

# Sammeln und Untersuchungsmethoden von Diatomeen (Kieselalgen)

Zusammengestellt von Eberhard Raap

## 1. Fundstellen und Entnahme

### *Plankton*

Mittels eines feinen Planktonnetzes werden frei schwimmende Diatomeen aus einem Gewässer entnommen. Hier ist besonders auch auf den Frühlingsauftrieb nach der Schneeschmelze zu achten. Die Diatomeen finden gerade im Frühjahr gute Entwicklungsbedingungen vor und werden durch die Assimilationsprodukte zur Gewässeroberfläche aufgetrieben.

### *Aufwuchs*

Einige Diatomeenarten bilden auf Steinen, auf feuchtgehaltenen Pflanzen (Moose), an Unterwasserpflanzen und Großalgen, an Felswänden, an Holzpfählen oder an lange im Wasser liegenden Bootsleinen einen Aufwuchs. Diesen Aufwuchs kratzt man mit einem kleinen Schaber ab, auch ein ausgedienter Pfeifenreiniger tut gute Dienste. Bei Moosen zum Beispiel ist ein Ausdrücken sehr dienlich. Bei KRAMMER (1986) wird darauf hingewiesen, dass gerade in den Alpen oder Mittelgebirgen in diesen Moosausquetschungen z.B. die seltene Diatomee *Surirella spiralis* zu finden ist.

## 2. Aufbewahrung und Konservierung

Nach einer gewissen Aufkonzentrierung z.B. durch Dekantieren oder Zentrifugieren, wird das Probematerial in gut verschließbare, am besten verschraubbare Glasröhrchen (5-10 ml) abgefüllt. Um die Diatomeen, vor allen Dingen in der warmen Jahreszeit bis zur Präparation, vor Fäulnis zu schützen, werden wenige Tropfen Formalin zugegeben, die neue Formalinkonzentration des Algengemisches sollte dann weit unter 1 % liegen. Von GÖKE wird auch eine Konservierung mit Chinosol vorgeschlagen. Dieses Mittel in Tablettenform lässt sich auch gut auf Fernreisen mitnehmen.

**Alle Proben gut beschriften:** Inhalt, Probenahmeort, Datum, Konservierungsmittel, zum Beschriften ist ein Bleistift zu empfehlen, da nicht durch Lösungsmittel angreifbar.

## 3. Reinigung

### *Schalen-Präparation durch thermische Oxidation*

1. Diatomeenmaterial auf ein Deckglas auftropfen und an der Luft trocknen lassen
2. Deckglas danach auf eine glatte Metallplatte (Silber) oder Glimmerplättchen auflegen und über eine Bunsenbrennerflamme veraschen. (s. Bild Glühschaufel).
3. Nachdem Abkühlen durch ein Salzsäurebad ziehen, in dest. Wasser tauchen und auf einem Stück Filterpapier trocknen.
4. Einschließen mit hochbrechendem Einschlussarz.

Vorteil: Bänderförmige Diatomeen bleiben erhalten! Zeigt sehr schnell Schalenstrukturen zur Bestimmung.

## **Schalen-Präparation durch chemische Oxidation**

### *Vorreinigung*

1. Auswaschen des Konservierungsmittels
2. Versetzen der Probe mit etwas Salzsäure und Erwärmen bis zum Sieden damit die vorhandenen Karbonate zerstört werden.
3. Waschen mit Wasser und dest. Wasser, damit die Calciumionen entfernt werden, sie bilden sonst anschließend mit der Schwefelsäure Gipskristalle.

### *Reinigungsverfahren I*

1. In einem Erlmeyerkolben (250 ml) wird die wässrige Probe mit etwas konz. Schwefelsäure versetzt und auf einer Kochplatte erhitzt. Mittels einer Pipette wird immer etwas einer gesättigten Kaliumpermanganat-Lsg. tropfenweise zugegeben. Man wartet immer wieder ab, bis der violette Farbton verschwunden ist. Bleibt dann der violette Farbton etwa eine Viertelstunde erhalten, so ist die Oxidation beendet.
2. Mittels vorsichtiger tropfenweiser Zugabe einer gesättigten Oxalsäurelösung verschwindet die violette Restfärbung.
3. Abkühlen und mit Wasser, bzw. dest. Wasser reinwaschen, alle Chemiereste müssen verschwunden sein.
4. Abfüllen in kleine dicht schließende Fläschchen, gegen Verpilzung ganz wenig (nur ein paar Tropfen) Formalin zugeben.

### *Reinigungsverfahren II*

1. Man entfernt in einem Erlmeyerkolben (250 ml) soweit wie möglich das über der Algenprobe stehende Wasser vorsichtig mit der Pipette und gibt danach im reichlichen Überschuss konzentrierte Schwefelsäure hinzu. Dieses Gemisch verfärbt sich augenblicklich dunkel, da die organischen Bestandteile bis zum Kohlenstoff abgebaut werden. Dieses Gemisch wird bis sich weiße Dämpfe zeigen etwa 20 min. erhitzt.
2. Nach 20 min. gibt man vorsichtig tropfenweise ges. Kaliumpermanganat-Lösung zu. **ACHTUNG: Diese Arbeiten nur unter einem Abzug oder im Freien vornehmen.** Bei der Zugabe der Lösung kann es zum Spritzen kommen, daher äußerste **Vorsicht** walten lassen! **Unbedingt Schutzbrille tragen!** Der Vorgang muss solange vorgenommen werden, bis die Entfärbung der zugegebenen Kaliumpermanganat-Lösung über längere Zeit erhalten bleibt. Danach erfolgt wie unter Methode I beschrieben eine Entfärbung durch Oxalsäure. **Bei Verätzungen mit konz. Schwefelsäure erst die Säure mit Lappen abwischen, danach gründlich mit Wasser spülen!**
3. Nach Abkühlung schüttet man dieses Diatomeen-Säuregemisch vorsichtig in ein mit Wasser gefülltes Becherglas (500ml), **nicht umgekehrt** und wäscht anschließend das Material mit Wasser bzw. dest. Wasser sauber. Man lässt dabei immer wieder die Diatomeen dekantieren und reduziert dabei langsam das Volumen. Anschließend wird das Material in kleinen Probefläschchen mit wenig Formalinzusatz aufbewahrt.

### **Einige wichtige Chemikalien, Geräte und Ausrüstungen zur Aufbereitung:**

1. Gesättigte Kaliumpermanganatlösung  $\text{KMnO}_4$  (6,4 g in 100 ml Wasser bei 20 °C)
2. Gesättigte Oxalsäurelösung  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (9 g in 100 ml Wasser bei 20 °C)
3. Schwefelsäure konz.
4. Schutzbrille
5. Schutzhandschuhe
6. Arbeitsschutzkittel
7. Kochplatte, Glimmerblättchen oder Silberplatte, Bunsenbrenner, dest. Wasser, Bechergläser, Erlmeyerkolben etc.

#### 4. Diatomeenpräparation- Anfertigung von Streupräparaten

1. Deckgläser werden Ø 12 bzw Ø 15 mm sauber und fettfrei benötigt
2. Auf ein Deckglas wird mit einer sauberen Pipette ein Tropfen einer stark verdünnten Diatomeenlösung aufgebracht und durch Schwenken gleichmäßig über die Fläche verteilt.
3. Man lässt dieses Deckglas ohne Erschütterung staubgeschützt gut trocknen.
4. Aufgabe von einem Tropfen Xylol, bevor dieser ganz vertrocknet ist gibt man das Einschlussmittel Zetrax oder Naphrax darauf und lässt es staubgeschützt, am besten auf einer Wärmeplatte bei ca. 50 °C vortrocknen.
5. Anschließend wird dieses Deckglas mit der Schichtseite auf einen vorgewärmten Objektträger aufgelegt und auf einer Bügeleisensole über 100 °C erwärmt. Plötzlich kommt es zu Blasenbildungen. Hat sich diese etwas gelegt, kann man das Deckglas herunternehmen und auf einer Unterlage abkühlen lassen. Die Blasen sind dann alle verschwunden. Das Harz hat jetzt den passenden Brechungsindex, und die Diatomeen sind unverrückbar befestigt.
6. Etikettieren des Präparats.

**Bezugsquellen für hohe lichtbrechende Einschlussmittel wie Naphrax oder Pleurax:**  
Dr.Thorns Deggendorf: <http://www.biologie-bedarf.de/>

**Anmerkung:** Die hier beschriebene Methode bezieht sich auf Einschlussmittel auf Toluolbasis. Oft werden die Lösungsmittel der Einschlussharze durch andere substituiert, dann muss man diese spezifischen Lösungsmittel natürlich mitbestellen.

**Wichtiger Quellenhinweis:** Von der mikroskopischen Gesellschaft in Hamburg kann man sich folgende pdf-Datei herunterladen:

[http://www.mikrohamburg.de/G%F6ke/Diatomeen\\_gesamt.pdf](http://www.mikrohamburg.de/G%F6ke/Diatomeen_gesamt.pdf)

Es ist die abgespeicherte Kopie des Heftes über Diatomeen von Gerhard Göke aus Hagen.

#### Literaturhinweise:

- KRAMMER, K. (1986): Kieselalgen. – Stuttgart (Kosmos).
- KALBE, L. (1973): Kieselalgen in Binnengewässern. – Wittenberg (Neue Brehm-Bücherei Lutherstadt Wittenberg)



*Glühschaufel zur Herstellung von Diatomeenglühppräparaten*