumiger atmosphärischer Zirkulationsstrukturen in spektralen Modellen niedrigerer Ordnung“, von Antje Weisheimer.

**Heft-Nr. 357/2000** – „Late Quaternary paleoclimatic reconstructions along the Eurasian continental margin“, by Hans Peter Kleiber.

**Heft-Nr. 358/2000** – „Holocene environmental history of East Greenland - evidence from lake sediments“, by Bernd Wagner.

**Heft-Nr. 359/2000** – „Scientific Cooperation in the Russian Arctic: Ecology of the White Sea with Emphasis on its Deep Basin“, edited by Eike Rachor.

**Heft-Nr. 360/2000** – „Scientific Cruise Report of the Joint Russian-German Kara-Sea Expedition of RV 'Akademik Boris Petrov' in 1999“, edited by Ruediger Stein and Oleg Stepanets.

**Heft-Nr. 361/2000** – „Planktic foraminifer ecology and stable isotope geochemistry in the Arctic Ocean: implications from water column and sediment surface studies for quantitative reconstructions of oceanic parameters“ by Renate Volkmann.

**Heft-Nr. 362/2000** – „Eisbohrkernuntersuchungen zur räumlichen und zeitlichen Variabilität von Temperatur und Niederschlagsrate im Spätholozän in Nordgrönland“, von Matthias Schwager.

**Heft-Nr. 363/2000** – „Benthische Peracarida (Crustacea, Malacostraca) des arktischen Mellemfjordes, West-Grönland“, von Anne-Nina Lörz.

**Heft-Nr. 364/2000** – Die Expeditionen ANTARKTIS XVI / 3-4 des Forschungsschiffes „POLARSTERN“ 1999, herausgegeben von Ulrich Bathmann, Victor Smetacek und Manfred Reinke.

**Heft-Nr. 365/2000** – „Organic carbon in Late Quaternary sediments: Responses to paleoenvironmental changes in the Laptev and Kara seas (Arctic Ocean)“ by Bettina Boucsein.

**Heft-Nr. 366/2000** – „Flugzeuggestützte Topographie- und Schweremessung: Meßsystem und Anwendung auf die Region Framstraße, Spitzbergen und Nordostgrönland“, von Tobias Boebel.

**Heft-Nr. 367/2000** – „Messung dielektrischer Eigenschaften polarer Eiskerne“, von Frank Wilhelms.

**Heft-Nr. 368/2000** – „The Expedition ARKTIS-XV/2 of RV 'Polarstern' in 1999“, edited by Wilfried Jokat.

**Heft-Nr. 369/2000** – „Interpretation seismischer und gravimetrischer Daten des Weddellmeeres, Antarktis“, von Johannes Rogenhagen.

**Heft-Nr. 370/2000** – „Struktureigenschaften und Nahrungsbedarf der Zoobenthosgemeinschaften im Bereich des Lomonossowrückens im Arktischen Ozean“, von Hendrik Deubel.

**Heft-Nr. 371/2000** – „Die Rolle der Schneebedeckung für die Kryptogamen-Vegetation in der maritimen Antarktis (Potter-Halbinsel, King George Island)“, von Jana Barbro Winkler.

**Heft-Nr. 372/2000** – „Biodiversity of the Weddell Sea: macrozoobenthic species (demersal fish included) sampled during the expedition ANT XIII/3 (EASIZ I) with RV 'Polarstern'“, edited by Julian Gutt, Boris I. Sirenko, Wolf E. Arntz, Igor S. Smirnov, and Claude De Broyer.

**Heft-Nr. 373/2000** – „Benthische Foraminiferen im Boreas-Becken, Grönlandsee: Verbreitung und paläo-ozeanographische Rekonstruktionen für die letzten 450.000 Jahre“, von Sabine Magnus.

**Heft-Nr. 374/2000** – „Scherwellendoppelbrechungsanalyse von Registrierungen der Stationen des seismologischen Netzwerkes an der Neumayer Station, Antarktis: Seismische Anisotropie und die tektonische Entwicklung des Kontinentalrandes Queen Maud Lands“, von Christian Müller.

**Heft-Nr. 375/2000** – „Effects of enhanced UV-radiation on photosynthesis of Arctic/cold-temperate macroalgae“, by Kai Bischof.

**Heft-Nr. 376/2000** – „Saisonalität und kurzperiodische Variabilität des Seesalz-Aerosols und des bodennahen Ozons in der Antarktis (Neumayer-Station) unter Berücksichtigung der Meereisbedeckung“, von Jörg Hofmann.

**Ab dem Heft-Nr. 377 erscheint die Reihe unter dem Namen:  
„Berichte zur Polar- und Meeresforschung“**

**Heft-Nr. 377/2000** – „Rekrutierungsmuster ausgewählter Wattfauna nach unterschiedlich strengen Wintern“  
von Matthias Strasser

**Heft-Nr. 378/2001** – „Der Transport von Wärme, Wasser und Salz in den Arktischen Ozean“, von Boris Cisewski

**Heft-Nr. 379/2001** – „Analyse hydrographischer Schnitte mit Satellitenaltimetrie“, von Martin Losch

**Heft-Nr. 380/2001** – „Die Expeditionen ANTARKTIS XI/1-2 des Forschungsschiffes POLARSTERN 1998/1999“, herausgegeben von Eberhard Fahrbach und Saad El Naggar.

**Heft-Nr. 381/2001** – „UV-Schutz- und Reparaturmechanismen bei antarktischen Diatomeen und *Phaeocystis antarctica*“, von Lieselotte Riegger.

- \* vergriffen/out of print.
- \*\* nur noch beim Autor/only from the author.