# Entwicklung einer neuen Präparationsmethode und Untersuchung verkieselter Mikrofossilien des Präkambriums mit Hilfe der Rasterkraft- und Elektronenmikroskopie

Dissertation an der Fakultät für Geowissenschaften der Ludwig-Maximilians-Universität München



vorgelegt von André Kempe aus München

München, den 1. November 2002



"[...] when the old paths in the known have become narrow and worn out I would take new ways into the unknown to tackle frontiers to broaden my spirit and to return home what no one else has ever seen [...]"

[Columbus, 1493]

die vorliegende Dissertation ist in elektronischer Form bei den **Digitalen Hochschulschriften der Ludwig-Maximilians-Universität München** veröffentlicht und kann im Internet unter <u>http://edoc.ub.uni-muenchen.de</u> unter dem Menüpunkt **Geowissenschaften** abgerufen werden.

Eine englische Fassung derselben Dissertation mit dem Titel **Development of a new preparation method and examination of silizified precambrian microfossils by use of electron- and atomic force microscopy** ist beim Utz- Verlag in der Fachreihe Geo-Bio-Nano erschienen und unter der ISB- Nummer 3-8316-0231-X zu beziehen.

Erster Berichterstatter:	PD. Dr. W. Altermann
Zweiter Berichterstatter:	Prof. Dr. W. M. Heckl

Tag der mündlichen Prüfung: 29.1.2003

#### Abstract

In this thesis nanoscopic structure analysis is applied to precambrian microscopic fossils permineralised and bodily conserved in finegrained chert rock. For the first time atomic force microscopy (AFM) is used to image and analyse the three dimensional fine structure of the walls of single fossil unicells. Structural AFM data is complemented and backed by transmission electron microscopy yielding information on the crystalline nature and chemical composition of the quartz and the kerogen components of the fossil cell walls. The data is supplemented by raman spectra of the same single fossils, providing information on the molecular constitution of the kerogen material, as well as by quantitative electron microprobe data on the carbon content of the fossil cell walls.

For AFM experiments a new preparation method was devised, using hydrofluoric acid to expose single fossils buried in the rock matrix. The method is applied to intact conventional thin sections of chert without disturbing the fossil cells in their environment, thus maintaining the petrographic context of the sedimentary structure. As AFM conventionally images surfaces that are smooth on a micrometer scale, the etching process has to be precisely adjusted in order to achive a balance between exposing cell walls well enough for structural examination and retaining surfaces smooth enough for the atomic force microscope. The cell walls produced by the etch method introduced here protrude from the surrounding rock matrix by approximately two microns. A detailed study of the etching behaviour by macroscopic and AFM analysis provides information on the dissolution speed of whole samples and of specific sites within the fossilmatrix compound. It is shown that etch resistivity depends on the crystal size and the carbon concentration around and within the fossil.

Subject to examination were 850 million year old cyanobacteria from the Bitter Springs Formation of the Northern Territoriy, Australia, and 650 million year old acritarchs from the Chichkan Formation of Kasachstan.

Ι

A classical analysis of size distributions within single populations of the microorganisms by light microscopy classified the cyanobacteria as *Myxococcoides minor* Schopf 1968, and the acritarchs are probably single celled planctonic algae, belonging to the classes of Chlorophyceae and/or Rhodophyceae. However, as the true nature of precambrian microorganisms cannot be proven by light microscopy alone, the desire to gather more information on the fine structure of the cells arises. This task was adressed here.

The analysis of the carbon concentration in the fossil cells shows that the main body of the cell wall - in the acritarchs studied here - is composed of quartz, and only about one percent of the total volume of the cell wall is made up of carbon. In two specimens the spacial distribution of kerogen within the cell walls was charted. In one case the fossil wall was composed of crystalline quartz lamellae, enveloped by a 30 nanometer thick carbonaceous membrane. In contrast, the other specimen showed totally non crystalline quartz in the fossil wall, with the carbon content distributed homogeneously throughout the cell wall, increasing along a concentration gradient towards the wall center. This difference between the two cells hints at the concept that the fossilisation process strongly influences the wall structure. However, in both cells the quartz and the kerogen is arranged in a regular tile structure that may be influenced, if not controlled, by the biological structure of the original organic cell. This was also observed in other cells. A detailed three dimensional analysis of the size and orientation of platelets composing the tile structure disclosed by etching forms the basis of this concept: In all analysed cells the platelets are oriented parallel to the radius of the cell. The average width of the platelets ranges from 260 to 330 nm, with a maximum error of 25%. A second set of smaller platelets was detected in two cells, showing widths ranging from 10 to 30 nm and occurring in quartz as well as in the carbon membrane.

Π

AFM images show that the smallest platelets have a polygonal shape and sit on or possibly comprise the bigger platelets. Laser-Raman spectra showed that the kerogen in the fossils consists of polycyclic aromatic hydrocarbons forming a network of interlinked planar carbonaceous molecules. Taking the polygonal shape of the platelets into account, it seems plausible that the original organic cell substance recrystallised during fossilisation to build up this molecular network structure comprised in the platelet components of the fossils. If this happened in a way that conserved biological structures, these may be found in the fossil.

A clue to this concept was found in the carbonaceous membrane mentioned earlier: A carbon structure was visualised in a cross section of the amorphous membrane which could possibly have been a basis for the fomation of the 10 to 30nm platelets, as both are of approximately the same dimension, the same orientation, and are adjacent to each other. It is conceivable that these carbon structures represent genuine nonrecrystallised biostructures.

A fossilisation model is proposed that is based on the structure of the biological membrane (or cell wall) and the flux of silica solution during silicification.

# Inhalt

1	Einl	eitun	g	1
2	Silif	iziert	e Mikrofossilien – Ergebnisse früherer Arbeiten	5
	2.1 2.2 2.3 2.4	Form Kerog Delta Proble	und Größenverteilung von Zellen innerhalb einer Population enstruktur <sup>13</sup> C ematik der Präkambriumsgeologie	5 7 9 11
3	Bes	chreil	oung der untersuchten Mikrofossilien	13
	3.1	Erhalt	ung in Chert	13
	3.1.1	1 V	erkieselungsprozess	13
	3.1.2	2 0	Gesteinsmatrix	14
	3.2	Acrita	rchen	16
	3.2.1	1 C	Chichkan Chert	16
	3.2.2	2 A	critarchen-Begriff und Klassifizierung	18
	3.2.3	3 L	Intersuchte Individuen	20
	3.3	Cyan	obakterien	22
	3.3.1	1 E	Bitter Springs Chert	22
	3.3.2	2 K	ílassifizierung	24
	3.3.3	3 L	Intersuchte Individuen	27
4	Gru	ndlag	en der Rasterkraftmikroskopie	29
	4.1	Raste	rkraftmikroskopie	29
	4.1.1	1 F	unktionsweise	29
	4.1.2	2 A	uflösung	30
	4.1.3	3 Т	opografische Information	32
	4.1.4	4 K	Craftspektroskopie	33
	4.1.5	5 N	lumerische Charakterisierung von Oberflächen	36
	4.1.6	6 A	bbildungsartefakte	37
	4.	1.6.1	Verzerrungen	37
	4.	1.6.2	Geometrische Effekte an der Spitze	
	4.	1.6.3	Kratzer, Stufen und Ausreißer	40

5 da	Ent s Kra	wicklun Iftmikro	g einer neuen Präparationsmethode von Mikro skop	fossilien für 42
	5 1	Cestein	adünnechliff	13
	5.2		arung von Fossilien	
	53	Anschlift	:	
	5.0	Fluessä	Ire-Anwendungen	
	5.4 Flusssaule-Anwendungen		۰۰۰۰۰۰ 47	
	5.6	Säurehe	handlung von Acritarchen	 4۹
	5.0 5.6	1 lös	ungsverhalten des Fossil- <i>Chert</i> -Verbundes	50
	5.6.2	2 Bes	stimmung der Lösungsgeschwindigkeit	
	5 7	Säurebe	handlung von Cvanobakterien	55
	5.8	Aufbewa	hrung	
6	Rar	nan-Sp	ektroskopische Untersuchungen an Acritarchen.	56
	6.1	Grundla	gen und Möglichkeiten	
	6.2	Versuch	und Ergebnisse	57
7	Elel	ktronen	mikroskopische Untersuchungen an Acritarchen	59
	7.1	Elektron	enstrahl-Mikrosonde	60
	7.1.	1 Fur	Iktionsweise	60
	7.1.2	2 Pro	benpräparation	61
	7.1.3	3 Me	ssung der Kohlenstoffkonzentration	62
	7.1.4	4 Erg	ebnisse: Kohlenstoffgradient in Acritarchenzelle 4	63
	7.2	Transmi	ssions-Elektronenmikroskopie	66
	7.2.	1 Fur	Iktionsweise	66
	7.2.2	2 Pro	benpräparation	67
	7.2.3	3 Ana	alyse von Kristallinität und Kohlenstoffverteilung	68
	7.2.4	4 Erg	ebnisse	69
	7.	2.4.1	Quarz- und Kohlenstoffstrukturen in Zelle 3	70
7. 7. 7.		2.4.2	Plättchen-Strukturen in der Fossilwand von Zelle 3	72
		2.4.3	Kohlenstoffmembran von Zelle 3	73

8	Kra	aftmik	roskopische Untersuchungen an Acritarchen	80
ł	8.1	Versu	chsbeschreibung	80
	8.1.	1 \	/ersuchsaufbau	80
	8.1.	2 N	Messverfahren	81
ł	8.2	Dater	nachbearbeitung	83
	8.2.	1 E	Berichtigung von Artefakten	84
	8.2.	2 E	Begleitende Lichtmikroskopie	85
	8.2.	3 E	Bildentzerrung und Korrelation mit Lichtbildern	85
ł	8.3	Ergeb	onisse	87
	8.3.	.1 Å	Atzverhalten einzelner Acritarchen	87
	8.3.	2 8	Strukturen in Fossilwänden	89
	8	.3.2.1	Zellwandstrukturen in Zelle 1	90
	8	.3.2.2	Zellwandstrukturen in Zelle 2	94
	8	.3.2.3	Zellwandstrukturen in Zelle 3	98
	8	.3.2.4	Zellwandstrukturen in Zelle 6	100
ł	8.4	Mess	ung von Adhäsionskräften	101
	8.4.	1 \	/ergleichsmessungen an Quarz und Graphit	101
	8.4.	2 A	Adhäsionskräfte auf Acritarchen	102
9	Vei	rgleicł	nende Experimente an Cyanobakterien	105
9	9.1	Licht-	und Kraftmikroskopie	105
9	9.2	Ergeb	onisse	105
	9.2.	.1 Ä	Ätzverhalten	105
	9.2.	2 8	Strukturen in Zellwänden	106
	9	.2.2.1	Zellwandstrukturen in Kolonie 1	107
	9	.2.2.2	Zellwandstrukturen in Kolonie 2	109
9.2		.2.2.3	Zellwandstrukturen in Kolonie 3	111
	9	.2.2.4	Zellwandstrukturen in Kolonie 4	111
10	) 711	samm	enfassung und Diskussion	114
- 0	, <u> </u>			
	10.1	Fossi	lisationsmodell für ∠ellen mit homogen verteiltem Kohlenstoff	
	10.2	Fossi	lisationsmodell fur ∠ellen mit Kohlenstoffmembran	
	10.3	BIOMI	neralisation nicht ausgeschlossen	
	10.4	Ausbl	ICK	127

11 An	hang	128
11.1	Literaturverzeichnis	
Geste	insformationen	134
11.2	Abbildungsverzeichnis	135
11.3	Veröffentlichungen, Vorträge	138
11.4	Dank	140
11.5	Lebenslauf	142

# 1 Einleitung

Moderne Untersuchungsmethoden erschließen uns mit immer höherer Auflösung die Prozesse in der Natur. Vorgänge auf kleinstem Maßstab lenken den Fokus hin zur "Nano-Welt", der "Welt des Kleinen". Die immer größer werdende Bedeutung der Nano-Forschung gilt auch für die Geowissenschaften, u.a. für die Paläontologie, Mineralogie und Petrologie.

Auch bei der Suche nach dem Beginn des Lebens gewinnt die Frage nach dem Maßstab besonders an Bedeutung: die ersten uns bekannten Zeugen von Leben auf der Erde sind einfache Zellen, nicht größer als etwa 70 µm. Der Übergang von unbelebter zu belebter Natur muss allerdings weit vor der Entstehung der ersten Zelle auf molekularer Ebene stattgefunden haben, und dementsprechend auf der Nanometer-Skala untersucht werden.

Auf dem Gebiet der "Selbstorganisation von organischen Molekülen" in einer unbelebten Umwelt wurde in den letzten Jahren neues Wissen erworben [Freund et al., 1997; Heckl, 1992]. Die Entdeckung, dass sich Selbstorganisationsvorgänge von organischen Molekülen auf anorganischen Kristallen abspielen machte die Prozesse bei der Entstehung des Lebens erstmals beobachtbar und vor allen Dingen im Labor reproduzierbar.

Mit der Entwicklung des Rastertunnelmikroskops legten Gerd Binnig und Heinrich Rohrer [Binnig et al., 1982] den Grundstock für die Nano-Forschung; atomare Strukturen und Prozesse auf anorganischen und organischen Kristalloberflächen konnten erstmals räumlich aufgelöst und visualisiert werden. Für ihre Entwicklung wurden Binnig und Rohrer 1986 mit dem Physik- Nobelpreis ausgezeichnet.

Weiterentwicklungen des Rastertunnelmikroskops in Form von vielfältigen Rastersondenmikroskopen geben uns heute die Möglichkeit, Oberflächen unter unzähligen Gesichtspunkten zu untersuchen. Beispiele sind das Rasternahfeldoptische Mikroskop [Lewis et al., 1984; Pohl et al., 1984], mit dem Lichtinformation im Nanometer-Maßstab dargestellt wird und das Rasterkraftmikroskop (*engl.*: <u>A</u>tomic <u>F</u>orce <u>M</u>icroscope, AFM) [Binnig et al., 1986]. AFM- Experimente finden heute in den Geowissenschaften vielfältige Anwendungen und bilden den Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit.

Die Besonderheit der Kraftmikroskopie liegt in der gleichzeitigen Erfassung physikalischer Materialeigenschaften und topographischer Oberflächenbeschaffenheiten. Das Prinzip ist einfach: eine beliebige Oberfläche wird mit einer Nadelspitze mechanisch abgetastet; zwischen der Nadelspitze und der Probenoberfläche wird die Wechselwirkungskraft gemessen, die sich vor allem aus Van-der-Waals-Kräften und Hydratationskräften sowie der Pauli- Abstoßung [Capella & Dietler, 1999] zusammensetzt. Nachdem die genannten Kräfte zwischen beliebigen Partikeln wirken, muss die Probenoberfläche für AFM- Messungen nicht präpariert sein, sondern kann in natürlichem Zustand untersucht werden.

In den Naturwissenschaften finden sich zahlreiche Einsatzgebiete der Kraftmikroskopie z.B. in der Züchtung technischer Kristalle (Messung der Schersteifigkeit) [Drobek, 2001], in der Untersuchung der Vielphasen-Paragenesen im Zement oder in Messungen der Korrosions- und Brucheigenschaften von Quasikristallen [Drobek & Heckl, 2000]. Auch die Ritzhärte sowie die Elastizität von Mineralgefügen sind mit kraftmikroskopischen Messungen ortsaufgelöst bestimmbar.

Die vorliegende Arbeit stellt eine Methode für hochauflösende AFM- Untersuchungen an verkieselten Fossilien des Präkambriums vor. Je näher alte Gesteine dem Ursprung des Lebens auf der Erde stehen, desto schwieriger wird es, darin Fossilien zu finden und eindeutig zu erkennen. Bei den ältesten bisher gefundenen Organismen handelt es sich um körperlich erhaltene Mikroben im Größenbereich von 1-100 µm [Schopf, 1993; Schopf & Walter, 1983b]. Sehr viele der überlieferten Organismen aus dem Präkambrium sind in Cherts erhalten, so dass die dreidimensionale Struktur der Zellen konserviert ist. Auf dieser Erhaltungsart basiert eine eigene Schule der Paläontologie, in der die Organismen nach ihren mikroskopischen Abmessungen klassifiziert werden [Schopf, 1992a; Schopf, 1999b]. Hier wird gezeigt, dass mit Hilfe der Kraftmikroskopie weitergehende Strukturaufklärung auf der nanoskopischen Ebene durchgeführt werden kann. Um optimale Ergebnisse am AFM zu erzielen, ist die Verwendung von sehr feinen Nadelspitzen auf sehr glatten Proben notwendig. Laterale Auflösungen von 1 nm wurden in wässrigem Milieu [Müller et al., 1999] und atomare Auflösung im Vakuum erreicht [Giessibl et al., 2000]. Geowissenschaftliche Untersuchungen am AFM beinhalten aber häufig die Schwierigkeit, dass natürliche (Gesteins-) Proben nicht glatt sind sondern große Rauhigkeiten aufweisen.

In der vorliegenden Arbeit wurde zum ersten Mal gezeigt, dass Mikrofossilien und Gesteine mit geeigneten Präparationstechniken am AFM untersucht werden können und Ergebnisse von hoher Qualität liefern. Die reine Bildgebung wird dabei kombiniert mit der Möglichkeit, die physikalischen Eigenschaften der untersuchten Fossilien zu bestimmen. Das AFM schlägt so eine Brücke zwischen klassischer Mikroskopie und physikalisch- chemischer Untersuchung.

Kap. 2 beschreibt die geltende Klassifizierung und die zugrunde liegenden Charakteristika von präkambrischen Mikrofossilien. Hierbei wird die Fragestellung der vorliegenden Arbeit erläutert. In Kap. 3 werden die untersuchten Mikrofossilien beschrieben, dies sind ca. 850 Ma alte Cyanobakterien (*Bitter Springs Chert*, PPRG 1314) und ca. 650 Ma alte einzellige Algen (Acritarchen aus dem Chichkan Chert, PPRG 1473). Die Cyanobakterien wurden als *Myxococcoides minor* Schopf 1968 bestimmt. Kap. 4 befasst sich mit der Funktionsweise und den Möglichkeiten der Rasterkraftmikroskopie. Hierbei wird speziell auf die Untersuchung von Gesteinsdünnschliffen und Mikrofossilien eingegangen. In Kap. 5 wird die neue Präparationsmethode beschrieben, die an Acritarchen entwickelt worden ist. Die Methode besteht aus einer Kombination von mechanischem Anschliff und chemischem Ätzen mit Flusssäure. Für die kraftmikroskopischen Experimente wurden diese Mikrofossilien mit Größen von 10-70 µm Durchmesser aus dem Gestein präpariert, ohne dabei den Einbettungskontext zu zerstören. Eine Schwierigkeit dieser Aufgabe liegt im Größenmaßstab der Probe: um eine Präparation möglich zu machen, wurden makroskopisch die Lösungsgeschwindigkeiten des Materials anhand von Ätzreihen experimentell untersucht. Das Ätzverhalten des Chert/Kerogen-Materials spielt dabei die entscheidende Rolle.

Die experimentelle Untersuchung an besonders gut erhaltenen Acritarchen nimmt den Schwerpunkt der vorliegenden Dissertation ein und ist im experimentellen Teil der Arbeit beschrieben. In **Kap. 6** ist die molekulare Zusammensetzung des organischen Anteils der Fossilien erläutert, wie sie mit Raman-Spektren ermittelt wurde. Die Verteilung des organischen Materials im Fossil wurde mit Elektronenmikrokopie untersucht und ist in **Kap. 7** dargestellt.

Bei den Experimenten mit Elektronenstrahl-Mikrosonde und Transmissions-Elektronenmikroskop wurden weiterhin Erkenntnisse zur Zellwand- und Quarzmatrixstruktur gewonnen. **Kap. 8** beschreibt die Untersuchung dieser Strukturen mit dem Rasterkraftmikroskop. Hierbei konnten regelmäßige Plättchenstrukturen in den Fossilwänden analysiert werden, die auf der Nanometer-Skala vermessen wurden. Außerdem wurden erste Messungen am AFM vorgenommen, um die Adhäsionskräfte zu bestimmen, die im Fossil wirken. Vergleiche mit Adhäsionskräften auf Quarz und Graphit lassen den Schluss zu, dass diese Methode dazu benutzt werden kann um organisches Material innerhalb der Fossilwand zu detektieren. In **Kap. 9** werden vergleichende Messungen an fossilen Cyanobakterien beschrieben, die Parallelen zu den Zellwänden der Acritarchen aufzeigen.

In **Kap. 10** folgt die Zusammenfassung der vorliegenden Arbeit. Ein Resümee der Bedeutung der gewonnenen Erkenntnisse führt zu Fossilisationsmodellen für die untersuchten Mikrobenzellen, in dem die biologische Struktur der lebenden Organismen als Matrix und Vorlage für die konservierten Fossilisationsstrukturen dient. Die mineralischen Strukturen im Fossil beinhalten demnach Information über die biologische Natur der Mikroorganismen, die mit Hilfe nanoskopischer Methoden entschlüsselt werden kann. Das Kapitel schließt mit einem Ausblick auf weitere Möglichkeiten für AFM- Messungen in den Geowissenschaften und v.a. in der Paläontologie.

# 2 Silifizierte Mikrofossilien – Ergebnisse früherer Arbeiten

Drei klassische Ansatzpunkte anhand derer präkambrische Lebewesen klassifiziert werden, sind: die Untersuchung der Äußeren Form und der Größenverteilungen von Fossilien, die Zusammensetzung des Kerogen und die Anreicherung leichten Kohlenstoffs ( $\delta^{13}$ C) in Zellen.

## 2.1 Form und Größenverteilung von Zellen innerhalb einer Population

Die Precambrian Paleobiology Research Group (PPRG) erstellte anhand der Form und Größenverteilung von Zellen innerhalb einer Population eine Klassifizierung aller präkambrischen Mikrofossilien, die bis heute gültig ist [Schopf, 1992a]. Das Regelwerk wurde als informelle Klassifizierung publiziert und stellt als solche keine neuen Gattungen und Arten auf, vergleicht aber präkambrische Morphen mit rezenten Arten und gliedert auf dieser Basis paläontologische Taxa in "taxonomisch informelle Spezies". Die so definierten Gruppen aus der Präkambrischen Lebewelt sind damit die bestmögliche Annäherung an das heute gültige biologische Klassifizierungssystem [Schopf, 1992b]. Die Informelle Taxonomie basiert ausschließlich auf den Abmessungen der dreidimensionalen Form von Zellen und der Analyse einer eventuellen Ordnung innerhalb von Zellkolonien. Die allermeisten Funde von präkambrischem Leben wurden in proterozoischen Gesteinen (550 Ma – 2,5 Ga) gemacht. Die darin beschriebenen Fossilien wurden als 279 informelle Spezies definiert, die wiederum in 3 informellen Klassen zusammengefasst sind: procaryotische filamentöse Zellen, procaryotische coccoidale oder ellipsoidale Zellen, eucaryotische Zellen [Schopf, 1992b]. Die Anlehnung der informellen Klassen an die biologische Einteilung von Einzellern beruht auf der Ähnlichkeit der statistischen Verteilung der Größen von Zellen innerhalb einer fossilen Population und einer rezenten Population. Dabei werden zwei Beobachtungen zugrunde gelegt, nämlich erstens, dass die Größe von Einzellern innerhalb einer geschlossenen Kolonie eine gewisse Variabilität hat, dabei ein bestimmter Wert aber häufiger vorkommt. Zweitens ist die Verteilung der Zellgrößen innerhalb von modernen Lebensgemeinschaften eines der wichtigen Indizien für die Unterscheidung der Taxa; hierbei gibt es einige wenige Ausnahmen, ganz sicher aber kann die Zellgröße zur Bestimmung von cyanobakteriellen Taxa verwendet werden, der wichtigsten Gruppe unter den Präkambrischen Fossilien [Schopf, 1992b]. Auf diese Weise können fast alle fossilen Einzeller heute noch existierenden biologischen Gruppen zugeordnet werden.

Die wichtigsten Gruppen sind unter den Eukaryoten: Pyrrhophyta (Dinoflagellaten) und Chlorophyta (Grünalgen), sowie unter den Cyanobakterien: Croococcaceae (sphäroidale Cyanobakterien) und Oscillatoriaceae (filamentöse Cyanobakterien). Die Vertreter der Eukaryoten gehören bis auf wenige Ausnahmen der Fossilgruppe der Acritarchen an. Eine weitere, seltener vertretene Gruppe sind außerdem unbestimmte Eubakterien. Zusammenfassend kann nach der informellen Klassifizierung der PPRG für rundliche Formen folgende Abschätzung gemacht werden wie in Abb. 2-1 dargestellt:

Zellen kleiner als 1,5 µm gehören mit 75% Wahrscheinlichkeit zu den Eubakterien – zwischen 2,5 µm und 10 µm gehören sie mit 85-89% Wahrscheinlichkeit den Cyanobakterien an. In dem Überschneidungsbereich der Größen von 1,5 µm bis 2,5 µm kann keine genaue Aussage gemacht werden – Zellen dieser Größe werden nur als Prokaryoten ohne nähere Bestimmung bezeichnet. Eucaryotische Algenzellen sind mit 71% Wahrscheinlichkeit größer als 10µm.



Abb. 2-1 Größenverteilung von rezenten sphäroidalen Einzellern [Schopf, 1992b]. Gezeigt ist die Häufigkeitsverteilung der Durchmesser von Eubakterien, Cyanobakterien und Algen < 60  $\mu$ m. Alle Gruppen haben eine gewisse Bandbreite in ihren Durchmessern und Werte die häufiger auftreten. Eubakterien sind meist kleiner als 1,5  $\mu$ m, Cyanobakterien haben ein Maximum bei 5  $\mu$ m und Algenzellen sind generell größer als 10  $\mu$ m. In den Überlappungsbereichen sind Zuordnungen zu den einzelnen Gruppen nur mit Angabe von Wahrscheinlichkeiten möglich.

In dieser Arbeit wurden zweierlei proterozoische Fossilgruppen untersucht: Cyanobakterien aus dem *Bitter Springs Chert* (~850 Ma) [Moore & Schopf, 1992] und Acritarchen aus dem *Chichkan Chert* (~650 Ma) [Moore & Schopf, 1992].

#### 2.2 Kerogenstruktur

Die organische Materie, die sich in Sedimenten und Gesteinen befindet und in herkömmlichen organischen Lösungsmitteln und wässerigen alkalischen Lösungen unlöslich ist, wird unter der Bezeichnung Kerogen zusammengefasst [Brandt & Martin, 2000-2002]. Für eine strukturelle Betrachtung von fossilem Material wie sie in der vorliegenden Arbeit angestellt wird, ist es interessant in Betracht zu ziehen wie Kerogen generell zusammengesetzt ist.

Kerogen ist die mehr oder weniger stark abgebaute Zellsubstanz der Lebewesen, die im Sediment eingebettet wurden. Bei der Zersetzung der Zellsubstanz während der geologischen Entwicklung eines Gesteins findet eine graduelle Abreicherung von Sauerstoff und Wasserstoff statt, so lange bis aus komplexen Kohlenwasserstoffen reiner Graphit geworden ist. Je nach den Anteilen der Elemente C, H und O werden die Kerogentypen I, II und III unterschieden; die 3 verschiedenen Typen sind in Referenzgesteinen dokumentiert wie folgt: Typ I entspricht den Green River Shales, Uinta Basin, USA, Typ II entspricht den Tonschiefern des unteren Toarce, Pariser Becken, Frankreich, Typlokalität für Typ III ist Logbaba wells, obere Kreide, Douala Basin, Kamerun. Die Elemente N, S und Fe sind bei dieser Art der Klassifizierung zusätzliche Informationsträger [Durand & Monin, 1980].

Zur Darstellung der Entwicklung verschiedener Kerogentypen dient das Van Krevelen-Diagramm, in dem die Verhältnisse H/C und O/C gegenübergestellt werden. In Abb. 2-2 ist zu sehen, dass typische H/C Verhältnisse zwischen 0,5 und 1,5 liegen und die O/C Verhältnisse von 0,01 bis 0,5 reichen. Während der Diagenese durchläuft das Kerogen Pfade, entlang derer der Sauerstoff und der Wasserstoff sukzessive aus dem Material ausgetrieben werden. Dieser Prozess findet statt, während das werdende Gestein mit zunehmender Sedimentfracht bedeckt wird und in größere Tiefen der Erdkruste gelangt. Hierbei erhöhen sich Druck und Temperatur entsprechend dem geothermischen Gradienten.



Abb. 2-2 Van Krevelen-Diagramm mit Entwicklungspfaden für die verschiedenen Kerogentypen I, II und III. Während der Entwicklung eines Gesteins werden Wasserstoff und Sauerstoff zunehmend ausgetrieben, so dass sich Kohlenstoff anreichert. Auf der linken Seite des Diagramms sind die zu erwartenden Kohlenstoffverbindungen aufgetragen, die vom Verhältnis H/C abhängen [Durand & Monin, 1980]. Es findet eine Entwicklung von einfachen Kohlenstoffketten hin zu reinem Graphit statt.

Dabei verändert sich die molekulare Zusammensetzung der Kohlenwasserstoffe in der Art, dass länger kettige gesättigte Verbindungen nach und nach durch polyzyklische Ketten und Plättchen ersetzt werden. Bei einem H/C Verhältnis von 2 besteht das Kerogen aus einer einfachen Kette von Kohlenwasserstoffen; das Endprodukt der geologischen Entwicklung ist reiner Graphit mit einem H/C Verhältnis von 0. Ein Fossil welches zunächst aus ähnlichen Kohlenwasserstoffketten besteht, wie die in Abb. 2-2 gezeigten, durchläuft einen der typischen Entwicklungspfade I, II oder III. Dabei wird sich die molekulare Struktur der Zellwände verändern und das intakte biogene Gerüst wird umkristallisieren, so lange bis reiner Graphit die Zellwände ersetzt hat. In natürlichem Kerogen existieren neben den erhaltenen kugeligen Fossilien auch sphäroidale Partikel, die abiogen entstehen. Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist die Annahme, dass die ursprüngliche biogene Struktur die Kristallisationsprodukte der Zellwände beeinflusst, im Idealfall sogar eindeutig definiert. Wandstrukturen von sphäroidalen Partikeln und fossilen Zellen sollten sich dann unterscheiden. Nimmt man eine völlig abiogene Entstehung des Kerogens an, so sind konzentrische Kristallisationsstrukturen von aromatischen Kohlenwasserstoffen in der Art von Zwiebelschalen zu erwarten,

wie sie in sphäroidalen Kohlenstoffpartikeln des Kerogentyps II und III auftreten. In Abb. 2-3 sind die Gitterstrukturen gezeigt, die durch Elektronenbeugung an kristallinem Kerogen sichtbar werden. Die Aufnahme zeigt randparallele Gitterstrukturen eines sphäroidalen Kerogenpartikels. Im rechten Teil der Abbildung ist eine Modellzeichnung eines solchen Partikels dargestellt, in der die Kristallplättchen der Kohlenstoffverbindungen sich tangential zum Kugelrand ausrichten.



Abb. 2-3 Sphäroidale (abiogene) Partikel in Kerogen. Links eine Elektronenbeugungsaufnahme des Randbereiches eines Partikels zeigt randparallele Kristallstrukturen. Rechts die Modellzeichnung eines sphäroidalen Partikels demonstriert die Zwiebelschalenstruktur in die sich Kristallplättchen tangential zum Umfang einlagern [Oberlin et al., 1980].

#### 2.3 Delta <sup>13</sup>C

Biogener Kohlenstoff zeigt in lebenden Organismen eine Anreicherung an dem leichteren Kohlenstoffisotop <sup>12</sup>C gegenüber dem schwereren <sup>13</sup>C. Diese Verschiebung relativ zum Ausgangsreservoir für Kohlenstoff wird mit  $\delta^{13}$ C bezeichnet und bezieht sich in der Regel auf den Standard "*Pee Dee*-Belemnit" (*Pee Dee formation*, Kreide, South Carolina, USA) mit einem Verhältnis <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C = 0,0112372 [Galimov, 1980].

$$\delta^{13}C = \left(\frac{\left(\frac{13}{12}\right)^{sample}}{0,0112372} - 1\right) * 10^3$$

In lebenden Organismen ist  $\delta^{13}$ C je nach Molekülklasse unterschiedlich, am stärksten sind mit -30‰ die Gruppe der Lipide fraktioniert, am schwächsten die Kohlenhydrate und Proteine mit -20‰. Die unterschiedliche Präferenz einzelner Moleküle, das leichte Isotop einzubauen liegt in den Stabilitäten der einzelnen Zwischenschritte bei deren Synthese begründet und lässt sich thermodynamisch berechnen. Es sind die Schwingungszustände der zwei in Frage kommenden Isotope <sup>12</sup>C und <sup>13</sup>C ausschlaggebend für die Gesamtstabilität der ganzen Moleküle, in denen sich ein Gleichgewicht mit bestimmten Anteilen beider Isotope einstellt [Galimov, 1980].

Das Isotopenverhältnis aller Kohlenstoffatome in einem Organismus unterliegt ständig den zugrunde liegenden Gleichgewichten bei der Synthese der Zellsubstanzen und hängt davon ab, welchen Syntheseweg die einzelnen Produkte nehmen.

Bei Tod und Einbettung des Organismus im Sediment wird der momentane Gleichgewichtszustand eingefroren. Im Kerogen des Gesteins bleibt ein Kohlenstoff-Isotopenverhältnis erhalten, das u.a. davon abhängt ob die Organismen CO<sub>2</sub> einbauen wie die Landpflanzen oder HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> wie die Wasserpflanzen. Es ändert sich  $\delta^{13}$ C von durchschnittlich -22‰ bei Hochsee-Kerogen zu durchschnittlich -27‰ bei terrestrischem Kerogen. Für das Isotopenverhältnis der Summe aller Kohlenstoffatome in einem Gestein spielen die globalen Gleichgewichte eine Rolle, die die Verfügbarkeit von CO<sub>2</sub> und HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> steuern, weil die CO<sub>2</sub>-Konzentration der Luft die Photosyntheseaktivität der Pflanzen beeinflusst. Beispiele sind der CO<sub>2</sub>-Ausstoß durch Vulkanische Aktivität, sowie die temperaturabhängige Abbaugeschwindigkeit von organischem Material durch chemische und mikrobielle Zersetzung. Hierbei gilt, dass wärmeres Klima den Abbau organischer Materie begünstigt, wodurch vermehrt CO<sub>2</sub> produziert wird und die Produktion von Landpflanzen steigt [Berner et al., 1983]. Damit steigt der Eintrag von terrestrischem organischen Material ins Sediment und  $\delta^{13}$ C wird ins Negative verschoben [Berner, 1991].

Ab dem Beginn der Fossilisierung unterliegt der organische Kohlenstoff den Mechanismen die die langkettigen Moleküle zum Kerogen und letztlich zu Graphit umwandeln. Hierbei wird  $\delta^{13}$ C weiter ins Negative verschoben wird, so dass das resultierende polymere Endprodukt um etwa -3‰ weiter an <sup>12</sup>C angereichert wird [Galimov, 1980].

#### 2.4 Problematik der Präkambriumsgeologie

Wenn fossil überlieferte Lebewesen oder Teile von Lebewesen für die Erforschung der Entstehung des Lebens auf der Erde und den Gang der Evolution benutzt werden sollen, so steht der Wissenschaftler vor der Aufgabe, die überlieferten Überreste von Lebewesen zu identifizieren, alle Veränderungen, die das Fossil seit seiner Einbettung erfahren hat zu quantifizieren und zurückzurechnen und letztlich den ursprünglichen Organismus und seinen Lebensraum zu rekonstruieren. Für alle drei Schritte wird der Vergleich mit heute lebenden Organismen und die Beobachtung von heute stattfindenden Prozessen bei der Fossilisierung herangezogen. Wie am Beispiel des Vergleiches von Form und Größe einzelner fossiler- und moderner Zellen zu sehen ist, funktioniert diese Praxis recht gut, solange die Fossilien den rezenten Vergleichsorganismen genügend ähnlich sind. Allerdings werden die eindeutig als Zellen erkennbaren Fossilien mit zunehmendem Alter ihres Einbettungsgesteines immer seltener. Dies liegt daran, dass die ältesten Gesteine der Erde eine komplexe und nicht in allen Einzelheiten nachvollziehbare Geschichte haben, während der die Fossilien Veränderungen erfahren, die meist zur völligen Zerstörung der Zellen führen. Die Überlieferung eines erhaltenen Einzellers ist daher ein ausgesprochener Glücksfall [Schopf, 1999a].

Die wichtigsten Überlieferungsarten von präkambrischen Fossilien sind erstens: Einbettung in feines siliziklastisches Sediment und Erhaltung in Tonstein und zweitens: Imprägnierung mit silikatischen Lösungen und Erhaltung als *Chert* (auch Hornstein oder Feuerstein oder *Flintstone*) [Horodyski et al., 1992]. Während strukturelle Details in Tonsteinen generell gut erhalten werden, wird deren dreidimensionale Form bei der Kompaktion des Sedimentes oft zerstört. In *Cherts* wird dagegen die Form der Lebewesen in der Regel erhalten, dafür aber feine Strukturen den Zellen bei Umkristallisationsprozessen zerstört. Die Unterscheidung von Eukaryoten und Procaryoten und deren Vergleich in den verschiedenen Gesteinen ist deshalb bis heute nur bedingt möglich [Horodyski et al., 1992].

In beiden Überlieferungsarten werden generell die komplexen organischen Moleküle der Zellsubstanz kurz nach dem Tod der Zelle oder während der Diagenese zerstört. Eine direkte Eingliederung der Fossilien in den Biologischen Stammbaum durch die Analyse von genetischem Material oder Proteinen ist deswegen für Fossilien großen Alters von vorn herein ausgeschlossen.

Eine besondere Rolle bei der Überlieferung von präkambrischen Fossilien spielt die Erhaltung in Karbonaten, weil hierbei im besten Fall die primären biogen erzeugten Strukturen konserviert werden. Trotz der häufig vorhandenen Karbonatgesteine (Karbonatplattformen, karbonatische Stromatolithe) im Präkambrium sind darin allerdings wenige Fossilien körperlich erhalten. Die Entstehung dieser bedeutenden Gesteinsvorkommen und die Mechanismen der Massenproduktion von Karbonat im Präkambrium ist daher bis heute nicht geklärt. Die allgemein vertretene Annahme ist, dass Karbonat bei der Umkristallisation zelluläre Strukturen generell zerstört und eine biogene Herkunft der Sedimente nicht belegbar ist [Altermann, 1985; Altermann & Kazmierczak, 2001; Wright & Altermann, 2000]. Neue Funde von *Siphonophycus transvaalensis* (<2,5 Ga), *Eoentophysalis sp.,* u.a. aus den Gesteinen der *Nauga Formation*, Campbellrand Subgroup, Südafrika [Kazmierczak & Altermann, 2002] zeigen allerdings, dass Mikrofossilien in Karbonaten erhalten werden können und wahrscheinlich den Schlüssel für die Enträtselung der Präkambrischen Karbonatbildung enthalten.

Ein gutes Beispiel für die Strittigkeit mancher Fossilfunde sind die ältesten Fossilien der Erde - filamentöse Mikrofossilien, die vor ~3,5 Milliarden Jahren in feinstkristallinem Quarzgestein, dem sog. *Apex Chert* eingeschlossen und körperlich in ihrer Form konserviert wurden [Schopf & Packer, 1987]. Die Erhaltung der Fossilien ist allerdings unvollständig und gab bis in jüngste Zeit Anlass zur Diskussion über die biogene Herkunft der Filamente [Awramik et al., 1988; Brasier et al., 2002; Buick, 1984; Schopf & Walter, 1983a], weil eine abiotische Entstehung der kohligen Strukturen nicht ausgeschlossen werden kann.

Ein verlässlicher Nachweis von Leben im *Apex Chert* ist durch die schlechte Erhaltung der Fossilien schwierig, weil die in Kap. 2.1 bis Kap. 2.3 beschriebenen Merkmale zum Teil fehlen. Das Vorkommen ist viel diskutiert, obwohl Isotopenanalysen des Gesamt-Gesteins (-27‰ [Strauss & Moore, 1992]) und Raman-Spektren der individuellen Fossilien [Schopf et al., 2002] deutliche Hinweise auf eine biogene Entstehung geben .

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, neue Kriterien zu finden mit denen eine zusätzliche Möglichkeit zur Charakterisierung von präkambrischen Fossilien zur Verfügung steht. Der Ansatzpunkt der Arbeit ist die Vermutung, dass die gefundenen Kristallisationsstrukturen in Fossilien mit *Chert*-Erhaltung durch deren ursprüngliche Biostruktur vorgegeben wird.

# **3** Beschreibung der untersuchten Mikrofossilien

## 3.1 Erhaltung in Chert

Präkambrische Lebewesen sind meist in Tonsteinen oder in *Chert* erhalten. Etwa 30% aller 2721 bis 1992 berichteten Fossilfunde aus dem Präkambrium sind in *Chert*-Gesteinen überliefert. (62% in Tonsteinen, 8% in Karbonat, Sandstein oder Siltstein) [Horodyski et al., 1992].

Chert-Erhaltung ist wegen der besonders guten Konservierung der äußeren Zellform sehr wichtig. In der vorliegenden Arbeit wurden daher Fossilien aus *Chert*-Gesteinen bearbeitet, dem *Bitter Springs Chert* und dem *Chichkan Chert*.

#### **3.1.1 Verkieselungsprozess**

*Cherts* können entweder in einem primären Prozess biogenes Sediment, bzw. die Mikrobielle Matte in festes Gestein umwandeln oder bereits verfestigtes Gestein (primäres Karbonat und Klastika) verdrängen. In beiden Fällen bleibt die Zelle um so besser vor mikrobiellem Abbau und Oxidation geschützt, je schneller das organische Zellmaterial von Kristallen umschlossen wird. Bei der Beurteilung der resultierenden Fossilstrukturen ist es hilfreich zwischen primärem und sekundärem *Chert* unterscheiden zu können. Der Nachweis einer sekundären Generation von Quarzkristallen gelingt nur dann wenn im Gesteinsgefüge eindeutig zu erkennen ist, dass *Chert* eine frühere Generation von Mineralen ersetzt; in dem bearbeiteten *Bitter Springs Chert* gibt es hierfür keine Hinweise, so dass die Mineralisation als primär angesehen werden kann [Schopf & Blacic, 1971]. Im *Chichkan Chert* sind allerdings wahrscheinliche *bird eyes* aus Quarz erhalten [Schopf & Sovietov, 1976]. Diese normalerweise kalzitischen Strukturen sind daher wahrscheinlich sekundärer Natur, schließen aber eine primäre Verkieselung der Matte nicht absolut aus.

Primäre *Cherts* entstehen in der Tiefsee oder im Flachwasser wobei jeweils andere Mechanismen eine Rolle spielen. Entscheidend für beide Fälle ist, dass ein Überschuss an silikatischen Lösungen vorhanden sein muss. Dieser kann z.B. aus aufgelösten silikatischen biogenen Sedimenten stammen oder aus untermeerischen Quellen antransportiert werden. Die in dieser Arbeit untersuchten Fossilien stammen aus Stromatolithen, die einem flacheren marinen Sedimentationsraum entstammen [Schopf, 1968; Schopf & Blacic, 1971; Schopf & Sovietov, 1976; Walter et al., 1992].

Die Fossilien sind also Bestandteil einer silifizierten mikrobiellen Matte. Für diesen Sedimentationsraum kann ein Fossilisierungsprozess skizziert werden, der folgende Stadien durchlief [Hesse, 1988]:

- a) Die lebende Matte: Mikroorganismen leben zwischen Klastika des Meeresbodens oder fallen aus der Wassersäule ins Sediment. Mikrobielle Matten ohne klastische Komponenten sind ebenfalls bekannt; hier sind die Mikroben lediglich in ein Geflecht aus extrazellulären Glycoproteinen (engl.: *exopolymeric sheaths*, EPS) eingebettet [Stolz, 2000].
- b) Imprägnierung: die Matte wird von silikatischen Lösungen durchströmt. Nach und nach werden Sedimentpartikel und biogenes Karbonat (falls vorhanden) aufgelöst und abtransportiert. Die Zellen werden von silikatischer Lösung durchdrungen.
- c) Opalbildung: Sobald die Konzentration an H<sub>3</sub>SiO<sub>4</sub><sup>-</sup> im Sediment zu groß wird, beginnt Opal A auszufallen. Die Kristallisation folgt einer Gleichgewichtsreaktion, die von der Konzentration von H<sub>3</sub>SiO<sub>4</sub><sup>-</sup> und dem pH Wert abhängt. Opal A-Keime haben Größen ab 50 Å und wachsen bis zu etwa 0,4 µm Durchmesser. Damit wird die Matte verfestigt und die dreidimensionale Struktur des Bioherms sowie der einzelnen Zellen wird konserviert. Bei zunehmender Bedeckung mit Sediment und damit verbundenem Anstieg von Druck und Temperatur findet eine Phasenumwandlung von Opal A in Opal C/T statt. Opal C/T Kristalle wachsen bis zu Größen von mehreren Mikrometern.
- d) Quarzkristallisation: Bei weiterer Erhöhung von Druck und Temperatur findet eine weitere Phasenumwandlung zu kristallinem Tiefquarz statt.

Die Frage ob bei den einzelnen Phasenumwandlungen die Zellwände der Fossilien von Kristallen durchdrungen werden oder ob Kristalle den Zellwänden aufwachsen ist nicht generell geklärt. Zur Klärung des Zusammenhangs von Matrixstruktur und Fossilstruktur wurden daher genauere Untersuchungen mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie (engl.: *Transmission Electron Microscopy*, TEM) an 2 der *Chichkan*-Proben durchgeführt, auf die näher in Kap. 7.2 eingegangen wird.

## **3.1.2 Gesteinsmatrix**

Im Licht der Fragestellung nach der Morphologie der Zellwände der untersuchten Fossilien ist es wünschenswert, zwischen Strukturen der Gesteinsmatrix und des

organischen Anteils der Zellen unterscheiden zu können. Für die durchgeführten Untersuchungen und für die angewendete Präparationstechnik ist daher vor allem die Beschaffenheit der Gesteine in der direkten Umgebung der Fossilien interessant. Die Matrix beider untersuchter *Cherts* ist kryptokristallin und in mikroskopischem Maßstab homogen. Der *Chert* besteht aus reinem Quarz, mit Kristallitgrößen die sich nach Schätzungen aus optischen Aufnahmen zwischen 1 und 5 µm bewegen (Abb. 3-1). Im Verhältnis dazu sind die organischen Strukturen der körperlich erhaltenen Fossilien viel kleiner: Die untersuchten Wandstrukturen bewegen sich bei 1 µm und darunter. Transmissions-Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, dass die Kristallitgrößen in der direkten Umgebung der Fossilien mit ca. 50-75 nm wesentlich kleiner sind (Kap. 7.2.4), was sich mit den Erkenntnissen anderer deckt [Altermann & Schopf, 1995].



Abb. 3-1 Lichtmikroskopische Aufnahme von *Bitter Springs Chert* mit irregulärer Kolonie von coccoidalen Zellen. Zu sehen ist ein Ausschnitt, der für die Körnung des Gesteins in der direkten Umgebung von fossilem Kohlenstoff repräsentativ ist. Die Größe der Quarzkörner lieg mit ca. 1-5 µm deutlich über der Wandstärke der eingebetteten Fossilien.

Die Quarzmatrix ist meist durchscheinend klar, dort wo kein Sapropel angereichert ist. Sie hat aber generell eine bräunliche bis gelbliche Färbung, die in der Nähe von Sapropel und von Fossilien sehr intensiv ist. Die Färbung kommt durch Anteile von feinst verteiltem Kohlenstoff zustande. Dies wird in Mikrosonden-Untersuchungen deutlich, auf die in Kap. 7.1 eingegangen wird.

#### 3.2 Acritarchen

#### 3.2.1 Chichkan Chert

Die erste der untersuchten Fossilgruppen sind Acritarchen, die aus dem *Chichkan Chert* herauspräpariert wurden. Das Gestein ist ca. 650 Ma alt und entstammt der *Chichkan*-Formation, die im Shabakti River Valley des Malyj Karatau Gebirges, etwa 12 km südlich von Zhanatas, Süd Kasachstan aufgeschlossen ist.

Das Gestein wurde von J.W. Schopf zur Verfügung gestellt und kommt aus der Sammlung der *Precambrian Paleobiology Research Group*. Die Probe wurde bei Ayusakan aus schwarzen *Cherts* der *Chichkan*-Formation genommen (Probennummer: PPRG 1473) [Moore & Schopf, 1992].

Die *Chichkan*-Formation liegt auf Karbonatgesteinen des obersten Riphäikums (700-800 Ma) auf. Sie besteht aus einer 110 m mächtigen Folge von fein laminierten Siltsteinen mit eingeschalteten Chertbänken, Dolomiten, Glaukonit-Sandsteinen und Tuffiten. Die Formation wird überlagert von 500 m mächtigen Sedimenten des Tommotiums, die auf etwa 600 Ma datiert werden [Schopf & Sovietov, 1976].

In der gesamten Formation treten kohlenstoffhaltige Chertbänke mit stromatolithischen Biohermen und Horizonte mit Chertknollen auf. Die bearbeitete Probe stammt aus einer Chertbank von 0,5-1,5 m Mächtigkeit, die 35 m über der Basis der Formation liegt und Stromatolithe des Typs "Conophyton Gaubitza Krylov" beherbergt.

Conophyton Gaubitza gilt in der russischen Literatur als Leitfossil des obersten Präkambriums und reicht vom prä-Rhiphäikum bis ins Vendium, tritt also im Kambrium nicht mehr auf [Schopf & Sovietov, 1976]. Die Wuchsform von Conophyton Gaubitza ist subzylindrisch mit Durchmessern von 5-20 cm und Höhen bis zu 1,5 m. Die Zylinder setzen sich aus relativ scharf abgegrenzten Laminae von bis zu 250 µm Dicke zusammen, die den größten Anteil des organischen Materials beinhalten. Zwischen den Laminae befinden sich bis zu 2 cm dicke Schichten von reinem primären *Chert* [Schopf & Sovietov, 1976], der über weite Bereiche kryptokristallin ist. Darin sind regellos verteilt auch körperlich erhaltene Fossilien eingebettet. Wie in Abb. 3-2 dargestellt, hat der *Chert* eine klare hellgelbe Färbung, die von feinst verteiltem organischen Kohlenstoff herrührt. Fossilsuche und – Präparation ist vor allem vielversprechend in diesen Bereichen zwischen den Laminae, da hier störende Sapropelanteile fehlen.



Abb. 3-2 Lichtmikroskopische Aufnahme einer Probe des *Chichkan Chert*. Reiner kryptokristalliner *Chert* mit fein verteiltem Kerogen aus dem Bereich zwischen den Laminae von Conophyton Gaubitza. Zwei schwarze Markierungen sind um die Position von Acritarchen aufgetragen.

Die *Cherts* der gesamten Formation haben im Durchschnitt einen Kohlenstoffgehalt von 0,16 mg C/g (Bandbreite 0,15-0,16). Das Kerogen der *Cherts* enthält dabei Kohlenstoffisotope mit angereichertem leichten Kohlenstoff von  $\delta^{13}$ C vs. PDB = -28,9 ‰ (Bandbreite –29,0 bis –28,9) [Strauss et al., 1992a].

Nach der Isotopensignatur des Kerogens (Kap. 2.3) und der sedimentären Abfolge ist das Sediment als marin-küstennah einzustufen [Schopf & Sovietov, 1976].

Genaue Angaben von Metamorphose-Temperaturen für das Gestein sind nach Wissen des Autors nicht bekannt, der *Chichkan Chert* wird aber allgemein als nicht metamorph angesehen [Schopf & Sovietov, 1976].

In der untersuchten Chertbank besteht der organische Kohlenstoff (insgesamt 0,05-0,3 %<sub>gew</sub>) zu 90% aus fein verteiltem Sapropel und zu 10% aus körperlich erhaltenen Fossilien; diese setzen sich vor allem aus vier Fossilgruppen zusammen: a) Koloniebildende sphäroidale Einzeller (ca. 20 Zellen/cm<sup>3</sup> Gestein), b) breite Oscillatoriaceen und Trichome (ca. 70 Fossilien/cm<sup>3</sup> Gestein), c) dünne tubuläre Filamente (ca. 120 Fossilien/cm<sup>3</sup> Gestein) und d) solitäre einzellige Algen, resp. Acritarchen (ca. 450 Zellen/cm<sup>3</sup> Gestein). Die Gruppe der Acritarchen ist Gegenstand der vorliegenden Untersuchung. Diese kommen homogen verteilt im gesamten Gestein vor.

#### **3.2.2** Acritarchen-Begriff und Klassifizierung

Der Begriff "Acritarch" wurde 1963 von Evitt geformt, um den Taxa aus der Gruppe der Hystrichosphären, die nicht den Dinoflagellaten zugeordnet werden können, einen Namen zu geben. Etymologisch bedeutet "Acritarch": "unbekannter Herkunft" (aus dem Griechischen: "akritos": unsicher; "arche": Abstammung) [Servais et al., 1997]. Die Gruppierung ist eindeutig nicht als taxonomische Einheit definiert, sondern als eine informelle Kategorie, die alle undefinierten Formen aufnehmen sollte, die folgende Kriterien erfüllen:

"Mikrofossilien unbekannter Herkunft und wahrscheinlich verschiedener biologischer Zugehörigkeit, bestehend aus einer zentralen Höhlung, die von einer ein- oder mehrschichtigen Wand, hauptsächlich aus organischer Materie, umschlossen wird; Symmetrie, Form, Struktur und Ornamentierung variabel; Zentrale Höhlung geschlossen oder mit verschiedenen Öffnungen, z.B. Poren, ein Schlitz oder unregelmäßiger Riss oder eine runde Öffnung (Pylom) [Evitt, 1963]".

Einige Autoren definierten die Gruppe der Acritarchen später mit Zusätzen oder generalisierend um eine Verwandtschaft der Acritarchen mit bestehenden taxonomischen Gruppen zu implizieren. Darunter fallen marine Algen und deren Fortpflanzungsstadien [Butterfield et al., 1994; Colbath, 1979; Tappan, 1980; Vidal, 1981], Dinoflagellaten [Evitt, 1963], Krustazeen-Eier und –Skelett-Bestandteile [Van Waveren & Marcus, 1993], Procaryoten [Butterfield et al., 1994] oder Palynomorphen [Richardson et al., 1984].

In der vorliegenden Arbeit wird der Begriff "Acritarch" sensu Evitt mit der Erweiterung "wahrscheinliche marine Algen und deren Fortpflanzungsstadien" gebraucht. Sowohl die bisher beschriebenen Eukaryoten des *Chichkan Chert* [Schopf et al., 1977; Schopf & Sovietov, 1976], als auch die hier untersuchten Sphären entsprechen dieser Klassifizierung am besten, weil einerseits verschiedene Morphologien auftreten, was der weit gefassten Definition von Evit entspricht und andererseits die Einzeller nach ihren Größenverteilungsmustern marinen einzelligen Algen ähnlich sind [Schopf & Sovietov, 1976].



Abb. 3-3 Größenverteilung aller Sphäromorphen in Conophyton Gaubitza des *Chichkan Chert* [Schopf & Sovietov, 1976]. Die Grafik umfasst sowohl wahrscheinliche Eukaryoten als auch wahrscheinliche Cyanobakterien. Der Anteil der wahrscheinlichen Algen fällt im rechten Teil der Grafik, ab Größen über 10 µm ins Gewicht (vgl. Abb. 2-1). Im Bereich zwischen 10 und 75 µm liegen mindestens 4 Häufungen, die verschiedenen Fossiliengruppen entsprechen können.

Wie in Kap. 2.1 beschrieben, wird als wichtigstes Merkmal für die Klassifizierung von präkambrischen sphäroidalen Mikrofossilien deren Größenverteilung innerhalb einer Population herangezogen. In Abb. 3-3 ist diese Größenverteilung für alle sphäroidalen Mikrofossilien (einschl. Cyanobakterien) aus dem Chichkan Chert gezeigt, wie sie von anderen gefunden wurde [Schopf & Sovietov, 1976]. Die bisherigen Bearbeiter bezeichnen die rundlichen Einzeller mit Größen über 10 µm, die in Conophyton Gaubitza auftreten allgemein als solitäre planktonische Algen, mit wahrscheinlicher Zugehörigkeit zu den Chlorophyceen, den Rhodophyceen oder beiden. Es wird allgemein festgestellt, dass wahrscheinlich viele Algen-Taxa vertreten sind. Diese Aussage ergibt sich aus der Beobachtung, dass Größen über 10 µm in der Verteilungskurve relativ stark und mit mehreren Häufungen bei 15, 20, 32 und 44 µm vertreten sind. Der Zusatz "planktonische" Algen leitet sich aus der Beobachtung ab, dass die Zellen gleichmäßig verteilt im ganzen Gestein vorkommen und nicht an die Laminae des Stromatolithen gebunden sind, also nicht direkt mit dem Wachstum der mikrobiellen Matte zu tun haben, sondern kontinuierlich mit der Hintergrundsedimentation in die mikrobielle Matte eingebaut wurden. Die Fossilien, die für die vorliegende Arbeit aus dem Chert isoliert wurden, fallen mit Größen zwischen 41 und 70 µm an das obere Ende der auftretenden Größen.

#### **3.2.3 Untersuchte Individuen**

Für die Versuche wurden neun unterschiedliche Acritarchen aus verschiedenen Proben des Chichkan Chert ausgewählt. Die einzelnen Individuen können demnach während der Fossilisierung und Diagenese unterschiedlichen Entwicklungen unterworfen gewesen sein. Die Zellen liegen mit Durchmessern zwischen etwa 41 und 70 µm im Größenordnungsbereich von sphäroidalen Eukaryoten (vgl. Abb. 3-4 mit Abb. 2-1). Allen ist die geschlossene rundliche Form gemeinsam. Zelle 1 hat als einzige eine unregelmäßig-ovale Form. Zellen 1, 2 und 4 haben 2-3 µm dicke, einschichtige Außenwände, die im zweidimensionalen Schnitt glatt erscheinen. Die große Mächtigkeit der Zellwand ist im Lichtmikroskop in einem äguatorialen Schnitt zu erkennen. Auch die tiefbraune Färbung des Zellinneren zeigt, dass eine hohe Konzentration von Kohlenstoff auf der ganzen Zelloberfläche vorliegt. Zelle 3 und 6 haben dünne, mehrschichtige Außenwände, mit glatter Oberfläche. Die vielen "Wandschichten" geben auch hier den Zellen eine tiefbraune Färbung im Inneren. Zelle 5 bildet bezüglich der mikroskopischen Wandstruktur eine Ausnahme, insofern als das organische Material nach innen hin diffus in den Zellkörper reicht. Die Zellen 7-9 haben eine sehr dünne Zellwand, die im lichtmikroskopischen Schnitt kaum zu sehen ist. Das Zellinnere erscheint hier fast so hell wie das Nebengestein. Auf der dünnen Zellwand sitzen dicke schwarze Ornamentierungen. Diese Ornamentierung ist bei Zelle 7 als Netzartiges Muster auf der Oberfläche angelegt und reicht mehrere Mikrometer ins Zelläußere hinaus. Die Ornamentierungen von Zelle 8 und 9 sind feiner als in Zelle 7. Die Ornamentierung ist vor allem zu sehen, wenn die Fokusebene des Mikroskops durch die Oberfläche der Zelle gelegt wird. Bei den Zellen 2 und 4 scheint im Zentralschnitt die Zellwand völlig glatt zu sein; um die Ornamentierung sichtbar zu machen ist daher für diese Zellen ein Oberflächenbild der Zelle eingefügt. Die Zellen 1-3 haben einen Einschluss organischen Materials, der einen Großteil des Zellvolumens einnimmt. Bei allen drei Zellen hat dieser Einschluss in etwa die gleiche Form wie die Zellwand selbst. Zelle 4 hat einen kleineren organischen Einschluss.

Zelle 6 hat zusätzlich zur inneren Zellwand noch eine feine Hülle, die im Abstand von etwa 10 µm die Zelle liegt (Abb. 3-4-6, Pfeil). Auch Zelle 4 hat in ähnlichem Abstand eine Sphäre auf deren Oberfläche organische Partikel angereichert sind (Pfeil). Diese können evtl. als Reste einer organischen Hülle (EPS) oder als Partikel interpretiert werden, die sich auf einer galertigen Scheidewand abgelagert hatten.



Abb. 3-4 Lichtmikroskopische Aufnahmen untersuchter Acritarchen. Zelle 1: unregelmäßig oval, 40-70µm Ø, Zellwand glatt, 2-3 µm dick und zum Teil durchbrochen (Pfeil), großer organischer Einschluss. Zelle 2: kugelförmig, ~53 µm Ø, Zellwand 2-3 µm dick, mit Netzmuster aus niedrigen Stegen, vollständig geschlossen, großer Organischer Einschluss. Zelle 3: sphäroidal mit mehreren Zellwänden; die Scherpunkte aller Sphäroide scheinen außerhalb des Zentrums zusammenzufallen, ~41  $\mu$ m Ø, Zellwand glatt, großer organischer Einschluss symmetrisch zu den Zellwänden. Zelle 4: kugelrund, 47,5 µm Ø, Zellwand 2-3 µm dick, mit Netzmuster aus niedrigen Stegen, vollständig geschlossen, kleiner Organischer Einschluss; in ~15 µm Abstand Ringförmige Anreicherung von Sapropelpartikeln (Scheidewand?). Zelle 5: annähernd kugelförmig, ~41 µm Ø, Zellwand unregelmäßig "ausgefranst", nach innen diffus, Dicke nicht bestimmbar. Zelle 6: unregelmäßig oval, 41-45 µm Ø, Zellwand glatt, mit mehreren feinsten parallelen Schichten, in ~10 µm Abstand eine zusätzliche äußere Zellwand oder Scheidewand. Zelle 7: annähernd kugelförmig, ~50 µm Ø, Zellwand dünn mit weit ausladender Ornamentierung in Form eines Netzmusters. Zelle 8: annähernd kugelförmig, ~42 μm Ø, Zellwand dünn mit dicken schwarzen fadenförmigen Ornamenten, die sich an die Zelloberfläche anschmiegen und auch ins Zelläußere hineinragen. Zelle 9: annähernd kugelförmig, ~50  $\mu$ m Ø, Zellwand dünn mit feinen schwarzen fadenförmigen Ornamenten, die sich an die Zelloberfläche anschmiegen und auch ins Zelläußere hineinragen. Alle Maßstabsbalken 10 µm.

Die hier bearbeiteten Zelltypen sind soweit bekannt noch nicht näher klassifiziert worden. Allerdings gibt es starke Ähnlichkeiten in Größe und Morphologie zu Acritarchen aus anderen Veröffentlichungen. Hier sind vor allem folgende Zellen zu nennen, die bereits anderswo beschrieben wurden: Zelle 2 und 4 ([Schopf & Sovietov, 1976] Fig.1A), ebenso Zelle 6 ([Schopf & Sovietov, 1976] Fig.1D) und Zellen 7-9 ([Schopf et al., 1977] Fig.1D).

## 3.3 Cyanobakterien

## 3.3.1 Bitter Springs Chert

Die zweite der untersuchten Fossilgruppen sind nach der informellen Klassifizierung der PPRG [Schopf, 1992a] wahrscheinliche Cyanobakterien, die aus dem *Bitter Springs Chert* herauspräpariert wurden. Das Gestein ist 850 Ma alt und entstammt der *Bitter Springs*-Formation im Amadeus Basin des nördlichen Territorium, Australien. Das bearbeitete Gestein wurde ebenfalls von J.W. Schopf zur Verfügung gestellt und kommt aus der Sammlung der PPRG. Die Probe wurde aus gebankten *Cherts*, 103 m unter dem Top des Love's Creek Member genommen, 0,6km nördlich des Ross River Tourist Camp bei Alice Springs (Probennummer: PPRG 1314) [Moore & Schopf, 1992].

Die Lokalität liegt zwischen den zwei stratigraphisch äquivalenten Lokalitäten "Ross River Area" [Schopf, 1968] und "Ellery Gorge" [Schopf & Blacic, 1971], in denen 48 Taxa der *Bitter Springs* Mikroflora beschrieben wurden. Die Ross River Aufschlüsse sind die Typlokalität für die hier bearbeitete Fossilgattung *Myxococcoides minor Schopf 1968* und sind nur 1 km von der Fundstelle des hier bearbeiteten Gesteins entfernt.

Die *Bitter Springs*-Formation liegt konkordant auf dem ober-präkambrischen, zum Teil grobklastischen Heavy Tree Quartzite, der mit einer Erosionsdiskordanz auf älterem präkambrischen Basement lagert. Die *Bitter Springs*-Formation selbst ist eine Folge feinklastischer, evaporitischer mariner Sedimente, die über 500 km<sup>2</sup> des Amadeus Basin aushält. Mikrobielle Bioherme sind in dieser Einheit weit verbreitet und in den häufigen primären *Cherts* konserviert. Die *Bitter Springs*-Formation wird diskordant von den glazialen Sedimenten der *Areyonga*-Formation überlagert.

Die Mikrofossilien kommen in laminierten, feinkörnigen *Chert*-Linsen und –Knollen vor, die oft eisenreiche (Verwitterungs-) Krusten aufweisen und zum Teil brekziiert sind.

Klüfte sind makroskopisch erkennbar und mit Gips und Quarz gefüllt [Schopf, 1968]. Der *Chert* selbst ist dicht aber brüchig, schwarz und wachsartig glänzend, mit einem bräunlichen Schimmer, der besonders an feinen Bruchkanten zu sehen ist. Die Laminierung der Stromatolithe ist unregelmäßig, mit Abständen von <1 mm bis 5 mm zwischen den kohlenstoffreichen Laminae und einer Laminaestärke von 5 bis 30 µm.



Abb. 3-5 Lichtmikroskopische Aufnahme eines Dünnschliffs des bearbeiteten *Bitter Springs* Stromatolithen. Zu sehen ist die horizontale Laminierung mit Abständen bis 5 mm zwischen den kohlenstoffreichen Laminae. Das Gestein besteht ausschließlich aus Quarz und Kerogen. Die Quarzkörner sind in den bernsteinfarbigen Lagen 1 feinkörnig bis 5 µm und in den weißen Lagen 2 grobkörnig bis 250 µm. Quarzlinsen wie die hier markierte erinnern an *bird eye structures*. In dunkelbraunen Lagen 3 hat die Umkristallisation des feinen *Cherts* gerade begonnen, so dass das Gestein aus Domänen mit angereichertem Kerogen (braun) und Kohlenstoff-freien Quarzaugen (weiß) besteht. Fossilien in körperlicher Erhaltung kommen ausschließlich in den feinkörnigen Chertlagen vor. In 4 ist eine Zelle markiert.

Mikroskopisch ist erkennbar, dass die braune bis bernsteinartige Färbung besonders in der Nähe von Kohlenstoffanreicherungen innerhalb der feinkörnigen Quarzmatrix auftritt (Abb. 3-5). Stellenweise ist diese Färbung von weißen grobkörnigen Quarzdomänen verdrängt. Diese Domänen sind oft schichtparallel, haben Kristallitgrößen bis zu 250  $\mu$ m, mit radial angeordneten Faserkristallen und zeigen eine Anreicherung von Kohlenstoff an deren Rändern. Nachdem die Faserkristalle häufig in Klüften auftreten, wurden sie von früheren Bearbeitern als sekundäre Quarzkristallisationen interpretiert [Schopf, 1968]. Die augenförmigen Quarzlinsen sind damit als ursprünglich kalzitische *bird eye structures* zu interpretieren. Kalzit ist allerdings auf Kluftfüllungen beschränkt und tritt selten auf, so dass die sekundäre Natur des Chert nicht eindeutig ist. Fossilien kommen ausschließlich in der feinkörnigen bräunlichen Matrix vor und sind in ihrer dreidimensionalen Gestalt erhalten.

Die Cherts der Formation haben im Durchschnitt einen Kohlenstoffgehalt von 0,18 mg C/g (Bandbreite 0,13-0,28) [Strauss et al., 1992a]. Das Kerogen der bearbeiteten Probe weist eine Isotopensignatur von  $\delta^{13}$ C vs. PDB = -29,7 ‰ (Bandbreite –30,2 bis –-25,5) auf [Strauss et al., 1992b]. Nach der Isotopen Anreicherung (Kap 2.3) und nach der stratiformen Wuchsform des Stromatolithen, sowie der sedimentologischen Abfolge [Schopf & Blacic, 1971] ist das Bitter Springs-Sediment als küstennah, flachmarin einzustufen.

Diagenesegrade für den Bitter Springs Chert variieren je nach Lokalität und sind für PPRG 1314 nicht im Einzelnen bekannt. Insgesamt werden die Cherts aber aufgrund ihrer Kerogenzusammensetzung als reif eingestuft und Höchsttemperaturen wurden von anderen auf 220-458 °C bestimmt [Strauss et al., 1992b]. Elementverteilungen von H/C liegen bei 0,39. Im Van Krevelen-Diagramm liegt dieser Wert fast am Endpunkt der Diagenesepfade, so dass die Molekulare Zusammensetzung des Kerogen zwischen reinem Graphit und hochverketteten aromatischen Kohlenstoffverbindungen anzusetzen ist. Tatsächlich wurde die molekulare Zusammensetzung des Kerogens für die Gesteine der Bitter Springs-Formation nach Extraktion des organischen Anteils auf ca. 80% Asphalt, ca. 5% Aromaten und ca. 15% gesättigte Kohlenwasserstoffe bestimmt [Strauss et al., 1992b].

## 3.3.2 Klassifizierung

Die reichhaltige Mikroflora wie sie in den oben genannten Typlokalitäten beschrieben ist, konnte im bearbeiteten Gesteinsstück nicht aufgefunden werden. Bis auf 2 Vorkommen ist die Probe gänzlich leer von filamentösen Cyanobakterien und Eukaryoten. Absolut vorherrschend ist das Auftreten von coccoidalen Fossilien mit runder bis ellipsoidaler Form. Für eine statistische Auswertung der geometrischen Abmessungen der Coccoiden wurden insgesamt 733 Zellen aus 80 Bakterienkolonien photographiert und vermessen. Die Durchmesser der Zellen reichen von 2 bis 26,5 µm, das Maximum liegt bei etwa 10 µm (Abb. 3-6). Damit fallen die Zellen in den Ähnlichkeitsbereich der heute lebenden Cyanobakterien, wie aus der Grau hinterlegten Kurve ersichtlich ist und können als wahrscheinliche Cyanobakterien gelten. Im Weiteren kann die Zugehörigkeit der Individuen nach der "Informal Revised Classification" [Schopf, 1992a] wie folgt spezifiziert werden:

Aus der Verteilungskurve kann abgelesen werden, dass lediglich ein einziges Maximum vorliegt, alle Cyanobakterienzellen also zu derselben Population gehören. Alle Zellkolonien weisen unregelmäßige Verteilung der Individuen im Raum mit variablem Abstand voneinander auf; die Zellen sind ausnahmslos kreisrunde bis rundliche Einzelzellen mit glatter bis feinst granulierter Wandstruktur ohne spezifische Zellteilungsmuster. Wenn Zellen dicht beieinander liegen, schmiegen sich deren Wände aneinander an, so dass verzerrte Formen entstehen. Die Kolonien gehören damit zur Gruppe der "Irregulären Kolonien coccoider Zellen" (CIR).

Für eine genauere Klassifizierung wurde die Bandbreite der kleinsten und größten Durchmesser innerhalb einer Zellkolonie untersucht. Diese Maßzahlen nutzen die Tatsache, dass alle Zellen einer Kolonie einer Zellteilungsgemeinschaft angehören, innerhalb der Kolonie also alte Zellen neben gerade frisch geteilten Zellen vorkommen. Die Größenverhältnisse zwischen kleinsten und größten Zellen gelten als typisch für die Art. Im Falle der Untersuchungsobjekte reichten die minimalen Zelldurchmesser innerhalb einzelner Kolonien von 2-10 µm und die maximalen Zelldurchmesser von 9,5-26,5 µm. Unter Berücksichtigung aller Ausreißer passt die Population in keine von der PPRG vorgeschlagenen Klassen. Wird allerdings nur die Verteilung der meisten Zellen (ohne Ausreißer) berücksichtigt, so gelten minimale Durchmesser von 4-10 µm und maximale Durchmesser von 9,5-15 µm und die Population fällt fast gänzlich in den Definitionsbereich der Gattung Myxococcoides minor Schopf 1968. In Abb. 3-6 sind die definitionsgemäßen [Schopf, 1992a] minimalen Durchmesser (3-10 µm) und die maximalen Durchmesser (9,5-12,8 µm) von Myxococcoides minor Schopf 1968 nach der "Informal Revised Classification" der PPRG mit blauen Linien markiert.

Die ursprüngliche Definition der Gattung [Schopf, 1968] beinhaltet 2 Spezies, die den zulässigen Größenbereich auf 18 µm Maximaldurchmesser erweitert. Die Bandbreite dieser Größendefinition ist in Abb. 3-6 mit roten Linien markiert. Für die ursprüngliche Klassifizierung wurden allerdings nur insgesamt 41 Zellen vermessen, so dass Schopf einräumt es könne eine größere morphologische Bandbreite für die Gattung existieren.

Der Autor hält die Definition der Gattung der untersuchten Fossilien als *Myxococcoides minor* Schopf 1968 nach allen Kriterien der Äußeren Form (rund bis ellipsoidal, verzerrt wenn angeschmiegt), der Zellwandstruktur (glatt bis feinst granuliert), der Verteilung innerhalb der Kolonie (unregelmäßig), der Form der Kolonie (unregelmäßig) und der Verteilung der Durchmesser (2-26,5 µm) für die beste Näherung an bestehende Gattungen.

Dabei bleibt offen, welche Arten in der vorliegenden Population beteiligt sind.



Abb. 3-6 Größenverteilung der Fossilienpopulation aus der die untersuchten Cyanobakterien stammen. Der schwarze Graph zeigt die absolute Häufigkeit aller gemessenen Durchmesser; diese reichen von 2 bis 26,5 µm, das Maximum liegt bei etwa 10 µm. Größenverteilungen für rezente kugelige Eubakterien, Cyanobakterien und Algen < 60 µm sind grau dargestellt. Der Definitionsbereich von *Myxococcoides minor* Schopf 1968 mit Minimal- und Maximaldurchmessern nach der Informal Revised Classification, PPRG [Schopf, 1992a] in Blau und nach der ursprünglichen Klassifizierung von Schopf (1968) [Schopf, 1968] in Rot.
# **3.3.3 Untersuchte Individuen**

Von den vorhandenen 80 Kolonien von Cyanobakterien wurden 11 mittels AFM untersucht. 4 der Experimente verliefen erfolgreich, so dass präparierte Strukturen eindeutig den zugrundeliegenden Fossilzellen zugeordnet werden konnten.

Abb. 3-7 zeigt die 4 Kolonien aus den erfolgreichen Experimenten. Proben 1 und 2 sind mit etwa 10 µm Durchmesser von der Größenverteilung der Zellen her typisch für die Gesamtheit der mikroskopierten Cyanobakterien. Die Zellwände sind in beiden Fällen glatt bis granuliert. Die Pfeile in Probe 2 zeigen dickere Granuli auf den sonst gleichmäßigen Wänden. Die Stärke der Zellwände ist innerhalb der Kolonien variabel, wie in Probe 1 deutlich zu sehen ist (alle Zellen liegen in der Fokusebene). Die meisten Einzelzellen liegen dicht gedrängt beieinander, so dass die runde Form verloren geht, wo sich Zellwände aneinander anschmiegen (Pfeil, Probe 1). Einige der Zellen am Rand der Kolonien sehen zerplatzt aus.



Abb. 3-7 Lichtmikroskopische Aufnahmen mit Übersicht über untersuchte Cyanobakterien aus Proben 1 bis 4. Proben 1 und 2 mit Durchmessern um 10 µm, leicht granulierten Zellwänden (Pfeile in Probe 2) und verformten Zellen durch die gedrängte Anordnung (Pfeil in Probe 1). Proben 3 und 4 mit Durchmessern um 7 µm, glatten Wänden und rundlicheren Formen bei lockerer Anordnung.

Proben 3 und 4 sind Kolonien mit etwas kleineren Zellen zwischen 6 und 9 µm Durchmesser. Die Zellwände sind gleichmäßig dick und glatt, mit wenigen Verdickungen in Probe 4 (Pfeil). Die Anordnung der Zellen innerhalb der Kolonien ist lockerer als in Proben 1 und 2.

# 4 Grundlagen der Rasterkraftmikroskopie

### 4.1 Rasterkraftmikroskopie

Die Rasterkraftmikroskopie ist eine noch junge Disziplin in den Geowissenschaften, daher wird an dieser Stelle detailliert auf Punkte eingegangen, die wichtig sind um AFM-Bilder interpretieren zu können.

## 4.1.1 Funktionsweise

Das bildgebende Verfahren des Rasterkraftmikroskops [Binnig et al., 1986] beruht auf der Messung der Wechselwirkung zwischen einer Tastspitze und der Probe über viele Punkte der Probenoberfläche, die zeilenweise abgerastert wird [Heckl & Marti, 1998]. Die Wechselwirkung setzt sich aus verschiedenen Kräften zusammen, für die kurze Reichweiten kennzeichnend sind, hauptsächlich aus der anziehenden Van-der-Waals-Kraft ( $F \sim r^{-6}$ ; r=Abstand Spitze/Probe) und der abstoßenden elektromagnetischen Wechselwirkung der Elektronenhüllen in AFM-Spitze und Probe ( $F \sim r^{-12}$ ) [Capella & Dietler, 1999; Stark, 2000]. Die Tastspitze hängt an einer Blattfeder, die sich zur Probe hin- oder von der Probe weg biegen kann, je nachdem ob Anziehung oder Abstoßungskräfte überwiegen. In der Ausgangslage beim Start eines Scanns herrscht zwischen der Nadelspitze und der Probe ein Kräftegleichgewicht, so dass die Blattfeder (engl.: Cantilever) in Ruhelage ist (Abb. 4-1).



Abb. 4-1 Schema zur Verbiegung des Cantilever im AFM beim Rastervorgang. In Ruhelage herrscht zwischen Nadelspitze und Oberfläche ein Kräftegleichgewicht, so dass der Cantilever nicht verbogen ist. Über einer Vertiefung in der Probe überwiegt die Anziehungskraft, über einer Erhebung überwiegt die Abstoßungskraft.

Bewegt sich die Nadel über ein Loch hinweg, so vergrößert sich der Abstand zur Probe und die anziehende Kraft überwiegt, so dass die Spitze sich nach unten biegt – umgekehrt wirkt über einer Erhebung Abstoßung auf die Spitze, so dass diese nach oben gedrückt wird [Capella & Dietler, 1999].

Beim Scan wird zu jedem Zeitpunkt die Verbiegung der Feder gemessen und die Spitze wird über einen Regelkreislauf mit einem Piezo-Scanner der Oberflächentopographie nachgeführt, bis sich die Feder wieder im Gleichgewicht befindet.

Die Regelelektronik des AFM ist darauf ausgerichtet, die Federverbiegung konstant zu halten. Von einer willkürlichen 0-Position ausgehend wird die z-Position des Scanners durch den Regelkreis ständig (mit einer Zeitkonstanten << 1 ms) so angepasst, dass diese Verbiegung, gemessen als Detektorsignal, stets dem eingegebenen Sollwert (*Setpoint*) entspricht. Die Regelung ist über einen PID-Regler realisiert, dessen Funktion von der Scangeschwindigkeit, der Regelgeschwindigkeit, der relativen Reliefänderung, sowie mechanischen und elektronischen Resonanzen abhängt. Alle Parameter bilden zusammen ein komplexes System, das so optimiert wird, dass der Z-Piezo dem Relief optimal folgen kann. Die Nachführbewegung des Piezos wird für alle Bildpunkte aufgezeichnet und geht als Höheninformation in den Bilddatensatz ein, so dass zu jedem Bildpunkt (X,Y) echte dreidimensionale Daten (Z) generiert werden (Abb. 4-2).

Die Detektion der Cantilever-Verbiegung ist die Grundlage für den beschriebenen Regelkreislauf; sie ist in den meisten Geräten über einen Lichtzeiger realisiert [Meyer & Amer, 1990]. Hierbei wird ein Laserstrahl von der Rückseite des Cantilever in eine Photodiode reflektiert, die sich aus vier Quadranten zusammensetzt. Der Lichteinfall erzeugt einen Stromfluss auf der Photodiode, dessen Richtung und Größe davon abhängt, in welchen Quadranten der Laserstrahl trifft. Somit wird die mechanische Verbiegung der Blattfeder in einen messbaren Stromfluss umgesetzt.

### 4.1.2 Auflösung

Die Rasterbewegung wird durch einen Scanner ausgeführt, der aus Piezo-Kristallen aufgebaut ist. Je nach Bedarf sind diese verschieden dimensioniert und angeordnet. Dabei gilt, dass die Präzision der Bewegung umso höher ist, je kleiner die Piezos ausgelegt sind. Typische maximale Scanweiten liegen bei etwa 100 µm in X- und Y-Richtung und bei 10 µm in Z-Richtung. Der Scan ist Software-gesteuert, so dass die Oberfläche der Probe in beliebiger Richtung und mit variablen Zeilenabständen und - Längen abgetastet werden kann. Typische Bilder haben zwischen 300 und 500 Zeilen und dabei 300 bzw. 500 Bildpunkte pro Zeile. Der Pfad, den die Nadelspitze über der Probe beschreibt ist in Abb. 4-2 schematisch mit Pfeilen skizziert. Die Auflösung des Bildes errechnet sich aus Zeilenlänge und Anzahl der Bildpunkte, z.B. eine Auflösung von 33 nm bei 300 Bildpunkten in 10 µm-Bildern.



Abb. 4-2 Schematische Darstellung eines Scanvorgangs im AFM. Der Scanner bewegt die Tastspitze zeilenweise über einen definierten Bereich der Probe (Pfeile). Die Tastspitze sitzt an einer Feder, die sich je nach Relief verbiegt, was mit Hilfe eines Lichtzeigers auf den Detektor übertragen wird. Im Detektor wird ein elektrisches Signal erzeugt, das in einen Regelkreislauf eingeht, der die Auslenkung des Piezo-Scanners in Z-Richtung steuert. Durch die Regelung wird die Tastspitze der Probenoberfläche nachgeführt. Die Auslenkung der Blattfeder (=Kräfte) und die Nachführbewegung des Scanners (=Topographie) werden im Bild gespeichert.

Die laterale Auflösung des AFM wird nicht nur durch die Anzahl der gemessenen Punkte pro Fläche definiert, sondern auch dadurch, wie genau die Feder auf eine tatsächliche Änderung im Relief anspricht. Dies hängt von der Größe der Reliefelemente sowie vom Radius der Nadelspitze einerseits und von der Reichweite der wirkenden Kräfte andererseits ab. Die Glattheit der Probe spielt also für hochauflösende Messungen eine entscheidende Rolle. Weiteres hierzu ist in Kap. 4.1.5 beschrieben.

#### 4.1.3 Topografische Information

Das Rasterkraftmikroskop ist sehr universell einsetzbar, weil damit prinzipiell jede beliebige Oberfläche abgebildet werden kann, so lange das Relief den Umfang des Scanners nicht übersteigt.

Die Tatsache, dass mit dem AFM "nur" die Oberfläche von Objekten abgebildet wird, bringt zum Teil aber auch Schwierigkeiten bei der Interpretation der Bilder mit sich, v.a. für Betrachter, die an lichtmikroskopische Aufnahmen gewöhnt sind. Lichtbilder beinhalten immer auch Tiefeninformation, die in AFM-Bildern fehlt. Im Falle von kugeligen Mikrofossilien werden im Lichtmikroskop stark dessen äquatoriale Bereiche betont, polnahe Zellteile erscheinen oft hauchdünn bis unsichtbar. Dabei sieht das Auge eine Zellwand, die als dicke, solide Struktur erscheint, in Wirklichkeit aber eine hauchdünne Zellwand ist, die über mehrere Mikrometer Tiefe überlagert betrachtet wird. Das AFM zeigt dagegen nur die Strukturen, die auch an die Oberfläche des Dünnschliffs treten. Dort werden die Zellen bei der Präparation oft etwas oberhalb des Äquators auf einem Kleinkreis angeschnitten, so dass die Struktur, die an der Oberfläche austritt, kleiner ist als der wirkliche Durchmesser des Fossils. AFM-Topographiebilder sind daher oft nicht deckungsgleich mit Durchlicht-Aufnahmen desselben Objektes. Zellwände erscheinen dünner und die Fossildurchmesser erscheinen kleiner als unter dem Lichtmikroskop.

Die topographische Information ist in AFM-Bildern mit einer Farbskala wiedergegeben. Typischerweise sind Tiefen als dunkle Bildpunkte wiedergegeben und Höhen hell dargestellt. Die Farbskala hat einen Umfang von 16 bit, die linear über alle auftretenden Höhen verteilt werden. In einem Bild mit sehr großen Reliefunterschieden fallen wenige Farben auf kleine Strukturen, es dominieren daher die großen Strukturen - kleine verlieren an Kontrast. Mit entsprechender Software kann die Farbskala beliebig angepasst werden, so dass kleine Strukturen besser sichtbar sind. Große Höhen sind in diesen Bilder dann "überstrahlt", weil weniger Farben für diese Bereiche zur Verfügung stehen. In vielen Fällen ist es wünschenswert, den kontrastreichen Bereich nicht nur auf kleine Strukturen zu konzentrieren, sondern möglichst weit auszudehnen. Dies kann z.B. durch Abschneiden von Ausreißern realisiert werden, also von hohen Bildpunkten, die als Fehler im Bild mit gespeichert sind. Näheres hierzu, s. Kap. 4.1.5.

32

#### 4.1.4 Kraftspektroskopie

Mit Hilfe der Kraftspektroskopie werden die physikalischen Eigenschaften von Oberflächen gemessen, z.B. Elastizität, Festigkeit und Adhäsion. Es wird die Nadelspitze über einem festen Punkt der Probe aus einem gewissen Abstand einmal an die Probe angenähert, ein Stück weit auf die Probe gedrückt, wobei sich der Anpressdruck der Nadel erhöht, und wieder zurückgezogen. Während des Zyklus variiert die Verbiegung der Blattfeder, sie wird zu jeder Zeit des Vorganges gemessen und kann in einem Kraft-Abstands-Diagramm dargestellt werden.

In Abb. 4-3 ist eine schematische Annäherungskurve [Knapp, 1998] in blau eingetragen und die Rückzugskurve in schwarz. So lange die Nadelspitze weiter von der Oberfläche entfernt ist, als die wirkenden Kräfte reichen, ist die Feder in Ruhelage. In einem gewissen Abstand, der von den Eigenschaften der beteiligten Materialien abhängt, beginnt eine anziehende Wechselwirkung die Feder an die Probe zu ziehen und die Feder biegt sich zur Probe hin. Bei weiterer Annäherung werden die Anziehungskräfte irgendwann so groß, dass die Nadelspitze auf die Oberfläche auftrifft. Dies ist der tiefste Punkt in der blauen Kurve im Diagramm. Sobald die Spitze die Oberfläche berührt beginnen kürzer reichende abstoßende Kräfte der Anziehung entgegenzuwirken, so dass bei weiterem "Annähern" der Cantilever sich in die umgekehrte Richtung zurückbiegt, so lange bis wieder ein Kräftegleichgewicht herrscht. Bei weiterem Nähern der Nadel biegen die Druckkräfte die Feder so lange linear weiter durch, bis die Spannung die sich am Messpunkt aufbaut größer wird als die mechanische Festigkeit des Materials (von Spitze und Probe). Bei sehr weichen Proben verläuft die Kraftkurve dann nicht linear und/oder in Stufen, wenn sich die Nadel in die Oberfläche einsenkt [Tao et al., 1992; Vanlandingham et al., 1997]. Im Diagramm ist eine sehr harte Probe gezeigt (wie die in dieser Arbeit untersuchten Materialien); hier liefert die Unterlage genug Widerstand um die Feder sehr weit durchzubiegen. Die blaue Linie ist dann nach oben beliebig fortdenkbar, so lange bis die Feder bricht; deren Steigung ist proportional zur Federhärte. In vielen Fällen führt der Aufgebaute Druck zu Verformungen auf der Nanometerskala, so dass sich der Kontaktbereich von Spitze und Probe vergrößert. Dadurch vergrößert sich der Wechselwirkungsbereich und dementsprechend auch die Anziehenden Kräfte zwischen beiden Objekten.

Ein Eintauchen in eine Hydrathülle, die unter normalen Laborbedingungen praktische jede Oberfläche bedeckt, führt zu einem Wassermeniskus um die Nadelspitze und damit ebenfalls zu höheren Anziehungskräften [Israelachvili, 1991].



Abb. 4-3 Schemazeichnung einer Kraft-Abstandskurve. Die blaue Linie stellt die Verbiegung der Blattfeder während der Annäherungsphase dar, die schwarze Linie gilt für die Rückzugsphase. Die Feder ist im Bereich unterhalb der gestrichelten Linie zur Probe hin gebogen, direkt auf der Linie ist sie entspannt und oberhalb der Linie wird sie an der Probe nach oben gebogen. Der "Abstand" muss genauer als Ausdehnung des Z-Piezos beschrieben werden, weil sich der wirkliche Abstand der Nadelspitze von der Probe nicht mehr verändert, so lange sich beide berühren. Dies ist im steilen Teil der Kurve und ein Stück weit im unteren Teil der Rückzugskurve der Fall.

Beim Zurückziehen der Nadel entspannt sich der Cantilever wieder, so lange bis die Anziehenden Kräfte wieder größer werden als die Abstoßung (Kontaktpunkt in der schwarzen Kurve). Nachdem sich die Summe der Anziehenden Kräfte nach dem ersten Kontakt vergrößert hat, liegt dieser Punkt tiefer als der Punkt des ersten Kontaktes. Aus der Differenz zwischen beiden Punkten errechnet sich der Effekt, den die Hydrathülle und die Verformung der Oberflächen auf das Gesamtsystem haben. Die ist gewissermaßen ein Maß für die "Klebrigkeit" der untersuchten Stelle [Greenwood & Johnson, 1981]. Wird die Nadel weiter zurückgezogen, so überwiegt an einem bestimmten Punkt die Federkraft alle wirkenden Anziehungskräfte und der Cantilever springt zurück in die Null-Lage. Die Differenz zwischen dem tiefsten Punkt der Rückzugskurve und der Null-Lage ist ein Maß für die Gesamt-Adhäsion, die für den Messpunkt auf der Probe charakteristisch ist [Capella & Dietler, 1999].

Eine quantitative Angabe der Kräfte in Kraft-Abstandskurven ist nach der Skalierung des Koordinatensystems möglich. Nachdem der Abstand oder genauer gesagt die Auslenkung des Z-Piezos ein direkter Ausgabewert des Mikroskops ist, muss dazu noch die Federkonstante des verwendeten Cantilever bestimmt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde die Federkonstante mit einer Methode bestimmt, die auf der Messung der Resonanzfrequenz von rechtwinkligen Balkenfedern an Luft basiert. Die Methode wurde von Sader et al. [Sader, 1998; Sader et al., 1999; Sader et al., 1995] vorgeschlagen und ist anderswo zusammenfassend erläutert [Hennemeyer, 2001]. Die Federkonstante k errechnet sich wie folgt:

k = 0,1906 ρ<sub>Luft</sub>  $b^2 LQ_{Luft}$  Γ<sub>i</sub> ( $\omega_{Luft}$ )  $\omega^2_{Luft}$ 

wobei b und L, die Breite und Länge der Blattfeder im Lichtmikroskop und die erste Resonanzfrequenz des Cantilever  $\omega_{Luft}$  am AFM selbst bestimmt werden können. Die Dichte  $\rho_{Luft}$  und Viskosität  $Q_{Luft}$  der Luft hängen von den Umgebungsbedingungen Temperatur, Druck und Luftfeuchtigkeit ab und können mit empirischen Formeln aus der Literatur bestimmt werden [Bohl, 1998; Idechik et al., 1986].  $\Gamma_i$  ist der imaginäre Teil der Hydrodynamischen Funktion, in die weiterhin die Reynoldszahl von Luft und ein numerisch bestimmter Korrekturfaktor [Sader et al., 1999] eingeht.

Mit der bekannten Federkonstante wird die Kräfteskala im Kraft-Abstandsdiagramm skaliert; unter der Annahme, dass die untersuchten Materialien so hart sind, dass deren Verformung vernachlässigt werden kann entspricht die Steigung der Geraden im repulsiven Teil der Kurve genau der Federkonstante. Gemessene Kräfte liegen in der Größenordnung von pico Newton.

#### 4.1.5 Numerische Charakterisierung von Oberflächen

Neben dem Ausmessen von Oberflächen mit Hilfe von Profillinien, die durch den dreidimensionalen Datensatz gelegt werden können, ist es oft wünschenswert die Oberflächentopographie in Zahlen zu fassen. Eine Methode, die in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde ist die Bestimmung der relativen Oberflächenrauigkeit (SDR), mit deren Hilfe Aussagen über die Geschwindigkeit des Ätzprozesses bei der Fossilpräparation gemacht werden können. Der Parameter SDR errechnet sich aus der Differenz der tatsächlich gemessenen Fläche von einer absolut glatten Ebene mit gleicher Grundfläche.

Die tatsächlich gemessene Fläche ist die Summe aller Flächenelemente A, die sich an der Position (k, l) im Raum befinden. Insgesamt gibt es M Flächenelemente in x Richtung und N Flächenelemente in y Richtung, so dass k und I eine Zahl zwischen 1 und M bzw. 1 und N annehmen kann. Um den relativen Flächenzuwachs in Prozent darzustellen, den die Oberfläche im Verhältnis zur glatten Fläche hat, wird die Differenz noch durch die Grundfläche geteilt und mit 100 multipliziert.

$$S_{dr} = \frac{\left(\sum_{k=0}^{M-2} \sum_{l=0}^{N-2} A_{kl}\right) - (M-1)(N-1)\delta x \delta y}{(M-1)(N-1)\delta x \delta y}$$
 100%

$$A_{kl} = \frac{1}{4} \left( \sqrt{\delta y^2 + (z(x_k, y_l) - z(x_k, y_{l+1}))^2} + \sqrt{\delta y^2 + (z(x_{k+1}, y_l) - z(x_{k+1}, y_{l+1}))^2} \right) \\ \left( \sqrt{\delta x^2 + (z(x_k, y_l) - z(x_{k+1}, y_l))^2} + \sqrt{\delta x^2 + (z(x_k, y_{l+1}) - z(x_{k+1}, y_{l+1}))^2} \right)$$

Die Größe der einzelnen Flächenelemente  $A_{kl}$  wird mit dem Viertel einer rechteckigen Fläche angenähert, dessen Kantenlängen jeweils die Summe der Kanten der tatsächlichen Fläche in x bzw. y Richtung ist. Die Länge der tatsächlichen Kanten ergeben sich aus dem Satz des Pythagoras, wie in Abb. 4-4 dargestellt.



Abb. 4-4 Berechnung der Kantenlängen eines Flächenelementes für den Rauigkeitsparameter SDR [Stout et al., 1994]. Die Länge jeder Seite des Flächenelementes errechnet sich durch Einsetzen der Z-Koordinaten an den jeweiligen Punkten x und y in den Satz des Pythagoras.

#### 4.1.6 Abbildungsartefakte

#### 4.1.6.1 Verzerrungen

Die Ausdehnung von Piezos ist nicht linear. Abb. 4-5 zeigt die Ausdehnungskurve eines Piezos über einen Dehnungsbereich von 100 µm und die zugehörige Spannung. Zu erkennen ist eine relativ starke Hysterese bei einmaligem Ausdehnen und Zusammenziehen. Durch die Hysterese ist der Hinweg und der Rückweg eines Scanners selten gleich. Wenn sich der Piezo eines AFM-Scanners über größere Bereiche bewegt, sind die resultierenden Bilder daher meistens verzerrt. Die Nicht-Linearität kann durch Hardware-Korrekturen ausgeglichen werden oder wie in der vorliegenden Arbeit durch Software-Korrekturen in Form von Korrekturtabellen. Tabellen bleiben für diese Anwendung jedoch immer ein Kompromiss, weil das Zusammenspiel verschiedener Piezos komplex ist, so dass nicht für jeden Ausdehnungszustand ein entsprechender Korrekturfaktor geliefert werden kann.



Abb. 4-5 Schema für das Ausdehnungsverhalten der verwendeten Piezo-Scanner für einmaliges Ausdehnen und Zusammenziehen [Howland & Benatar, 1993].

Hinzu kommt, dass die verwendeten Piezos im Laufe der Zeit altern und ihre Eigenschaften verändern. Weiterhin beeinflussen Umweltparameter wie Temperatur oder Luftzug und die Vordehnung des Piezos dessen Ausdehnungsverhalten. Die Folge ist, dass die nicht-linearen Verzerrungen für jeden Bildausschnitt und jeden Zoom unterschiedlich sind und besonders bei großen Bildern über 20 µm Kantenlänge starken Einfluss haben. Die Bilder, die der Topometrix-Explorer liefert sind in der Regel bis zu 30% in einer Dimension verzerrt.

Wenig verzerrte Bilder liefert der Explorer dagegen bei 10 µm Kantenlänge, weil der Fehler bei geringen Bildgrößen weniger ins Gewicht fällt. Verzerrte Bilder können mit Standardproben mit bekannten Abmessungen nachvollzogen und korrigiert werden. Bei großen Bildern kann ein Vergleich mit lichtmikroskopischen Aufnahmen zur Bestimmung der Verzerrung herangezogen werden.

#### 4.1.6.2 Geometrische Effekte an der Spitze

Die Auflösung von AFM-Bildern hängt sowohl von der Anzahl der vermessenen Bildpunkte und dem Fehler der zugehörigen X-Y-Koordinaten ab, als auch von den geometrischen Dimensionen der Nadelspitze und des Reliefs. Auf der allerkleinsten Skala ist die AFM-Nadel an der vordersten Spitze unendlich dünn, weil es immer eine vorderste Stelle gibt, an der ein einziges Atom alle anderen überragt. Wenn die abgebildete Probe atomar glatt ist und die Wechselwirkung zwischen dem vordersten Atom und der Oberfläche mit entsprechender Genauigkeit gemessen werden kann, so ist die Auflösung des Bildes nur von der Ausdehnung der vordersten Atome und der Reichweite der Wechselwirkungen abhängig, die von ihnen ausgehen [Capella & Dietler, 1999]. In der Realität und insbesondere unter den Bedingungen an Luft im Labor ist allerdings keine Oberfläche atomar glatt, weil immer Reaktionssäume, Staub, Wasserfilme und das Relief der Probe selbst Erhöhungen und Tiefen darstellen, die viel größer sind als das vorderste Atom der Nadel. Andere Bereiche der Nadelspitze werden dann verstärkt an der Wechselwirkung mit der Oberfläche teilhaben und die Auflösung verschlechtern. Für die tatsächliche Auflösung spielt daher die geometrische Form der Nadelspitze eine entscheidende Rolle [Westra & Thomson, 1994].



Abb. 4-6 Schematische Darstellung geometrischer Abbildungseffekte. Die schwarze Linie skizziert den beim Scan zurückgelegten Pfad einer Nadelspitze mit dreieckiger Form und kugeliger Spitze. Der Pfad hängt in den Fällen 1 und 2 vom Spitzenradius r und in Fall 3 zusätzlich vom Öffnungswinkel der Nadelspitze ab. Das Bild zeigt die geometrische Form einer hochwertigen Nadelspitze, wie sie für die Experimente in dieser Arbeit verwendet wurde (Nanosensors, SSS-NCH, [Nanosensors-Produktkatalog]).

Wenn die Oberflächenstrukturen eine ähnliche Größe haben wie die Nadel oder kleiner sind, so wird die Topographie nicht korrekt abgebildet und die Auflösung verkleinert sich auf die Abmessung der Nadelspitze. Dazu einige Beispiele [Howland & Benatar, 1993]:

Abb. 4-6 zeigt den Weg, den die AFM-Nadel zurücklegt, wenn sie einer Oberfläche folgt.

Im ersten Fall ist das vordere Ende der Nadel gleich groß / rund wie die Erhebung, über die die Nadel fährt. Der zurückgelegte Weg beschreibt einen Kreis mit einem Durchmesser, der die Breite der Erhebung überschätzt. Im zweiten Fall suggeriert der zurückgelegte Pfad eine zu schmale Vertiefung. In beiden Fällen würde die Topographie nur mit einer spitzeren Nadel wahrheitsgetreu abgebildet. Der dritte Fall stellt ein topographisches Element mit Flanken dar, die steiler sind als der Öffnungswinkel der Nadel. Weil das Objekt höher ist, als die vordere Spitze der Nadel, stößt diese mit ihren Flanken an das Objekt und berührt den Sockel des Objektes auf ihrem Weg nicht. In der Folge beschreibt die Nadel einen Weg mit dreieckiger Form, der in drei Dimensionen genau die Form der Nadel selbst reflektiert, nämlich die einer Pyramide. Zusammenfassend kann man sagen, dass nur Objekte, die Größer und flacher sind als die Nadelspitze richtig abgebildet werden.

Bildausschnitt [4] zeigt die Form der für die vorliegende Arbeit verwendeten AFM-Nadeln (Nanosensors, SSS-NCH). Der typische Spitzenradius der Nadeln beträgt 10 nm und der Öffnungswinkel im untersten Bereich liegt bei ca. 3°. Im oberen Bereich (höher als 1,5 µm) ist der Öffnungswinkel größer, so dass Erhebungen größer als 1,5 µm möglicherweise verfälscht abgebildet werden. Abbildungsartefakte, die aus geometrischen Effekten entstehen, können zu einem gewissen Grad aus dem Bild herausgerechnet werden; dabei kann aber nie fehlende Information nachträglich erzeugt werden, wo das Relief nicht korrekt abgerastert wurde.

#### 4.1.6.3 Kratzer, Stufen und Ausreißer

Staub oder losgelöste Partikel können beim Scannen an der Nadel haften bleiben und damit die Form der Spitze verändern, z.B. die Nadel verlängern. Im Laufe der Zeit fallen die anhaftenden Partikel wieder ab – dabei sackt der Piezo einige Nanometer oder mehr nach unten: der Rest der Zeile erscheint tiefer als das vorangegangene Stück. Im Bild erscheint das scheinbar höhere Stück der Zeile als horizontaler Kratzer. Den gleichen Effekt hat das Abbrechen von Spitzenteilen bei hoher Beanspruchung, vor allem bei starken Reliefunterschieden und schnellen Scangeschwindigkeiten. Hier ist die Regelung zu träge um die Steigung auszugleichen, so dass die Höhenänderung allein von der Feder abgefangen werden muss. Bei starken Scherkräften bricht dann entweder die ganze Feder oder kleine Teile der Nadelspitze ab, was im Bild dokumentiert wird. Wenn das Aufnehmen und wieder Abgeben eines Partikels extrem schnell passiert, so erscheint die Störung im Bild als extrem kurzer Kratzer oder nur als punktförmiger Ausreißer. Wenn sich ein Partikel lange an der Nadelspitze hält, erscheint die Störung als Stufe, die sich parallel zur Scanrichtung durch das Bild zieht.

Ähnliche punktförmige Störungen gelangen in das Bild, wenn es im Regelkreis zu Rückkopplungen kommt. Dies passiert vor allem bei hohen Scangeschwindigkeiten, wenn die Regelung große Reliefunterschiede nicht rechtzeitig ausgleichen kann, weil die Federverbiegung und damit das Detektorsignal weit vom vorgegebenen Sollwert abweicht. Bei hohen Regelgeschwindigkeiten ist der Regelkreis darauf ausgerichtet, die Federverbiegung möglichst schnell auszugleichen, wobei der Z-Piezo "über das Ziel hinaus schießen" kann und eine umgekehrt gerichtete starke Verbiegung der Feder verursacht. Dies führt zu einer Aufschaukelung/Vibration bei der der Z-Piezo Bewegungen um die 0-Lage des Sollwertes ausführt. Derartige Vibrationen des Z-Piezos liegen hinter topographischen Kanten auf der Probenoberfläche und erscheinen ebenfalls als Ausreißer im Bild.

Ausreißer, Kratzer und Stufen können unter Umständen topographisch sehr hoch liegen und die Farbtiefe des Bildes verschlechtern. Durch Datennachbearbeitung können Kratzer, Stufen und Ausreißer entfernt werden (Kap. 8.2).

# 5 Entwicklung einer neuen Präparationsmethode von Mikrofossilien für das Kraftmikroskop

Bei Einführung einer neuen Methode in die Wissenschaft erleichtert es den Vergleich der neu gewonnenen Informationen mit bestehendem Wissen, wenn die neuartigen Daten direkt auf alten Daten fußen oder auf diese zurückgeführt werden können. Um dieses Kriterium in der vorliegenden Arbeit zu erfüllen, wurde eine Präparationsmethode für silifizierte Mikrofossilien entwickelt, die einen direkten Vergleich von lichtmikroskopischen Aufnahmen mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen (engl.: *Scanning Electron Microscope*, SEM). und kraftmikroskopischen Bildern ermöglicht.

Die Methodik, Mikrofossilien aus *Chert*-Gesteinen mittels AFM zu untersuchen, ist soweit bekannt bisher nie von anderen angewendet worden. Es konnte daher nicht auf bestehende Erfahrungen zur Präparation oder zum Messverfahren zurückgegriffen werden. Die Säure-Präparation von Mikrofossilien für AFM-Experimente wurde deshalb hier neu entwickelt. Um AFM-Bilder eindeutig mit herkömmlichen lichtmikroskopischen Aufnahmen vergleichen zu können, wurde darauf geachtet, die Fossilien bei der Präparation im Gesteinsverband zu belassen, so dass an ein und demselben Objekt und an einer gut dokumentierten Stelle im Gestein klassische Lichtmikroskopie, Elektronenmikroskopie, Raman-Spektroskopie und Rasterkraftmikroskopie durchgeführt werden konnten.

Die Methoden wurde vor allem an Acritarchen aus dem *Chichkan Chert* getestet, weil hier Fossilien vorliegen, die erstens für AFM-Experimente eine Ideale Größe haben (Mit einem Scannbereich von 100 µm ist ein Fossil gerade abzudecken.) und weil zweitens in den zur Verfügung stehenden Objekten sehr gut erhaltene, dicke organische Zellwände vorhanden waren, die gute Voraussetzungen für die Anwendung dieser neuen Methode bieten.

Bei der im folgenden beschriebenen Präparationsmethode wird ein Gesteinsdünnschliff angefertigt, der während aller Messungen erhalten bleibt, so dass nacheinander verschiedene Methoden auf das Material angewendet werden können.

Der Dünnschliff wird für AFM-Messungen angeätzt, damit die zu untersuchenden Fossilien aus der umgebenden Gesteinsmatrix hervortreten. Die Fossilien bleiben dabei aber am Ort der Einbettung, so dass der Kontext zum Umgebungsgestein, zu den Sedimentstrukturen und anderen Fossilien erhalten bleibt. So präparierte Fossilien werden außerdem angeschnitten – meist in etwa halbiert – so dass sowohl die umgebende, als auch die ausfüllende Gesteinsmatrix zusammen mit der eigentlichen Zellwand des Fossils untersucht werden kann.

Im folgenden sind die einzelnen Präparationsschritte, sowie hier durchgeführte Versuche zur Evaluierung der Effektivität der Methode beschrieben.

# 5.1 Gesteinsdünnschliff

Die Dünnschliffe wurden relativ dick mit einer Stärke von 200 µm angefertigt, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass ein Fossil im Gesteinsvolumen vorliegt. Die glasklaren, reinen *Cherts* dieser Untersuchung sind gut lichtdurchlässig, so dass die Lichtstärke eines durchschnittlichen Mikroskops ausreicht. Problematisch ist die Schliffdicke von 200 µm erst nach dem Ätzvorgang, der starke Lichtstreuung an der Oberfläche verursacht. Die Gesteine wurden mit durchsichtigem, Aceton-löslichen Heißkleber auf handelsübliche (7,5 x 2,5 cm) Glas-Objektträger montiert. Dadurch konnten die Gesteinsplättchen für verschiedene Versuche später auf andere Objekt-träger gebracht werden. Der verwendete Heißkleber sollte flusssäureresistent sein.

## 5.2 Lokalisierung von Fossilien

Die Dünnschliffe wurden mit dem Lichtmikroskop systematisch in allen Fokusebenen nach Fossilien durchsucht. Fossilien wurden unter dem Binokular mit einem dünnen permanenten Stift auf der Gesteinsseite- und anschließend mit einem Diamantritzer noch einmal auf der Glasseite des Schliffes markiert. Ein Schliff, der mehrere Fossilien enthielt, wurde mit der Diamantsäge geteilt; die Einzelstücke wurden separat aufgeklebt, so dass jedes Fossil getrennt präpariert werden konnte.

# 5.3 Anschliff

Der schwierigste Schritt der Präparation besteht darin, die Fossilien an die Oberfläche des Schliffes zu bringen. Dieser Vorgang ist für eine erfolgreiche kraftmikroskopische Messung essentiell, weil das Kraftmikroskop die Oberfläche einer Probe abrastert, also ein Fossil das nur wenige Nanometer unterhalb der Schliffoberfläche liegt nicht für AFM nicht zugänglich wäre. Der Versuch diesen Schritt durch bloßes Anätzen des Dünnschliffes durchzuführen ist wenig vielversprechend, weil mit zunehmender Ätzzeit die Gesteinsoberfläche porös und instabil wird, so dass AFM-Messungen unmöglich sind. Das Ätzverhalten der *Cherts* ist in Kap. 8.3.1 näher beschrieben.

Für eine mechanische Präparation der Fossilien wurde zunächst deren Tiefe unterhalb der Schliffoberfläche am Lichtmikroskop bestimmt. Der Schliff wurde anschließend mit feinem Schleifpulver (Körnung 800) und Wasser per Hand auf einer Glasplatte so lange gedünnt, bis das Fossil an der Oberfläche angeschliffen wurde. In der Regel wurden die Fossilien dabei halbiert. Um das vollständige Abschleifen des Fossils zu vermeiden, wurde die Tiefenlage des Fossils in Abständen am Mikroskop kontrolliert. Eine entsprechend Raue Oberfläche macht diese Kontrolle extrem schwierig so dass die kleinen Fossilien nur durch die Markierung auf der Rückseite des Glases wiedergefunden werden konnten. Die Kontrolle erfolgte mit nasser Oberfläche des Schliffs oder nach einer Feinpolitur.

Nach erfolgreichem Anschnitt der Fossilien wurden zuletzt die Dünnschliffe mit Diamant-Schleifpulver und Alkohol auf der Drehscheibe poliert, bis die Gesteinsoberfläche in der direkten Umgebung des Fossils optisch glatt war. Dazu wurden Politurserien mit 6 µm, 3 µm, 1 µm und 0,25 µm Körnung des Poliermittels vorgenommen.

#### 5.4 Flusssäure-Anwendungen

Sobald die Zellsubstanz der Fossilien direkt an der Schliffoberfläche liegt, genügt der Abtrag von wenig Matrixmaterial um die Zellwand völlig freizulegen. Nachdem alle untersuchten Fossilien in Stromatolithen konserviert sind, wurde zunächst in mehreren Reihen mit verschiedenen Anwendungen von Flusssäure das Lösungsverhalten des Stromatolith-Chertmaterials untersucht um die Parameter für eine Präparation zu bestimmen, die für AFM-Experimente geeignet ist.

Prinzipiell sind für eine Präparation von organischem Kohlenstoff in *Chert* Ätzmittel geeignet, die selektiv Quarz lösen, nicht aber das Kohlenstoffmaterial. Als standard Ätzmittel wie auch in der vorliegenden Arbeit wird dafür Flusssäure verwendet. Bei Flusssäure-Anwendung steht das Ätzen im Säuredampf oder in der Flüssigkeit zur Auswahl. Zusätzlich kann die Probe im Medium in der Schwebe gehalten werden oder auf der Unterlage liegen.

Vorversuche mit den verschiedenen Ätzmodi in Flusssäure wurden an Stromatolithen aus dem *Gunflint Chert* durchgeführt. Dieser enthält neben der reinen Quarzmatrix noch Dolomitkristalle, ist sonst aber den untersuchten *Cherts* sehr ähnlich. In einer ersten Versuchsreihe wurden Dünnschliffe in Flusssäuredampf behandelt, (Abb. 5-1-1). Dazu wurden einzelne Schliffe in einer säureresistenten Plastikschale kopfüber in ein Flusssäure-Dampfbad gelegt. Eine Abdeckung der Schale sorgte für eine gleichmäßige Dampfkonzentration. Als Abstandshalter von der 48%-igen Flusssäure dienten Stücke eines Teflonschlauches. Es wurden 5 Proben mit Ätzzeiten zwischen 0,1 und 1 h behandelt (Tab. 5-1). In einer zweiten Versuchsreihe wurden die Dünnschliffe mit der gleichen Anordnung in 5%-ige Flusssäure eingetaucht. Hierbei konnten durch die Lagerung mit der Schliffseite nach unten losgelöste Sapropelpartikel nach unten sinken. In einer dritten Reihe wurden die Schliffe direkt auf ein mit Flusssäure getränktes Küchenpapier gelegt. Alle Versuche wurden in einem Flusssäure-Abzug durchgeführt, der für rasche Verdunstung von Flüssigkeiten aus der Schale sorgte. Daher wurden die Schalen jeweils abgedeckt.



Abb. 5-1 Versuchsanordnung für verschiedene Ätzverfahren. Aufbau 1 für Flusssäure-Dampf-Behandlung, Aufbau 2 für Ätzung in Flüssigkeit, Aufbau 3 für Ätzung auf einem Säure-getränkten Tuch.

Chemikalie	Anzahl- Proben	Ätzdauer [h]	Ätzmodus	Qualität d. Ätzung	Mikroskop. Aufnahme
HF- 48%	5	0,1-1	In Dampf	Stark auf Poren beschränkt	Abb. 5-2-[]
HF- 5%	5	0,2-1,5	Eintauchen in Flüssigkeit	mittel	Abb. 5-2-2
HF- 48%	5	0,05-0,3	Auf getränkter Küchenrolle	homogen	Abb. 5-2-3

Tab. 5-1 Vorversuche zum Ätzverhalten in Flusssäure.

In Abb. 5-2 sind die Oberflächen des *Cherts* nach den verschiedenen Behandlungen gezeigt. In Bild 1 ist das Verfahren dargestellt, bei dem die Probe im Dampf von 48%-iger Flusssäure gehalten wurde.

Die Fläche zeigt nach einer Stunde Ätzzeit große Reliefunterschiede. Geätzte Löcher beschränken sich stark auf lokale Poren; der Großteil der Fläche ist unter dem Binokular getrübt aber eben. Die schwarzen Laminae des Stromatolithen in der Mitte des Bildes (Pfeil) bleiben undeutlich und sind ganz in der Matrix eingebettet. In Bild 2 ist der *Chert* nach Ätzung in 5%-iger flüssiger Flusssäure nach einer Stunde gezeigt. Die Oberfläche hat eine Rauigkeit erreicht, die etwa der aus Bild 1 entspricht. Große Löcher beschränken sich ebenfalls auf lokal begrenzte Poren. Die mittlere Fläche ist allerdings insgesamt etwas Rauer als in Bild 1; die Methode greift das Material also gleichmäßiger an. Die Laminierung tritt deutlich als schwarzer Saum an der Oberfläche des Schliffs hervor (Pfeil). In Bild 3 ist eine Oberfläche zu sehen, die zwanzig Minuten lang in Kontakt mit einem Küchenpapier stand, das mit 48%-iger Flusssäure getränkt war. Die Fläche ist relativ gleichmäßig abgetragen. Besonders gut sind im unteren Teil des Bildes die Laminae des Stromatolithen zu erkennen (Pfeil), bei denen das schwarze Kohlenstoffmaterial freigelegt wurde.



Abb. 5-2 Lichtmikroskopische Aufnahmen von Stromatolithen nach verschiedenen Ätzversuchen. Bild 1: Ätzung in Flusssäuredampf (48%, 1 h), Bild 2: Ätzung in Flüssigkeit (5%, 1 h), Bild 3: Ätzung in Flüssigkeit mit Kontakt zur Unterlage (48%, 20 min); Der Maßstabsbalken in Bild 1 gilt für alle Teilbilder und ist 2 mm lang.

Es zeigte sich bei den Voruntersuchungen, dass es bei Verwendung von Flusssäure unterschiedlich effektive Anwendungsweisen gibt.

Rein optisch kann als Indikator für die Effektivität des selektiven Ätzvorgangs das hervortreten organischer Strukturen aus der Gesteinsmatrix benutzt werden, da die Freipräparation von organischem Material der angestrebte Effekt ist. Oberflächenmaterial wird am gleichmäßigsten abgetragen, je "direkter" das Gestein mit der Säure in Kontakt steht. Am gleichmäßigsten wird eine Oberfläche abgetragen, die auf einem säuregetränkten Substrat liegt, da hier der Ätzprozess auf die Kontaktfläche beschränkt bleibt. Am selektivsten ist die Ätzung in Flusssäuredampf, wo vor allem Porenräume von der volatilen Säure ausgehöhlt werden. Beide Methoden sind für Oberflächenuntersuchungen mittels AFM nicht gut geeignet. Bei der Dampfbehandlung ist die Ausbildung tiefer Poren neben sehr schwach geätztem Material insofern von Nachteil, als die AFM-Nadelspitze in den Poren hängen bleiben und abbrechen kann. Die Kontaktmethode hat den Nachteil, dass feine Oberflächenstrukturen wie dünne Zellwände durch entstehenden Druck zerstört werden können.

Für die Experimente an feinem fossilen Material wurde daher der mittlere Weg gewählt, bei dem die Probe kopfüber in flüssige Säure getaucht wird (Abb. 5-2-2).

#### 5.5 Ätzverhalten von Vergleichssubstanzen

Die Beobachtung, dass der Fossil-*Chert*-Verbund vor allem innerhalb der kohlenstoffhaltigen Laminae von Stromatolithen angegriffen wird (Abb. 5-2-3), ist zunächst überraschend, weil aus der klassischen Anwendung von Flusssäure bekannt ist, dass diese Quarzmaterial löst, der fossile Kohlenstoff aber unangetastet bleibt. Um das beobachtete Ätzverhalten der Stromatolithe auf makroskopischer Ebene nachvollziehen zu können, wurden Versuche zum Lösungsveralten der Substanzen durchgeführt, aus denen der Fossil-*Chert*-Verbund in guter Näherung aufgebaut ist. Wie in Kap. 3 beschrieben, besteht der Fossil-*Chert*-Verbund aus kryptokristallinem Quarz und Kerogen, wobei die Verteilung des Kerogen im Fossil und in der Gesteinsmatrix nicht von vorn herein exakt bekannt sind. Um das Lösungsverhalten des komplexen Verbundmaterials rund um das Fossil verstehen zu können ist es lohnenswert, das Lösungsverhalten der einzelnen Substanzen zu betrachten, aus denen der Verbund aufgebaut ist.

Aus den Vergleichssubstanzen Quarz, Graphit und Chert wurde jeweils ein Quader von ca. 1 cm Kantenlänge herausgesägt, im Trockenschrank zwei Stunden bei 60 °C getrocknet und gewogen, anschließend im Plastik-Becherglas (flusssäureresistent) 26 Stunden in 10%-iger Flusssäure geätzt.

Der Inhalt des Becherglases wurde mit einem Papierfilter bekannter (trocken-) Masse filtriert und im Filter ausgiebig mit destilliertem Wasser gewaschen. Filtrat und Filter wurden wiederum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gewogen. In Abb. 5-3 sind die Filterrückstände der angeätzten Substanzen gezeigt.

Ansatzweise liegen mit den herausgesägten Quadern Proben vor, die eine ähnliche Oberfläche haben, so dass deren Ätzverhalten nur noch von ihren strukturellen und chemischen Eigenschaften abhängt. An einigen Stellen im Gestein wird mehr oder weniger reiner Quarz vorliegen, der allerdings in der Kristallitgröße variiert. Für eine Simulation feinkristalliner Bereiche wurde ein weißer monomikter Quarz-Sandstein mit geschätzten Korngrößen zwischen 0,5 und 2 mm verwendet; für die Simulation grobkristalliner Bereiche aus reinem Quarz diente ein Quarz-Einkristall. Zur Nachahmung derjenigen Stellen im Gestein, an denen reines Kerogen vorliegt, wurde ein polykristallines monomiktes Aggregat von Graphit verwendet; für Übergangsbereiche mit fein verteiltem Kerogen in der Quarzmatrix diente ein Stück Gunflint *Chert*. Dabei handelt es sich um einen fossilienreichen stromatolithischen *Chert* aus der *Gunflint Iron Formation*, PPRG 1284 ff. mit ca. 0,05% Kerogenanteils [Strauss & Moore, 1992].

Reiner polykristalliner Graphit (Abb. 5-3-1) erlitt mit 9% Gewichtsverlust die geringste Lösung; das Aggregat zerfiel allerdings schon bei kurzem Kontakt mit Wasser in Stücke, so dass der brüchige Quader anfällig für Materialverlust bei der Handhabung war.



Abb. 5-3 Quader aus Reinsubstanzen, aus denen in guter Näherung das Fossil-*Chert*-Verbundmaterial aufgebaut ist, nach einem Ätzversuch. 1: polykristalliner Graphit ist zu vielen Stücken zerfallen; 2: monokristalliner Tiefquarz liegt leicht kantengerundet vor; 3: monomikter Quarzit zeigt leichte Lösungserscheinungen an den Korngrenzen; 4: Gunflint *Chert* ist fast vollständig aufgelöst mit viel organischen Rückständen.

Für Quarz wurden 2 verschiedene Proben verglichen. Ein Quarz-Einkristall lag mit 11,5% Gewichtsverlust an zweiter Stelle und ein monomikter Quarzit fiel mit 15,0% Gewichtsverlust an die dritte Stelle (Abb. 5-3-2,3). Deutlich am leichtesten löste sich mit 76,0% Gewichtsverlust das Stück *Gunflint Chert* (Abb. 5-3-3).

Im makroskopischen Versuch lösen sich demnach reiner Graphit und reiner Quarz am langsamsten; ein Verbund von beiden jedoch schnell. Dieses Lösungsverhalten entspricht dem beobachteten Ätzverhalten im Stromatolith. Weitergehende Versuche zum Lösungsverhalten einzelner Fossilien sind in den folgenden Absätzen beschrieben.

### 5.6 Säurebehandlung von Acritarchen

Ziel der Präparation von Mikrofossilien für das Rasterkraftmikroskop ist eine möglichst schonende Freilegung feiner organischer Strukturen von einzelnen Mikrofossilien, die im AFM eindeutig als fossile Formen zu erkennen sind, gleichzeitig aber glatt genug bleiben um mit dem AFM abgebildet werden zu können. Neben der Frage ob größere Bereiche des Stromatolithen überhaupt mit dem AFM abgebildet werden können, ist daher entscheidend, ob die körperlich erhaltenen Fossilien bei dem Ätzvorgang sauber freigelegt werden, ohne aus dem *Chert*-Verband herauszufallen. Versuche zur Präparation wurden direkt am *Chichkan Chert* ausgeführt und mittels AFM ausgewertet. Das Ätzverhalten des Materials in der direkten Umgebung des Fossils ist in den Folgenden Kapiteln dargestellt.

Für die Säurekonzentration wurde eine Verdünnung von 5% gewählt, da die resultierenden längeren Ätzzeiten gut zu kontrollieren sind. Für die Versuche wurden nach oben beschriebenem Verfahren nacheinander je ein Dünnschliff in saubere 5%-ige Flusssäure getaucht. Eventuelle Beschriftungen der Objektträger mit Edding oder Bleistift wurden vor dem Ätzen entfernt, da diese sich während der Behandlung vom Objektträger lösen und die Schliffläche verschmutzen können. Nach abgelaufener Ätzzeit wurde der Objektträger vorsichtig aus dem Bad genommen und jeweils eine Minute in 3 Bäder mit destilliertem Wasser gehalten. Dabei löste sich ein feiner Film eines durchsichtigen Materials von selbst vom Gestein ab. Allem Anschein nach handelt es sich bei der gallertartigen Masse um halb aufgelöstes/frisch rekristallisierendes Silikatmaterial, das sich an der *Chert*-Säure-Grenzschicht bildet. Nach zwei Ätzreihen mit Zeiten zwischen 10 und 75 min stellte sich als günstiger Parameter eine Ätzzeit von 40 min heraus, wie in Kap. 5.6.1 und Kap. 5.6.2 beschrieben. (Vgl. hierzu auch Kap. 8.3.1.)

## 5.6.1 Lösungsverhalten des Fossil-Chert-Verbundes

Das Lösungsverhalten des Fossil-*Chert*-Verbundes wurde mit AFM-Messungen nach jeweils 30, 40, 50 und 75 Minuten Ätzdauer (HF 5%) untersucht. Dazu wurde Zelle 1 zunächst 30 min geätzt, am AFM gemessen, weitere 10 min geätzt, wieder gemessen usw. In Abb. 5-4 sind die verschiedenen Stadien der Lösung dargestellt. Lichtmikroskopisch ist zu erkennen, dass nach 40 min Ätzung im Inneren der Zelle ein tiefes Loch entsteht, dort wo sich vor dem Ätzprozess ein großer Einschluss von organischem Material befunden hat (Abb. 5-4-1,2).



Abb. 5-4 Lösungsstadien des Fossil-*Chert*-Verbundes am Beispiel von Zelle 1. Imikroskopische Aufnahme nach 40 min Ätzung in reflektiertem Licht; mikroskopische Aufnahme der ungeätzten Zelle in transmittiertem Licht; GAFM-Aufnahmen nach 30, 40, 50 und 75 min Ätzzeit. Pfeile in B: links und rechts der Zellwand entstehen Vertiefungen; Linie in 4: Profillinie für Abb. 5-5. Die AFM-Bilder sind mehrfach in horizontaler und vertikaler Richtung mit Polynomfunktionen des ersten bis siebten Grades geebnet (vgl. Kap. 8.2) um die Kontraste in der Nähe der Zellwände zu betonen. Dabei entstehen an der Kante zum zentralen Loch in der Zelle Überhöhungen, die als weiß überstrahlte Bereiche erscheinen.

Das restliche Zellinnere wird zuckerig kristallin und porös und im Zell-Außenraum bilden sich tiefschwarze Stellen, wo die Licht-Reflektivität der Chertoberfläche reduziert wird. Die Zellwand selbst tritt als tiefbraune Linie von ca. 2 µm Breite an die Oberfläche.

Kraftmikroskopisch lassen sich verschiedene Stadien der Ätzung unterscheiden:

#### Stadium 1 - 30/40 min Ätzung (Abb. 5-4-3,4 und Abb. 5-5):

Wie im Lichtmikroskop fällt auch im AFM zunächst die zentrale Höhlung auf, die bereits nach 30 min Ätzung die maximale Messtiefe der Spitze von 5 µm übersteigt. Innen und außen entlang der Zellwand bildeten sich Vertiefungen, die mehr oder weniger durchgehende Gräben mit Tiefen von einigen hundert Nanometern formen (Pfeile in Abb. 5-4-3). In diesem Stadium sind nur unzusammenhängende Stücke der Zellwand identifizierbar, die in ihrer Dicke zwischen 2 und 3 µm liegen. Die Wandstücke haben meist noch glatte Oberseiten, die nach der Politur unverändert vorliegen. Die gesamte Schliffoberfläche enthält zu diesem Zeitpunkt noch etwa 50% unveränderte Politur, einschließlich großer Bereiche der Zellwand. Der Rauigkeitsparameter SDR der Oberfläche liegt bei etwa 20-25% (Abb. 5-6).



Abb. 5-5 Profil durch Zelle 1 nach 40 min Ätzung (Die Profillinie ist in Abb. 5-4-4 eingetragen); die schwarze und graue dreieckige Markierung sitzen am linken und rechten Äußeren der Zellwand. Auf der linken Seite haben sich deutliche Vertiefungen an den Rändern der Zellwand gebildet. Nach Innen fällt das Relief von der Zellwand her steil ab, nach außen bildet es einen eher flachen Übergang zur Gesteinsmatrix. Die Profillinie ist nicht geglättet und 5fach überhöht dargestellt. Am Grund des zentralen Loches liegen keine echten Topographiedaten vor.

#### Stadium 2 - 50 min Ätzung (Abb. 5-4-5):

Die weitere Lösung der *Cherts* erfolgte ab 40 min bedeutend schneller im Zellinneren als außen, so dass nach 50 min innen fast keine frische Politur mehr vorhanden ist. Die Zellwand bildet dabei eine klare Trennlinie. Die Schliffoberfläche fällt von der Zellwand ins Zellinnere steil in Tiefen bis zu 1 µm ab, wohingegen das Relief zum Zelläußeren hin eher gleichmäßig übergeht. Auf der Zellwand selber werden feinere Innenstrukturen sichtbar (Kap. 8.3.2). Der Rauigkeitsparameter SDR der Oberfläche liegt bei etwa 35% (Abb. 5-6).

## Stadium 3 - 75 min Ätzung (Abb. 5-4-6):

Nach 75 min haben sich die Höhenunterschiede von der Zellwand zur Umgebung auf 2 µm vergrößert. Weite Bereiche der Zellwand sind von *Chert* freigelegt, das zentrale Loch füllt große Teile der Zelle aus. Der Rauigkeitsparameter SDR der Oberfläche liegt bei etwa 50% (Abb. 5-6).

## 5.6.2 Bestimmung der Lösungsgeschwindigkeit

Um die Geschwindigkeit zu bestimmen, mit der sich die Chertoberfläche löst, wurde für jede AFM-Messung von Zelle 1 und Zelle 2 der Rauigkeitsparameter SDR [Stout et al., 1994] bestimmt. SDR (*Surface Area Ratio*) vergleicht eine imaginäre glatte Fläche mit der gemessenen Oberfläche und gibt die Differenzfläche in Prozent aus (vgl. Kap. 4.1.5). Eine völlig glatte Fläche hätte also einen SDR = 0, wohingegen ein großer SDR-Wert große Rauigkeit bedeutet .

In Abb. 5-6 ist der SDR von Zelle 1 (blau) und Zelle 2 (schwarz) gegen die Ätzzeit aufgetragen. Für alle Messpunkte mit Ausnahme der 40 min Ätzung an Zelle 2 ergibt sich mit einigermaßen guter Übereinstimmung ein linearer Zusammenhang von Ätzzeit und Oberflächenzuwachs. Die Steigung einer gemittelten Geraden ergibt einen Flächenzuwachs von 0,7% pro Minute. Der Ausreißer bei 40 min Ätzung von Zelle 2 fällt zusammen mit besonderen Umständen bei der Präparation. Zelle 2 wurde zunächst 10 min geätzt, dann mit AFM abgebildet, weitere 40 min geätzt (Summe=50 min) und wieder gemessen. Danach erfolgte auf Zelle 2 eine Politur, die das vorhandene Relief einebnete. Eine weitere Ätzung mit 40 min Dauer wurde zum Schluss durchgeführt. Die Ätzgeschwindigkeit für diesen Punkt läge mit ca. 1,4%min<sup>1</sup> doppelt so hoch wie für alle anderen Punkte. Eine mögliche Erklärung für dieses Verhalten könnte sein, dass die vorangegangene Ätzung und der Zwischenschliff des Gesteins zu einer Schwächung des Materials geführt haben, so dass die Säure beim zweiten Ätzversuch das Fossil effektiver angegriffen hat.



Abb. 5-6 Rauigkeitsparameter SDR in Abhängigkeit von der aufsummierten Ätzzeit an Zelle 1 und Zelle 2. Zum Vergleich: ab einer Ätzzeit von ca. 30 Minuten treten die Zellwände der Fossilien aus der Chertmatrix hervor.

Die Geschwindigkeitskurve ist im unteren Bereich keine ideale Gerade, denn wie eine Rauigkeitsmessung von frisch poliertem *Chert* (roter Messpunkt) zeigt, liegt zu Beginn der Ätzungen keine ideal glatte Fläche vor.

### 5.7 Säurebehandlung von Cyanobakterien

Für die Bearbeitung stand eine Chertknolle von der Größe 4x4x8 cm zur Verfügung. Daraus wurden längs der Schichtung 2 Stangen mit den Abmessungen 1 x 1,5 x 5 cm herausgesägt, wo die Laminierung augenscheinlich besonders ausgeprägt war. Von jeder der Stangen wurden 10 Dünnschliffe mit jeweils etwa 1,5 cm<sup>2</sup> Grundfläche angefertigt, von denen jeder ein Querprofil durch die Schichtung / Laminierung darstellt (Abb. 3-5). Dadurch erhöhte sich die Wahrscheinlichkeit in jedem der Schliffe Fossilien in einer besonders fossilträchtigen Schicht anzufinden. Tatsächlich stammen die meisten der 80 gefundenen Bakterienkolonien aus den Schichten 1 und 4, wie in Abb. 3-5 bezeichnet.

Die Schliffe von Cyanobakterien wurden nach der gleichen Methode präpariert wie die oben beschriebenen Acritarchen, allerdings sind die fossilen Cyanobakterien um fast eine Größenordnung kleiner; dementsprechend empfindlicher sind deren silifizierte Zellwände. Bei vier von elf Versuchen gelang es im Ätzversuch einzelne Bakterienwände freizupräparieren und diese mit dem Rasterkraftmikroskop abzubilden.

Für die Präparation im 5 %- igen Flusssäurebad genügen Ätzzeiten von 6 Minuten (Kolonien 1,3 und 4) bzw. 20 Minuten (Kolonie 2). Längeres Ätzen führt zu porösen Oberflächen, aus denen ganze Individuen von Bakterien herausbrechen. Dieser Effekt ist in beginnendem Stadium in Abb. 9-2-3 zu erkennen, wo vor allem in den Bereichen mit erhöhter Konzentration von Kohlenstoff die Zwickel zwischen den Zellen herausbrechen.

### 5.8 Aufbewahrung

Die angeätzten Schliffe wurden im Exsikkator aufbewahrt um Staubablagerung zu vermeiden und den Flüssigkeitsfilm auf der Probe gering zu halten. Beides ist nachteilig für AFM – Experimente. Für den Transport wurden luftdicht verschließbare handelsübliche Transportbehälter für Glas-Objektträger verwendet. Es wurde auf Erschütterungsfreiheit geachtet um feine Oberflächenstrukturen zu schonen.

# 6 Raman-Spektroskopische Untersuchungen an Acritarchen

#### 6.1 Grundlagen und Möglichkeiten

Bei der Raman-Spektroskopie wird eine Oberfläche mit einem Laserstrahl abgerastert, wobei dieser einige Mikrometer in das Probenmaterial eindringt. Die eingestrahlte Lichtenergie wird von den Probenmolekülen auf den Wellenlängen absorbiert, die den Vibrationsbanden der Moleküle entsprechen. Durch die Messung der Absorption wird das Spektrometer zu einem Instrument, mit dem Aussagen über die Bindungsverhältnisse in den untersuchten Molekülen möglich werden.

Mit Hilfe von Raman-Spektren kann z.B. beurteilt werden, wie groß der Anteil an sp<sup>2</sup>im Verhältnis zu sp<sup>3</sup>-hybridisiertem Kohlenstoff in einer Probe ist [Prawer et al., 1996]. Während der rein sp<sup>3</sup>-hybridisierte natürliche Diamant einen Raman-Peak bei 1332 cm<sup>-1</sup> aufweist, zeigt der sp<sup>2</sup>-hybridisierte Graphit (z.B. HOPG) einen Peak bei 1580 cm<sup>-1</sup>. Für eine Beurteilung des Mischungsverhältnisses beider Orbitalarten in einer Probe wird die Intensität des G-peaks (*graphite peak*) mit der Intensität des Dpeaks (*diamond peak*) verglichen.



Abb. 6-1 Raman-Spektren von 1: amorphem Kohlenstoff, 2: Holzkohle, 3: *highly ordered pyrolytic graphite* (HOPG). [McCulloch et al., 1994]

Abb. 6-1 zeigt, dass mit dieser Methode auch die Qualität verschiedener natürlicher Kohlenstoffe unterschieden werden kann [McCulloch et al., 1994]: Während in amorphem Kohlenstoff ein breiter G-peak vorherrscht, ist dieser in reinem HOPG scharf begrenzt. In natürlichen Kohlen, kommt zu den G-Peaks ein deutlicher D-Peak hinzu, was das Vorhandensein von sp<sup>3</sup>-hybridisierten Kohlenwasserstoffketten dokumentiert. Bei genauerer Analyse des D-Peaks können zusätzlich verschiedene Schwingungen aromatischer Kohlenwasserstoffe, sowie die Größe der sp<sup>2</sup>-hybridisierten Domänen in der Kohle unterschieden werden.

Dementsprechend kann mit der Raman-Spektroskopie die Entwicklung fossiler Kohlenwasserstoffe, wie sie in Kap. 2.2 beschrieben ist, untersucht werden und die Position des Fossilen Materials im Van Krevelen-Diagramm nachvollzogen werden. Raman-Spektren einzelner (zweifelhafter) Fossilien können mit Spektren von bekannten Substanzen verglichen werden, um die biogene Natur des Fossilen Materials zu dokumentieren [Kudryavtsev et al., 2000; Schopf et al., 2002]. Der Vergleich basiert dabei auf der Ähnlichkeit der molekularen Zusammensetzung verschiedener Proben. Biogenes Kerogen, das z.B. in hydrothermalen Prozessen umkristallisiert und dabei seine molekulare Zusammensetzung nicht ändert, ist mit Laser-Raman-Spektren möglicher Weise nicht vom Ausgangsmaterial zu unterscheiden. Dementsprechend kann eine absolute Unterscheidung von biogenem und abiogenem Kerogen schwierig sein [Brasier et al., 2002].

# 6.2 Versuch und Ergebnisse

Im Zuge der hier durchgeführten Dissertation wurden an den untersuchten Acritarchen Raman-Spektren aufgenommen. Die dafür durchgeführten Experimente wurden von Kooperationspartnern an der University of Alabama at Birmingham, Birmingham, USA durchgeführt und sind an anderer Stelle beschrieben [Kudryavtsev et al., 2000]. Die Raman-Spektren der untersuchten Acritarchen (Abb. 6-2) zeigen alle einen ausgeprägten Kohlenstoff-Peak bei 1580 cm<sup>-1</sup>, aus dem hervorgeht, dass das Kerogen einen deutlichen Anteil an sp<sup>2</sup>-hybridisierten Kohlenstoffatomen und somit eine Struktur besitzt, die planare Kohlenstoffmoleküle beinhaltet [McCulloch et al., 1994; Prawer et al., 1996]. Zusätzlich findet sich in allen Spektren ein breiter Diamant-Peak (oder auch *Disorder*-Peak) ~bei 1330 cm<sup>-1</sup>, der von sp<sup>3</sup>-hybridisierten Kohlenstoffatomen herrührt [McCulloch et al., 1994; Prawer et al., 1996]. Dies zeigt, dass die einzelnen Planaren Moleküle auch dreidimensionale Baugruppen beinhalten und deutet auf eine gewisse Vernetztheit der einzelnen Moleküle hin [Kudryavtsev et al., 2000; Schopf et al., 2002]. Zusätzlich lässt sich der Diamant-Peak in mehrere Sub-Peaks aufspalten (Pfeile), was auf das Vorhandensein aromatischer Kohlenwasserstoffe hindeutet [Kempe et al., 2002; Kudryavtsev et al., 2000; Schopf et al., 2002].

Nachdem alle Spektren sehr ähnlich sind, kann davon ausgegangen werden, dass das Kerogen aller Acritarchenzellen eine ähnliche Zusammensetzung hat, die aus untereinander vernetzten aromatischen Kohlenwasserstoffen besteht.



Abb. 6-2 Raman-Spektren von Zelle 3-8. Alle Spektren zeigen einen ausgeprägten Graphit-Peak und einen komplexen Diamant-Peak mit Sub-Peaks (Pfeile).

# 7 Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Acritarchen

Neben der chemischen Zusammensetzung des organischen Anteils präkambrischer Mikrofossilien ist interessant, in welcher Weise das organische Material erhalten ist, welche Strukturen es bildet und wie diese Strukturen mit dem mineralischen Gefüge des Einbettenden Gesteins zusammenhängen. Letztlich soll dabei entschieden werden, welche Strukturen im Fossil auf den lebenden Organismus zurückgeführt werden können.

Für die Frage nach der internen Struktur der Zellwand von Fossilien und nach den physikalischen Eigenschaften der Zellwand ist es nötig zu entscheiden, welche der untersuchten Oberflächenbereiche zum Fossil selbst gehören und welche davon Teile der Chertmatrix sind. Dazu muss letztlich für jedes einzelne Fossil dokumentiert werden, welche Anteile der untersuchten Oberfläche aus Kerogen bestehen - also aus dem ursprünglichen Zellmaterial - und welche aus Quarz. Es wurden zwei verschiedene Methoden angewandt, diese Dokumentation durchzuführen. Mit WDX-Messungen an der Mikrosonde wurden quantitativ Gradienten der Kohlenstoffkonzentration über Profile von Zelle 4 bestimmt. Mit EDX-Messungen am TEM wurde qualitativ die Verteilung von Kohlenstoff in einem Schnitt durch Zelle 3 abgebildet. Beide Experimente zeigen erstens, dass Kohlenstoff nicht nur dort auftritt und auch nicht unbedingt dort auftritt, wo Strukturen mit Flusssäure freipräpariert werden und sie zeigen zweitens, dass es unterschiedliche Kohlenstoffverteilung in beiden Fossilien gibt. Rückschlüsse auf die anderen Fossilien werden unter Berücksichtigung von Ähnlichkeiten in der Morphologie und dem Ätzverhalten gezogen.

Zusätzlich zur Verteilung von Kohlenstoff liefern elektronenmikroskopische Messungen Informationen über die (kristallinen und amorphen) Strukturen in Quarz- und Kohlenstoffanteilen von Fossil und Gestein. Es ergibt sich ein differenziertes Gesamtbild, in dem zu sehen ist, dass die fossilen Zellwände, wie sie nach der Säurepräparation freigelegt sind, zum größten Teil aus Quarz bestehen. Darin befinden sich feine Anteile von Kohlenstoffmaterial. Zwei der Acritarchen (Zellen 3,4) wurden mit Elektronenmikroskopie untersucht. Insbesondere in Zelle 3 fand sich eine hauchdünne Kohlenstoffmembran, die zusammen mit lamellenartigen Quarzstrukturen die Fossilwand aufbaut.

59

Da der Kohlenstoffmembran für Rückschlüsse auf den ursprünglichen Organismus eine besondere Rolle zukommt, ist im Text von der "Membran" die Rede, wenn nur die Kohlenstoffmembran gemeint ist, und von der "Wand" die Rede, wenn die gesamte freigeätzte Fossilwand angesprochen wird.

An dieser Stelle sei angemerkt, dass in der üblichen Betrachtung von Acritarchen die fossile Zellwand nur als Ganzes betrachtet wird und üblicher Weise vorausgesetzt wird, dass diese aus Kerogen besteht, da sie ja dem Ätzprozess bei der Präparation standhält. Damit ist in der Vergangenheit automatisch ein Vergleich von Acritarchen und Fossilien mit Carbonat- oder Silikatskelett ausgeschlossen gewesen.

Für die Feststellung des absoluten Kohlenstoffgehaltes innerhalb der Zellwände wurden Versuche an der Elektronenstrahl-Mikrosonde des Instituts für Allgemeine und Angewandte Mineralogie, LMU mit der freundlichen Hilfe von G. Magel durchgeführt. Die Struktur der Kohlenstoffanteile und die Kristallinität der Quarzmatrix wurde mit dem Transmissions-Elektronenmikroskop des Geoforschungszentrum Potsdam (GFZ), mit der freundlichen Hilfe von R.Wirth untersucht.

# 7.1 Elektronenstrahl-Mikrosonde

Die Elektronenmikroskopie ist eine in den Geowissenschaften seit Jahrzehnten etablierte Methode. Daher sollen an dieser Stelle die verwendeten Messmethoden nur kurz umrissen werden. Für detaillierte Dokumentation sei auf die einschlägige Literatur hingewiesen, z.B. [Reimer, 1984; Schmidt, 1994]

# 7.1.1 Funktionsweise

Gesteinsdünnschliffe mit einer Dicke von 10-300 µm können im Elektronenmikroskop untersucht werden, nachdem sie mit einer metallischen Bedampfung leitfähig gemacht wurden. Solche Untersuchungen wurden für die vorliegenden Arbeit an der Elektronenstrahl-Mikrosonde des Instituts für Mineralogie, Petrologie und Geochemie der LMU durchgeführt. Es wird die Oberfläche mit einem Elektronenstrahl abgerastert, wobei die eingestrahlten Elektronen einige Mikrometer in die Oberfläche der Probe eindringen. Sobald ein Elektron auf die Hülle eines Atoms der Probe triff, gibt es einen Teil seiner Energie ab und wird gestreut. Dies ist einer der physikalischen Effekte, die für das bildgebende Verfahren ausgenutzt werden: Gestreute und zurückgeworfene Elektronen können mit einem Detektor gezählt werden, so dass für jeden Punkt auf der Probe eine gewisse Anzahl von Elektronen registriert und in einen Helligkeitswert umgesetzt werden.

Zusätzlich werden bei dem Streuvorgang Elektronen aus der Hülle von Proben-Atomen zur Abgabe von Röntgenlicht angeregt, welches mit einer Energie und Wellenlänge emittiert wird, die für das Element spezifisch sind, das am jeweiligen Punkt der Probe vorliegt (Abb. 7-1). Durch die Analyse der Röntgen-Wellenlängen kann die Zusammensetzung des Probenmaterials bestimmt werden, z.B. mit Hilfe von Element-Verteilungsbildern, die eine qualitative Analyse der Oberfläche erlauben. Die Auflösung des Verfahrens hängt von dem Volumen der angeregten Atome in der Probe ab; dieses ist im Allgemeinen einige Mikrometer groß.



Abb. 7-1 Schema einer Messung mit der Elektronenstrahl-Mikrosonde. Je nach Element an der Oberfläche werden durch die Anregung mittels Elektronenstrahl Röntgenstrahlen verschiedener Wellenlänge emittiert (WDX). Die Röntgenstrahlen erzeugen in einem Detektor eine zählbare Anzahl von Reflexen, die je nach Konzentration des detektierten Elementes variiert. Mit Hilfe eines Eichstandards kann die absolute Elementkonzentration an der Oberfläche ermittelt werden.

# 7.1.2 Probenpräparation

Zelle 4 wurde mit Aceton vom Glas-Objektträger gelöst, mit wenig Leitsilber auf einen speziellen Aluminium-Probenträger geklebt und mit Kohlenstoff bedampft. Die Kohlenstoffbedampfung wurde einer Goldbedampfung vorgezogen um eine Absorption der freiwerdenden Röntgenstrahlung durch die schweren Goldatome zu verhindern. Um die Position der Probenoberfläche genau in die Fokusebene des Elektronenstrahls bringen zu können wurde der Standard-Probenträger (mit einem Durchmesser von 25 mm und einer Dicke von 6,5 mm) mit einer Fräsung in der Dicke des Dünnschliffs (120 µm) versehen.

Als Kalibrierstandard für 100% Kohlenstoff wurde mit derselben Technik HOPG auf einen Probenträger gebracht. Als Kalibrierstandard für 0% Kohlenstoff wurde der kohlenstoffbedampfte Aluminium Probenträger benutzt.

Die Proben wurden ungeätzt gemessen, so dass Kohlenstoffanreicherungen, die beim Bedampfen in eventuellen Höhlungen auf der Oberfläche entstanden sein könnten ausgeschlossen sind.

# 7.1.3 Messung der Kohlenstoffkonzentration

Es wurde die Kohlenstoffkonzentration mittels Wellenlängen-dispersiver Röntgenanalyse (engl.: *Wave dispersive X-ray analysis*, WDX) in einer Cameca SX50 Elektronenstrahl-Mikrosonde untersucht.

Hierbei wurden zwei Kohlenstoff-Verteilungsprofile mit je 50 Messpunkten erstellt, die eine quantitative Elementverteilung liefern. Bei jeder Messung verdampfte Material aus einem Kugelvolumen mit einem Durchmesser von ca. 2 µm, wie in Abb. 7-2 zu erkennen ist (Pfeil 1), so dass die Spur jeder Messung genau nachvollziehbar ist. Die Auflösungsgenauigkeit des Experimentes liegt allerdings etwa bei 5 µm, weil das Anregungsvolumen bei der angewendeten Spannung von 20 keV ca. 5 µm groß ist (Herstellerangaben).



Abb. 7-2 Lichtmikroskopische Aufnahme von Zelle 4 in reflektiertem Licht nach der Mikrosondenmessung. Zu sehen sind die Spuren der Querprofile (Pfeile 1,2) und ein helles Quadrat wo das Element-Mapping durchgeführt wurde.

Zusätzlich zu den Querprofilen wurde die Kohlenstoffverteilung über die ganze Fläche des Fossils aufgenommen, was eine qualitative Analyse der Oberfläche erlaubt.
Die Spur dieses Element-Mappings ist als helle Fläche in Abb. 7-2 zu sehen, wo die Kohlenstoffbedampfung durch die Messung entfernt wurde.

# 7.1.4 Ergebnisse: Kohlenstoffgradient in Acritarchenzelle 4

Elementverteilungsbilder von Kohlenstoff sind wegen der geringen Auflösungsgenauigkeit im Reflexionsverfahren nicht sehr scharf, geben aber einen ersten Überblick über das Fossil. Abb. 7-3 zeigt ein Kohlenstoff-Verteilungsbild von Zelle 4. Die Zellwand und der Kohlenstoffeinschluss (Pfeile), sowie der äußere Ring von Kerogen sind zu erkennen. Die Zellwand liegt mit einer Spur von ca. 2 µm Breite an der Oberfläche.



Abb. 7-3 WDX-Kohlenstoff-Verteilungsbild von Zelle 4. Maßstab: 5 µm. Die Pfeile markieren die Ausdehnung der kohlenstoffhaltigen Zellwand auf ca. 2 µm Breite. Der einzelne Pfeil deutet auf den Kohlenstoff-Einschluss im Zellinneren.

Die Stärke der Elektronenstrahl-Mikrosonde liegt in der quantitativen Messung der Kohlenstoff-Konzentration im Gestein. Hierfür wurden zwei Profile mit jeweils 50 Messpunkten quer über die Zelle gelegt. Die Spur der Messung ist in Abb. 7-4 zu sehen, wo Material von der Oberfläche verdampft ist. Messspur a ist 160 µm lang und Messpur b ist 144 µm lang, so dass die einzelnen Messpunkte jeweils im Abstand von ca. 3 µm liegen. Nachdem die Auflösung der Sonde bei 5 µm liegt, sollten mit diesem Abstand die gesamten Profile lückenlos beprobt sein. Im Lichtbild ist allerdings zu sehen, dass Lücken zwischen den verdampften Volumina sind, so dass wahrscheinlich nicht über die gesamte Strecke mit gleicher Genauigkeit gemessen wurde.

Die jeweils gemessenen Intensitäten sind über den beiden Spuren angetragen. Dabei korreliert die Kurve von a sehr gut mit den optischen Informationen. Drei deutliche Peaks liegen jeweils über den Zellwänden und über dem äußeren Kerogen-Ring des Fossils.



Abb. 7-4 Kohlenstoff-Konzentrationsprofile in Zelle 4. Die Position beider Profile a und b ist über deren Messspur im lichtmikroskopischen Bild eingetragen. Die Diagramme zeigen die quantitative Kohlenstoffverteilung an den einzelnen Messpunkten.

Die Peaks über den Zellwänden sind auf der linken Seite 18 µm breit und auf der rechten Seite etwa 10 µm breit, was darauf hindeutet, dass sich Kohlenstoff nicht nur in der Zellwand selbst befindet, sondern auch in der direkten Umgebung innen und außen von der Wand. Auf beiden Seiten liegt ein Gradient vor, der ein symmetrisches Maximum über der Zellwand besitzt. Der linke Peak scheint dabei etwas verzerrt zu sein.

Weniger gut ist die Kurve von b mit dem optischen Bild in Deckung zu bringen. Sie besitzt sechs größere und zwei kleinere Maxima, von denen nur fünf mit den optischen Informationen erklärt werden können. Ganz oben scheint ein Peak im Außenraum der Zelle mit der ringförmigen Anreicherung von Kerogen zusammenzufallen; der nächst innere Peak liegt über der Zellwand; das nächste Maximum liegt über dem organischen Einschluss in der Zelle. Die nächsten drei Maxima im Zellinneren sind mit den Informationen aus diesem Bild nicht zu erklären; eventuell sitzen in einer tieferen Lage außerhalb der Focusebene weitere kleine Zelleinschlüsse. Der nächste Peak über der Zellwand ist relativ breit und der unterste, sehr deutliche Peak sitzt wieder in der Position der Kerogenanreicherung.

Qualitative Daten sind in den beiden Kurven a und b aufgetragen. Dabei handelt es sich um Originaldaten, die die Kohlenstoffbedampfung mit beinhalten. Daraus erklärt sich der relativ hohe Untergrund, der in beiden Messungen zwischen 1,3 und 1,4 % liegt. Kohlenstoffkonzentrationen innerhalb der Zellwände liegen im Fall a zwischen 2,2 und 2,5 % und im Fall b zwischen 1,7 und 1,8 %. (Pfeile markieren die Maxima, die mit der Zellwand zusammenfallen.) Von den Konzentrationen verbleibt nach Abzug des Untergrundes der reale Kohlenstoffanteil in der Zellwand. Während sich in der Messung b eine Konzentration von ca. 0,4 % ergibt, liegen die Gehalte in Messung a zwischen 0,9 und 1,2 %.

Eine mögliche Erklärung für die Entstehung dieser Kohlenstoffverteilung innerhalb der Fossilwand wird mit einem Modell in Kap. 10.1 gegeben.

65

# 7.2 Transmissions-Elektronenmikroskopie

# 7.2.1 Funktionsweise

Um höhere Auflösungen zu erzielen, als sie am Elektronenmikroskop in Proben von mehreren Mikrometern Dicke möglich sind, werden etwa 100 nm dicke Folien aus den Proben herausgeschnitten und im Elektronen-Durchlicht untersucht. Proben dieser Dicke haben ein sehr kleines Anregungsvolumen, von dem aus wiederum Röntgenstrahlen und Elektronen rückgestreut werden, die mit großer Präzision untersucht werden können (Abb. 7-5). Untersuchungen dieser Art wurden für die vorliegende Arbeit am Transmissions-Elektronenmikroskop des Geo-Forschungszentrum Potz-dam durchgeführt.

Zusätzlich kommen beim Durchstrahlen der Probe Beugungseffekte zum Tragen, wenn der fein gebündelte Elektronenstrahl das atomare Gitter der Probe durchdringt und elastisch gestreut wird. Die Resultierenden Beugungsmuster können ebenfalls im Raster-Modus abgebildet werden (engl.: *Scanning Transmission Electron Microscopy*, STEM) und ergeben ein zusammenhängendes Kontrastbild.



Abb. 7-5 Schema zu den Messungen mit Transmissions-Elektronenmikroskopie. Mittels EDX können Elementverteilungen auf der Folie gemessen werden; Die Oberflächenstruktur kann durch Detektion der sekundären Elektronen abgebildet werden (SEM); Die interne Struktur, Kristallinität u.a. werden lokal mit TEM und über eine Fläche mit STEM untersucht; die molekulare Beschaffenheit kann lokal mit EELS bestimmt werden. Näheres s. Text.

Dabei macht man sich zu Nutze, dass abhängig von der Materialbeschaffenheit die Elektronen unterschiedlich stark gebeugt werden. Zum Beispiel amorphes und kristallines Material, verschieden orientierte Kristalle, Kristallfehler, unterschiedliche Dicken von Kristallen und unterschiedliche Dichten im Material resultieren in Kontrastunterschieden, die als Bild aufgezeichnet werden. Nachdem der Elektronenstrahl selbst sehr fein bündelbar ist, hängt die Auflösung beim STEM allein vom Anregungsvolumen in der Probe ab [Hornbogen & Skrotzki, 1993] und es werden Auflösungen bis zu 0,1 nm erreicht.

Bei der Elektronen-Verlust-Spektroskopie (engl.: *Electron Energy Loss Spectroscopy*, EELS) werden die unelastisch gestreuten Elektronen von einem Detektor aufgenommen und deren Energie gemessen. Die eingestrahlten Elektronen erleiden beim Streuvorgang einen Energieverlust, der von der Art der Bindungen in der Probe und von den Elementen abhängt, an denen der Elektronenstrahl gestreut wird. Auch mit EELS können also Aussagen über die Kristallinität der Messtelle und über die molekulare Zusammensetzung gemacht werden.

# 7.2.2 Probenpräparation

Zellen 3 und 4 wurden 30 min geätzt und mit Platin bedampft. Die Platinbedampfung macht die Probe leitfähig und dient zur Präparation mit Hilfe eines Elektronenmikroskopes. In der Vakuumkammer des SEM wurde mittels Gallium-Ionenstrahl senkrecht zur Oberfläche des Dünnschliffs eine dünne Folie aus den Proben herausgeschnitten. Abb. 7-6-1 zeigt ein Übersichtsbild von Zelle 3 während der Präparation. An der markierten Stelle (Pfeil) wurde die Folie herausgeschnitten. In Ausschnitt 2 ist zu erkennen, dass mit der Präparation die Zellwand genau getroffen wurde. Der Pfeil in Abb. 7-6-2 weist auf die Stelle an der sich die Zellwand befindet. Diese trennt das dunkle massive Zellinnere (rechts) vom hellen porösen Zelläußeren (links). Senkrecht im Loch steht die 100 nm dicke und 11 µm lange Gesteinsfolie, die anschließend mit einer Glasfaser aufgenommen und auf ein Probenträger-Netz gebracht wurde. Das Netz besteht aus einem Polymer und wird auf ein metallisches Gitter für Elektronenmikroskopie gespannt. Auf dem Gitter ist die Probe mit einer Pinzette handhabbar und wurde im Folgenden im TEM untersucht. Wichtig für den Kohlenstoffnachweis im TEM ist, dass während des gesamten Präparationsprozesses die Probe nicht mit Kohlenstoff in Kontakt kam, nachdem die Bedampfung nur aus Platin besteht und die Vakuumkammer mit einer Öl-freien Pumpe betrieben wird.



Abb. 7-6 SEM-Bild von Zelle 3 während der Präparation für TEM-Aufnahmen. Ausschnitt in Übersichtsbild des doppelwandigen Fossils vor dem Schnitt, der an der gekennzeichneten Stelle (Pfeil) durchgeführt wurde. Der Maßstabsbalken entspricht 10 μm; Ausschnitt zeigt den mittels Gallium-Ionenstrahl gefrästen Kasten, aus dem die Folie nach dem Schnitt entnommen werden kann. Im rechten Teil der Folie ist die dunkle Füllung der Zelle angeschnitten, im linken Teil das poröse einbettende Material. Der Maßstab entspricht hier 5 μm.

# 7.2.3 Analyse von Kristallinität und Kohlenstoffverteilung

An den herauspräparierten Folien wurden in einem hochauflösenden Elektronenmikroskop (Philips CM200) verschiedene Messungen vorgenommen.

In den so gewonnenen Übersichtsbildern wurde auf der Folie mit EDX nach Kohlenstoff gesucht um die organischen Strukturen der Zelle zu lokalisieren. Für EDX wurde die Probe um 20° zum Detektor hin verkippt, so dass die resultierenden Bilder verzerrt sind.

Stellen mit hoher Kohlenstoffkonzentration und die Quarzmatrix wurden mit TEM untersucht. Hierbei werden statische Beugungsbilder erzeugt, mit denen eine Aussage über das Vorhandensein kristalliner (beugungsanisotroper) oder amorpher (beugungsisotroper) Substanzen an der analysierten Stelle und eine Aussage über die Mineralart gemacht werden kann. Zusätzlich wurden von den analysierten Stellen (Zellwand und Quarzmatrix) Energieverlust-Spektren aufgenommen, wobei sich Hinweise auf die molekularen Energiezustände in der Probe ergeben. TEM und EELS-Aufnahmen wurden mit Hochspannungen von 200 keV gefahren, so dass das Anregungsvolumen eine Größe von 55 nm hatte. Es wurde darauf geachtet, nur Stellen zu analysieren, die jeweils über einem Loch in dem Polymer-Trägernetz lagen. Auf diese Weise wurden die Messungen im absoluten Vakuum durchgeführt und nicht durch den Kohlenstoff des Trägernetzes verfälscht.

# 7.2.4 Ergebnisse

Durch STEM-Experimente an den Zellen 3 und 4 wurden die klarsten Erkenntnisse zur Kristallinität der einbettenden Quarzmatrix in den bearbeiteten Mikrofossilien gewonnen. Im STEM ergibt sich der Bildkontrast direkt durch Variabilitäten in der Kristallinität des durchstrahlten Materials (vgl. Kap. 7.1.4). Kristallstrukturen in Quarz und Kohlenstoff werden also direkt abgebildet. Mit den STEM-Ergebnissen wird deutlich, dass die Beschaffenheit des *Chert* nicht für alle Fossilien einheitlich ist. Zelle 3 zeigt feinstkristallinen Chert außerhalb der Zelle und einen scharf abgegrenzten Bereich mit großen Kristallen im Zellinneren, wogegen Zelle 4 feinen Chert außen und innen aufweist, der zur Zellwand hin graduell in amorphen Quarz übergeht. Bei nur 2 untersuchten Zellen stellt sich die Frage, ob und welche Strukturen repräsentativ für die meisten Fossilien sind. Vergleicht man das Ätzverhalten der beiden analysierten Zellen mit dem der restlichen 7 untersuchten Zellen, so liegt die größte Ähnlichkeit der freipräparierten Strukturen zwischen Zelle 4 und den übrigen Zellen. Es liegt der Schluss nahe, dass wahrscheinlich eher die amorphe Struktur des *Chert* um Zelle 4 charakteristisch für die hier untersuchten Fossilien ist.

In den untersuchten Zellen bestehen große Teile der fossilen Wände aus Quarz, der zum Teil amorph (elektronenbeugungs-isotrop) und zum Teil kristallin (beugungsanisotrop) ist. Weiterhin enthalten die Zellwände einen gewissen Anteil an Kohlenstoff, dessen Organisation im STEM differenziert analysierbar ist. Die Fossilwand ist damit als komplexe Struktur zu betrachten, deren Aufbau den Schlüssel für das Verständnis des Fossilisierungsprozesses enthält.

In den folgenden Unterkapiteln sind die Quarzstrukturen aus Zelle 3 und 4 exemplarisch für die mögliche Bandbreite an Strukturen in der *Chert*matrix dargestellt.

### 7.2.4.1 Quarz- und Kohlenstoffstrukturen in Zelle 3

Das Gestein in und um Zelle 3 ist durchweg kristalliner Chert, besteht also aus reinem Quarz. Die ganze Struktur des Fossils wie sie in einem senkrechten Schnitt durch den Dünnschliff in Abb. 7-7 zu sehen ist, ist mit Abb. 7-6 korrelierbar, wo die Folie im größeren Zusammenhang abgebildet ist, noch bevor sie dem Dünnschliff entnommen wurde. Zell-Innenraum und –Außenraum sind damit gut identifizierbar. Die Kristallitgrößen des Quarz variieren stark vom Inneren zum Äußeren des Fossils. In einem STEM-Übersichtsbild in Abb. 7-7-1 ist zu erkennen, dass sich im Inneren der Zelle eine kompakte Füllung befindet, die aus wenigen Mineralkörnern besteht. Diese Füllung befindet sich im Bildabschnitt 1 rechts der gekrümmten Zellwand, die von dem Pfeil markiert wird. Zu erkennen sind 2 Grauschattierungen, die aus der unterschiedlichen Orientierung von 2 Quarzkristallen resultieren. (Das Netz aus rundlichen Waben ist das Polymer-Trägernetz, das unter der ganzen Folie liegt.) Das Zelläußere (links) ist nach dem Ätzvorgang kavernös zerfallener feinkristalliner Chert. Hohlräume sind als hellgraue langgezogene Röhren zu erkennen. Die Kavernenstruktur reicht über den gesamten Außenraum im Chert und zieht sich exakt an der inneren Fossilwand entlang, durchdringt diese aber nicht. Auch ist im Übersichtsbild ganz klar die Oberflächenmorphologie (mit beiden Fossilwänden) zu erkennen, die im Zelläußeren karstartig aufgelöst ist und über der Zelle selbst ein Plateau bildet. Sie resultiert aus der unterschiedlichen Resistenz der zwei unterschiedlichen Quarz-Aggregate gegenüber der Flusssäure. Der schwarze Belag auf der gesamten Probenoberfläche (hier im Querschnitt) ist die Platinbedampfung, die für die Präparation der Gesteinsfolie benötigt wurde. Der organische Teil der Zellwand selbst und Substrukturen im Chert sind bei dieser Vergrößerung im Übersichtsbild nicht zu erkennen.

Beim Ätzprozess werden beide Fossilwände herauspräpariert, wobei die innere Wand deutlich stabiler bleibt als die äußere. Vgl. dazu Abb. 8-5, S. 86 und Abb. 8-12, S. 99; im AFM Bild ist klar die Doppel-Wandstruktur zu erkennen, die sich eindeutig mit der lichtmikroskopischen Aufnahme korrelieren lässt. Der kavernöse Teil des *Chert* erstreckt sich bis zur inneren der beiden Wände hin, wie aus Abb. 7-7-1 hervorgeht. Die Position der herauspräparierten Folie und die Lage von innerer und äußerer Fossilwand sind in Abb. 7-6 und Abb. 8-12 gut zu erkennen.

70

#### 7 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Acritarchen



Abb. 7-7 Transmissions-Elektronenmikroskopische Aufnahmen: Profilschnitt durch Zelle 3. Ausschnitt 1 zeigt ein STEM-Übersichtsbild auf dem im rechten Bereich die grobkristalline Füllung der Zelle zu sehen ist und im linken Bereich die kavernöse Gesteinsmatrix. Der Maßstab ist 3000 nm lang. Bildausschnitt 2: STEM-Aufnahme des Grenzbereichs um die Zellwand; zu sehen ist der helle Spalt in dem sich die organische Zellmembran (Pfeil) befindet, die Chertmatrix darunter besteht aus feinkristallinem Quarz. Der Maßstab entspricht 500 nm. Bildausschnitt 3: Grenzbereich um die Zellwand (Quarzwand und Kohlenstoffmembran) mit Focus auf radial angeordnete Quarzplättchen in der Fossilwand, die sich am äußeren Rand des grobkristallinen Quarzkerns befindet. Der Maßstab entspricht 500 nm. Bildausschnitt 4: Beugungsbild der Quarz-Fossilwand. Bildausschnitt 5: Das EDX-Spektrum, repräsentativ für kristalline Bereiche innen und außen in 2 und in der Quarzwand 4 zeigt dass der Chert und der Großteil der Fossilwand frei von Kohlenstoff sind.

Beide Wände haben an dieser Position etwa einen Abstand von 3  $\mu$ m. Der Maßstab hat hier eine Länge von 3000 nm. Detailbilder 2 und 3 sind Ausschnitte von den entsprechend markierten Stellen.

In Ausschnitt 2 ist der monokristalline "Steinkern" dem polykristallinen *Chert* gegenübergestellt. Beide sind durch einen Hohlraum voneinander getrennt (Pfeil), in dem sich ein dünnes Band aus organischem Kohlenstoff befindet. Der Einkristall aus dem Zellinneren ist hier als schwarz-graue Fläche im oberen Bildteil zu sehen, wogegen die Chertmatrix im unteren Bildbereich aus vielen Kristalliten besteht, die Größen von etwa 10-100 nm haben. Der Maßstabsbalken entspricht hier 500 nm. Beide Bereiche sind mit Beugungsbildern 4 und EDX-Spektren 5 klar als kristalliner Quarz zu identifizieren.

Ausschnitt 4 zeigt ein Beugungsbild von Quarz, das repräsentativ für die zwei *Chert*-Bereiche innen und außen der Zelle und insbesondere auch für die Fossilwand mit Lamellenstrukturen ist; die Strukturen sind damit eindeutig kristallin, weil Beugungseffekte nur in kristallinem Material auftreten.

Ausschnitt **5** zeigt eine EDX-Analyse repräsentativ für die selben Stellen; die einzigen Elemente, die in messbarer Konzentration vorkommen sind Silizium und Sauerstoff, sowie etwas Kupfer, vom Kupfer-Trägernetz auf dem die Folie montiert ist. Kohlenstoff und Gallium sind hier nicht messbar. Die abgebildeten Quarzkristallite innen und außen und insbesondere auch in der Fossilwand selbst sind also weitgehend frei von Kohlenstoff.

### 7.2.4.2 Plättchen-Strukturen in der Fossilwand von Zelle 3

Die besondere Struktur am Rand des Quarz-"Steinkerns" aus dem Zellinneren ist in Bildausschnitt Abb. 7-7-3 dargestellt. Gemeint sind die parallelen Lineationen im Zentrum des Bildes, die fast senkrecht zur Kohlenstoffmembran stehen und eine mittlere Dicke von 11,7 nm (+/- 2,2 nm) haben. Sie sind als geradliniges Streifenmuster zu erkennen und treten über eine Breite von ca. 0,5-1 µm und eine Länge von ca. 3 µm in der Fossilwand auf. Die Kohlenstoffmembran ist die einzige Struktur aus organischer Substanz und wird daher als Fossil der ursprünglichen biologischen Zellwand angesehen. Sie befindet sich in dem Hohlraum, der das Zellinnere vom Zelläußeren trennt. Die radialen Strukturen liegen direkt an der Innenseite der Kohlenstoffmembran, gehören also eindeutig zum Rand des Zellinneren, also zur Fossilwand selbst.

Lokale TEM-Analysen ergeben auch hier eindeutige Beugungsmuster; die parallelen "Platten" bestehen also aus Quarz. Die "Platten" sind im STEM nur einer Schrägen Orientierung der Probe zum Elektronenstrahl zu erkennen, was darauf hindeutet, dass der Bildkontrast hier durch bestimmte Orientierungen der Quarzkristalle oder - Subkristalle erzeugt wird. Der Maßstab hat hier eine Länge von 500 nm.

### 7.2.4.3 Kohlenstoffmembran von Zelle 3

Element-Verteilungsbilder geben Aufschluss über die Konsistenz von Zelle 3. Abb. 7-8-1 zeigt Übersichtsbilder über den Schnitt durch die Zellwand. Die Silizium-Verteilung in grün zeichnet den massiven Quarzkern der Zelle nach, sowie praktisch alle festen Strukturen, die auch im STEM-Bild erkenntlich sind. Porenräume, insbesondere entlang der gekrümmten Zellwand treten deutlich hervor. Der leere Raum rechts oben im Bild erscheint schwarz; das freigeätzte Relief der Gesteinsoberfläche zeichnet sich dagegen deutlich ab. Das Gallium-Verteilungsbild in blau macht deutlich, dass sich praktisch überall, besonders in den Hohlräumen Gallium abgelagert hat, dass von dem Gallium-Ionenstrahl stammt, mit dem die Folie aus dem Gestein geschnitten wurde.

Die Kohlenstoffverteilung ist in rot dargestellt. Hier ist das Bild etwas diffuser, was an den geringen Kohlenstoffkonzentrationen im Gestein liegt und daran, dass die Gesteinsfolie auf einem Kohlenstoff-Polymernetz liegt. Das Gewebe des Polymernetzes scheint besonders dort, wo sich durch den Ätzprozess Porenräume geöffnet haben durch das Gestein durch und überdeckt dessen organischen Kohlenstoffanteil. Besonders gut ist dieser Effekt rechts oben im Bild zu sehen, wo sich die runden Blasen des Gewebes vor dem Vakuum abzeichnen. Zusätzlich ist eine deutliche Kohlenstoffanreicherung dort zu erkennen, wo sich der Porenraum entlang der Zellwand öffnet (Pfeile).

#### 7 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Acritarchen



Abb. 7-8 STEM und EDX-Elementverteilungsbilder von Zelle 3. []: Übersichtsbild über die gesamte Gesteinsfolie. Rot: Kohlenstoffverteilung; die Pfeile markieren die Position der inneren Kohlenstoffmembran, bzw. mit Fragezeichen die wahrscheinliche Position der äußeren Membran; Grün: Siliziumverteilung; Blau: Galliumverteilung; Grau: STEM-Bild mit Position des Detailbildes []. []: Detailbild von der Kohlenstoffmembran. Die Pfeile im Kohlenstoff-Bild haben exakt dieselbe Position wie die Markierungen an den Kanten von Quarzstrukturen im grünen Bild, bzw. wie die Markierung eines Loches im Polymer-Trägernetz im grauen Bild.

Die Stelle mit der höchsten Kohlenstoffkonzentration (Pfeil in 1) wurde in höherer Vergrößerung abgebildet. Abb. 7-8-2 zeigt ein STEM-Bild von der Kohlenstoffmembran und deren direkter Umgebung. Von derselben Stelle stammen auch die Punktspektren in Abb. 7-9. Der Rand einer Blase im Polymer-Trägernetz ist mit Pfeilen markiert. Die Krümmung des Randes deutet an, dass sich der linke Teil der Membran im Vakuum befindet, wogegen der rechte Teil auf der Folie liegt. Die Blase ist auch deutlich im Übersichtsbild zu erkennen. Die Siliziumverteilung im Detailbild zeigt wiederum deutlich Quarzkörner oben und unten und ein schwächeres Signal an der Stelle an der sich die Kohlenstoffmembran befindet. Gallium ist vor allem am Rand der Porenräume angereichert.

Das Kohlenstoff-Signal ist bei dieser Vergrößerung sehr deutlich. Ein etwa 100 nm breites Band aus Kohlenstoff zieht sich quer durch das Bild, dort wo im STEM-Bild die Membran zu sehen ist. Weitere Reflexe werden dort registriert, wo Quarzstrukturen vorhanden sind, z.B. die im Si-Bild mit weißen Pfeilen eingezeichneten Korngrenzen. Dieses Signal kann dadurch zustande kommen, dass sich die Sauerstoff-Reflexe im EDX-Spektrum in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Kohlenstoff-Reflexen befinden. Durch den starken Sauerstoff-Peak wird das Untergrundrauschen im Kohlenstoff-Signal angehoben und zwar überall dort, wo sich auch Sauerstoff befindet, also an den Quarzkörnern. Auch das Polymer-Netz macht sich im Kohlenstoff-Bild bemerkbar (gekrümmte Kontur).

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sich der Kohlenstoff im Gestein stark auf die ca. 30 nm dünne Struktur einer einzigen Membran konzentriert. Diese wird als die innere Membran der doppelten Zellwand interpretiert. Überreste der äußeren Membran sind eventuell bruchstückhaft erhalten, konnten aber im STEM-Modus nicht aufgefunden werden. Eine leichte Kohlenstoffanreicherung in entsprechendem Abstand ist im Übersichtsbild [1] mit einem Fragezeichen markiert. Die Kohlenstoffverteilung entspricht damit nicht den morphologisch freigeätzten Wandstrukturen (Kap. 8.3.2.3), die eine Breite von 700 nm erreichen. Eine mögliche Erklärung für die Entstehung dieser Kohlenstoffverteilung in der Fossilwand wird mit einem Modell in Kap. 10.2 gegeben.

Die Kohlenstoffmembran wird im Folgenden näher analysiert. Abb. 7-9-2 zeigt ein Übersichtsbild von einem Querschnitt durch die Zellwand, wie auch in Abb. 7-7 bereits dargestellt. Es ist zu erkennen, wie die dunkle, dünne Membran an der grobkristallinen Füllung der Zelle anliegt, an manchen Punkten aber im Vakuum zwischen der Zellfüllung und der äußeren Gesteinsmatrix hängt. In Abb. 7-9-1 ist die Probe um 45° gegen den Uhrzeigersinn gedreht vergrößert dargestellt. Die Zellmembran erstreckt sich über die gesamte Bildbreite und liegt in der linken Bildhälfte im Vakuum, da sich hier ein (schwach zu erkennendes) Loch in der Trägernetzfolie befindet. Die Membran ist lediglich links oben an dem Quarzkorn angeheftet, das ganz oben im Bild angeschnitten ist. An dieser Stelle wurde ein EDX-Spektrum **5** aufgenommen in dem ein deutlicher Kohlenstoff-Reflex zu erkennen ist. Neben Kohlenstoff kommen außerdem Quarz, Kupfer und Gallium vor. Die Reflexe von Quarz rühren von dem benachbarten Quarzkorn her, Kupfer von dem metallischen Träger und Gallium von den allgegenwärtigen Rückständen der Gallium-Ionenstrahl-Präparation.

Die Korrelation der Kohlenstoffverteilung mit der Membranstruktur ist in Kap. 7.2.4.3 beschrieben.



Abb. 7-9 Transmissions-Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Zelle 3. Ausschnitt 1 zeigt ein STEM-Übersichtsbild auf dem in der ganzen Breite die Kohlenstoffmembran sichtbar ist; Pfeile weisen auf die Positionen, an denen Detailbilder 3 und 4 , sowie ein EDX-Spektrum 5 und ein EELS-Spektrum 6 aufgenommen wurden; Der Maßstabsbalken ist 500 nm lang. Bildausschnitt 2: STEM-Aufnahme des Grenzbereichs um die Zellwand; Die Kohlenstoffmembran ist vor allem dort zu erkennen, wo sie frei im Vakuum hängt (Pfeile); Maßstab 1000 nm. Bildausschnitt 3: STEM-Bild mit senkrechtem Schnitt durch die Kohlenstoffmembran; Pfeile weisen auf regelmäßig angeordnete Querstreben, die die inneren 2 Laminae der Membran miteinander verbinden; Maßstab 10 nm. Bildausschnitt 5: EDX-Spektrum von der Kohlenstoffmembran; Bei der Breite des Anregungsvolumens von 55 nm liefert auch das benachbarte Quarzkorn Reflexe. Bildausschnitt 6: EELS-Spektrum der Kohlenstoffmembran; Zu erkennen sind 2 Maxima, was auf amorphen Kohlenstoff hinweist.

Detailbilder 3 und 4 wurden an den Stellen aufgenommen, wie in 1 markiert. Mit dem Detailbild 3 wurde die Membran genau senkrecht geschnitten. Hier sind drei dunkle Laminae zu erkennen, von denen die inneren zwei mit Querstrukturen/Querstreben verbunden sind.

An den Verbindungsstellen der Querstreben zu den Laminae befinden sich Verdickungen oder Knotenpunkte. Die 5 Querstreben haben einen regelmäßigen Abstand von 10 nm (+/- 1,3 nm) und liegen radial zum Zentrum der Zelle.

Im Detailbild 4 ist die Membran etwas schräg angeschnitten, wiederum sind 3 Zonen verschiedener Graufärbung zu erkennen, die auf eine dreischichtige Membran hindeuten. Regelmäßige Stege fehlen in diesem Schnitt. An den Positionen 6 und 4 wurde jeweils versucht, TEM-Beugungsbilder von Kohlenstoffkristallen aufzunehmen. Es ergaben sich allerdings keinerlei Beugungsmuster, was auf amorphen Kohlenstoff hinweist. Ein EELS-Spektrum 6 bestätigt die völlig amorphe Struktur der Kohlenstoffmembran an dieser Stelle. Bei 280 eV befindet sich die Kohlenstoff-K-Kante im Spektrum, bei etwa 285 eV ist ein Maximum zu sehen, das durch π-Elektronen zustande kommt und bei 300 eV befindet sich das Maximum der o-Elektronen. Dieses Maximum ist bei kristallinem Kohlenstoff in mindestens 2 Submaxima untergliedert, weil sich die  $\sigma$ -Orbitale im kristallinen Kohlenstoff anisotrop verhalten. Ein Vergleich mit einem Spektrum der Trägernetzfolie, die aus nicht-kristallinem Kohlenstoff besteht, zeigt eine identische Kurve und bestätigt, dass in der Kohlenstoffmembran von Zelle 3 kein geordneter Kristall vorliegt. Die Positionen [3,4,5,6] liegen über einem Loch in der Trägernetzfolie im Vakuum, Spektren und Beugungsbilder sind also nicht von der Beschaffenheit der Polymerfolie beeinflusst.

### 7.2.4.4 Quarzstrukturen in Zelle 4

Zelle 4 unterscheidet sich dadurch von Zelle 3, dass eine klare Trennung von Zellinnerem und Zelläußerem nicht gemacht werden kann, weil eine kompakte Zellfüllung fehlt. Auch fehlen Strukturen innerhalb der Fossilwand, die diese klar von ihrer Umgebung unterscheiden. Statt dessen besteht die freipräparierte Fossilwand aus amorphem Quarz ("sedimentäres Glas"). Die Zellwand ist in Abb. 7-10-1 als klare Erhebung mit etwa 2500 nm Breite erkennbar (Pfeil). Links und rechts der Zellwand befinden sich kavernöse Ätzstrukturen auf der gesamten Bildbreite.

77

### 7 - Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Acritarchen

Es fällt ein heller Fleck in der Mitte des Bildes auf, der durch eine erhöhte Dicke des Präparates an dieser Stelle entstand. Ebenfalls die vertikalen hellen Streifen im Bild entstehen durch Unebenheiten der Gesteinsfolie. Trotz der ungewollten Effekte ist aber eine wichtige Eigenschaft des *Chert* in dem Bild zu erkennen: Quarzkristalle schwimmen in der Nähe der Fossilwand in einer Matrix aus amorphem Quarzglas. Quarzkristalle erscheinen im Bild kontrastreich und amorpher Quarz als homogenes Grau. Die Häufigkeit der Kristallite nimmt von innen und außen (links und rechts) zur Zellwand hin ab. Die Quarzkristalle sind besonders gut im rechten Bildteil durch erhöhten Kontrast zwischen verschieden orientierten Körnern zu erkennen. Kristallitgrößen bewegen sich zwischen 50 und 75 nm, sind also mit der feinkörnigen Matrix von Zelle 3 vergleichbar.



Abb. 7-10 Transmissions-Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Zelle 4.  $\boxed{1}$ : Übersichtsbild mit erhabener Zellwand in der Mitte (Pfeil). Auf einer Strecke von a nach b nimmt die Häufigkeit von Quarzkristalliten stetig zu. Der Quarz ist im Bereich der Fossilwand beugungsisotrop (amorph, glasartig) und in einem Abstand >5 µm links und rechts der Zellwand feinkristallin. Maßstab 5000 nm.  $\boxed{2}$ : Detailbild aus der rechten Bildhälfte in  $\boxed{1}$ . Zu sehen sind kristalline Bereiche mit starkem Kontrast (rechts) und zunehmend amorphe Bereiche mit geringem Kontrast (links, Pfeil).

Abb. 7-10-2 zeigt den rechten Bildausschnitt in höherer Vergrößerung, wobei zu sehen ist, dass im linken Bereich in Zellwand-Nähe gleichförmig graue Flächen zunehmend vorhanden sind, in denen kein Kontrast auftritt (Pfeil). Dabei handelt es sich um amorphen Quarz. Amorpher Quarz ist im Bereich der Zellwand ausschließlich vorhanden.

Der Kristallinitätsgradient kann mit TEM-Punktmessungen nachvollzogen werden. Beugungsbilder entlang einer Strecke von a nach b in Bildausschnitt 1 zeigen in der Zellwand keinerlei Reflexe, bei a schwache Reflexe, zunehmende Reflexintensität in der Mitte der Strecke und deutliche Reflexe bei b. Dies ist auf die Zunahme der Kristallitgröße und –Häufigkeit in zunehmendem Abstand zur Fossilwand zurückzuführen. EDX-Spektren entlang der gleichen Strecke zeigen durchgehenden Quarzbestand.

Der Bereich, in dem amorpher Quarz vorkommt erstreckt sich etwa 5 µm innen und außen der Zellwand, ist also insgesamt 10 µm dick. Es fällt auf, dass diese Dicke mit einem ähnlich breiten Konzentrationsgradienten von organischem Kohlenstoff zusammenfällt, der an der gleichen Zelle gemessen wurde (Kap. 7.1.4). Die Chertmatrix ist auf ebendieser Breite innen und außen der Zellwand besonders leicht löslich für Flusssäure.

# 8 Kraftmikroskopische Untersuchungen an Acritarchen

## 8.1 Versuchsbeschreibung

## 8.1.1 Versuchsaufbau

Für die AFM-Messungen an den Dünnschliffen wurde ein Aufbau verwendet wie er für alle durchsichtigen Proben geeignet ist (Abb. 8-1). Als Basis für die Messung dient ein inverses Mikroskop (Zeiss – "Axiovert 135"), mit dem die Probe von unten betrachtet werden kann. Die Probe sitzt auf einem beweglichen Probentisch, mit dem das Fossil ins Zentrum des Messbereiches gebracht wird. Über dem Probentisch steht auf höhenverstellbaren Füßen der Messkopf des Kraftmikroskops (Topometrix-"Explorer"). Der Piezo-Scanner im zentralen Innenbereich des Messkopfs rastert die vorher justierte Probe ab. Zusätzlich ist der Messkopf mit einer Videokamera ausgerüstet, die den gerasterten Oberflächenbereich abbildet.



Abb. 8-1 Schemazeichnung des Versuchsaufbaus für AFM-Messungen an durchsichtigen Gesteinsdünnschliffen. Position 1 ist der AFM-Messkopf mit Piezo-Scanner und einer eingebauten Videokamera, Position 2 ist der Probenträger mit Dünnschliff, Position 3 ist ein inverses Lichtmikroskop. Beide Beobachtungsmöglichkeiten über Videokamera und Mikroskop sind symbolisch mit einem Auge gekennzeichnet.

Bei dünnen und gut durchsichtigen Dünnschliffen kann mit dem inversen Mikroskop sowohl die Probe als auch die darüber schwebende Nadel betrachtet werden. Die Positionierung des Scanners auf die interessante Stelle der Probe ist hier auf wenige Mikrometer genau möglich.

Allerdings sind bei großen Dicken der Schliffe, wie sie in den durchgeführten Versuchen verwendet wurden, Fossilien und Nadel bei inverser Betrachtung nur Schemenhaft zu erkennen. Demnach musste die Positionierung der Probe rein mit der Videokamera durchgeführt werden, mit der der Messbereich und die Nadel von oben zu sehen sind. Zur Orientierung wurde direkt vor der AFM-Messung mit einem dünnen Stift eine asymmetrische Markierung um das Fossil unter dem Binokular angebracht. Das Mikroskop wurde zur Beleuchtung des Fossils von unten benutzt. Mit Hilfe der punktförmigen, zentrierten Lichtquelle konnte das Fossil genau ins Zentrum des Messbereichs gebracht werden (Abb. 8-2).



Abb. 8-2 Videobild vom Scannvorgang an Zelle 2. Der Operator sieht von oben auf den SiN<sub>3</sub>-Chip (links), an dem die Blattfeder sitzt (Bildmitte). Während des Scanns kann die Bewegung der Spitze über die beleuchtete Fossilzelle (Kreis im Bildzentrum) beobachtet werden.

# 8.1.2 Messverfahren

Fossilien wurden zunächst in einem Übersichtsscan mit 100 µm Kantenlänge abgebildet. Anschließend wurde die Zellwand einzelner Fossilien Stück für Stück mit höherer Auflösung abgerastert.

Für die AFM-Untersuchung der angeätzten Chertschliffe wurde ein Topometrix (heute Veeco) AFM-"Explorer" benutzt. Dieses ist mit einem Scanner ausgestattet, der eine maximale Scannbreite von 130x130 µm in der Horizontalen hat, sowie einen Scannbereich von 10,5 µm in der Vertikalen abdeckt. Das Gerät ist sehr variabel und gut für geologische Proben verschiedenster Größe geeignet.

Für die Abbildung von Oberflächenstrukturen wurde ausschließlich im *"intermittent contact"*-Modus gearbeitet. Bei den angestrebten Ätzzeiten von 40-70 min resultieren Oberflächen, die feine zerbrechliche Zellwände enthalten und auch selbst sehr porös und spröde sind. Im direkten Kontakt zerstört die Nadelspitze beim Scannen die Oberfläche und löst einzelne Partikel aus dem Gesteinsverband heraus. Partikel werden an der Nadelspitze mitgeschleppt und über den ganzen Scannbereich verteilt. Abb. 8-3 zeigt diesen Effekt in einen 100 µm großen Ausschnitt eines fossilen Farnes (*Quercus rubra* [Cardon et al., 2002]) in *Chert*-Erhaltung, der nach 40 min Ätzzeit im Kontakt-Modus abgebildet wurde. Das Kontaktbild wurde mit 50 µm Kantenlänge im Bereich zwischen den Pfeilen aufgenommen. Die 100 µm breite Aufnahme entstand anschließend im "intermittent contact"-Modus.



Abb. 8-3 AFM-Aufnahme (intermittent contact) eines fossilen Farnes *Quercus rubra* [Cardon et al., 2002] nach 40 min Ätzung. Die Pfeile markieren einen Bereich in dem vorher eine Messung im Kontakt Modus stattgefunden hat. Der Maßstabsbalken ist 10  $\mu$ m lang.

Die weißen Flecken im Bild sind Partikel, die auf der Oberfläche liegen. Sie sind auf den 50x50 µm großen Bereich beschränkt in dem der vorhergehende Kontakt mit der AFM-Nadel stattfand. Die spätere *"intermittent contact"*-Messung ist störungsfrei im oberen und unteren Bereich und weist Streifen im mittleren Bereich auf, in dem Schmutzpartikel den Messvorgang stören.

### 8 - Kraftmikroskopische Untersuchungen an Acritarchen

Für alle AFM-Abbildungen wurden die *noncontact* Cantilever "Nanosensors NCHR*reflex coated*" und "SSS-NCH" mit Eigenfrequenzen zwischen 250 und 400 kHz und Federkonstanten um 50 N/m benutzt. "SSS-NCH"-Cantilever haben eine besonders schlanke Spitze mit Öffnungswinkeln von 3° und einem Spitzenradius von 5 nm und wurden für besonders hochauflösende Aufnahmen verwendet (NCHR: 10° und 10 nm). Der kleine Öffnungswinkel beschränkt sich allerdings auf die vorderen 1500 nm der Spitze. Wie in Kap. 4.1.5 beschrieben, ist diese Länge für geologische Proben ohnehin oft zu gering, so dass die Benutzung einfacher Cantilever in der Regel genügt.

Die Auflösung der AFM-Bilder wurde auf 300 Punkte pro Zeile und 300 Zeilen pro Bild eingestellt, was einen Kompromiss aus schneller Abbildung und hoher Auflösung darstellt. Für ein Bild mit 100 µm Kantenlänge ergibt sich eine Auflösung des Datensatzes von 0,3 µm; für ein Bild mit 10 µm Kantenlänge, wie es standardmäßig für Abbildungen der fossilen Zellwände angefertigt wurde ergibt sich eine Auflösung von 33 nm. Diese Auflösung entspricht etwa der physikalischen Auflösung, die durch die Dimensionen der Oberflächenstrukturen und den Dimensionen der Rasterspitze bestimmt wird. Mit längerer Benutzung der Spitze wird diese merklich stumpfer, so dass deren Dimensionen deutlich über der eingestellten Auflösung des Datensatzes liegen.

### 8.2 Datennachbearbeitung

Das Topometrix AFM ist ein nicht-linearisiertes Kraftmikroskop. Bilder können daher verzerrt sein. Für die Korrektur der Verzerrungen wurden Standardgitter mit eindeutig definierten Abmessungen aufgenommen, die zur Ermittlung des Verzerrungsgrades der Bilder in der Horizontalen dienen. Weitere Abbildungsfehler (vgl. Kap. 4.1.6) und deren Korrekturen sind im folgenden beschrieben.

# 8.2.1 Berichtigung von Artefakten

Drei wesentliche Abbildungsartefakte wurden standardmäßig mit "Scanning Probe Imaging Processor<sup>TM</sup>" in allen AFM-Bildern korrigiert. Ausreißer, Schräglage des Bildes und Zeilensprünge.

In einem ersten Schritt wurden feine Ausreißer, wie sie durch das Mitschleppen von Partikeln an der AFM-Spitze oder durch Überhöhung von Kanten bei schnellem Abrastern großer Reliefs entstehen, durch Filter entfernt. Dabei wird die Oberflächenkurve geglättet, indem besondere Extrema abgeschnitten werden. In der Folge steigt der Bildkontrast, da die Farbskala mit 256 Farben eine geringere Bandbreite von Höheninformationen abdecken muss als im Originalbild.



Abb. 8-4 Bildbearbeitungsschritte an AFM-Bildern am Beispiel einer Aufnahme einer rezenten Cyanobakterien-Kolonie (Lebende *Formidien* - filamentöse Cyanobakterien aus einer Reinkultur der Arbeitsgruppe "Geomikrobiologie" (Prof. Krumbein), ICBM und FB Biologie, Geo- und Umweltwissenschaften der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg).

Abb. 8-4 zeigt den Effekt im Unterschied vom Originalbild 1 zum korrigierten Bild 2. Die Aufnahme stellt mehrere Filamente von lebenden Cyanobakterien (Formidium) dar, die in getrockneter Form aufgenommen wurden. Das Resultat des Ausreißer-Filters ist vor allem ein höherer Kontrast in den Randbereichen der Filamente (Pfeile in 2).

Die systematische Schräglage des Bildes 1, wie sie z.B. durch die Schräglage des Scanners verursacht werden kann, wird mit einer Polynomfunktion ausgeglichen. Hierbei wird eine Ebene in das Bild gelegt, die dann anschließend horizontal ausgerichtet wird. Im gleichen Schritt werden auch horizontale Zeilensprünge aus dem Bild (Pfeil in 1) herausgerechnet. Hierbei werden die mittleren Höhen der einzelnen Zeilen aneinander angeglichen und in die neu berechnete Ebene hineingelegt.

Einzelne Bildzeilen werden also als ganzes gegeneinander verschoben. Im Ergebnis sieht das endgültige Bild 3 wesentlich kontrastreicher und glatter aus.

## 8.2.2 Begleitende Lichtmikroskopie

Von allen gefundenen Fossilien (9 Acritarchen aus dem *Chichkan Chert* und 733 Cyanobakterien aus dem *Bitter Springs Chert*) wurden nach dem Anschliff lichtmikroskopische Aufnahmen gemacht um eindeutige Referenzbilder für die kraftmikroskopischen Aufnahmen zu besitzen. Dies ist hilfreich für die Interpretation der AFM-Bilder, weil Informationen wie Farbe und die Tiefe unterhalb der Oberfläche in AFM-Bildern fehlen.

Es wurde ein Zeiss-"Axiovert 135" Lichtmikroskop in Verbindung mit einer digitalen Farbkamera-"Photometrics Coolsnap" verwendet. Standardmäßig wurde ein Zeiss "Acroplan" Objektiv mit langem Arbeitsabstand und 40facher Vergrößerung benutzt. Zur Kalibrierung des Abbildungsmaßstabes wurde eine handelsübliche Mikrometerskala verwendet.

Von jedem Fossil wurde ein Durchlicht-Bild vor dem Ätzvorgang und ein Auflicht-Bild nach dem Ätzen angefertigt um die Information aus der Tiefe des Gesteins mit der reinen Oberflächeninformation vergleichen zu können.

# 8.2.3 Bildentzerrung und Korrelation mit Lichtbildern

AFM-Bilder des Topometrix "Explorer" sind bis zu 30% in den horizontalen Dimensionen verzerrt. Die Verzerrung ist nicht systematisch, wie in Kap. 4.1.5 erläutert, muss also für jede Messung separat korrigiert werden. Besonders bei großen Übersichtsscans fällt dieser Fehler stark ins Gewicht; weniger bei höheraufgelösten Detailbildern. Dies ergibt sich aus dem Ausdehnungsverhalten der Stapelpiezos, mit denen der Scan durchgeführt wird, wie in Kap. 4.1.5 erläutert.

Eine Entzerrung wurde daher für alle Übersichtsbilder vorgenommen, nachdem direkt nach den AFM-Aufnahmen eine Standard Probe mit bekannten Maßen abgebildet wurde. Hierzu wurde ein Kalibriergitter "TGX 01" der Firma Anfatec mit quadratischen Einheitszellen von je 3 µm Kantenlänge verwendet. Aus der Verzerrung des Standards wurden die Korrekturfaktoren errechnet. Abb. 8-5-3 zeigt das Übersichtsbild einer angeätzten Acritarchenzelle nach der Entzerrung. Der Fehler im AFM-Bild betrug in diesem Fall 33% in Y-Richtung, 0% in X -Richtung.



Abb. 8-5 Montage eines entzerrten AFM-Bildes von Acritarchenzelle 3 mit dem dazugehörigen Lichtbild. Position 1: original Lichtmikroskopische Aufnahme; Position 2: Lichtbild mit überlagertem AFM-Bild bei 40% Transparenz; Position 3: AFM-Bild ohne Transparenz.

Zur Kontrolle der Entzerrung und zur Lokalisierung einzelner AFM-Messpunkte auf dem herkömmlichen lichtmikroskopischen Bild wurden beide Bilder in einer Photomontage übereinandergelegt. Hierzu fand die übliche Bildbearbeitungssoftware (Adobe Photoshop 6.0 und Corel Photopaint 9.0) Anwendung. Zur genauen Positionierung der AFM-Bilder wurden halbtransparente Ebenen verwendet, wie in Abb. 8-5-2 gezeigt.

Ein ebenso wichtiges Problem stellte die Positionierung hochaufgelöster AFM-Bilder innerhalb der großen Struktur dar, weil kleine Strukturen unter hoher Vergrößerung völlig anders aussehen als in der Übersicht und für sich dem großen Bild nur schwer zuzuordnen sind. Die Fotomontage der einzelnen Bilder in einer Datei mit verschiedenen Ebenen lösten dieses Problem. Hochaufgelöste Bilder können innerhalb der großen Struktur immer wieder gefunden werden, wie bei Acritarchenzelle 2, von der mehr als 50 AFM-Aufnahmen in verschiedenen Vergrößerungen und nach verschiedenen Ätzstufen angefertigt wurden (Abb. 8-6).



Abb. 8-6 Fotomontage aus verschiedenen AFM-Topographiebildern von Acritarchenzelle 2.

# 8.3 Ergebnisse

# 8.3.1 Ätzverhalten einzelner Acritarchen

Die Prozesse, die bei der Flusssäurepräparation von verkieselten Mikrofossilien ablaufen, und resultierende Strukturen sind ein Thema der vorliegenden Arbeit. Hier wird auch die Frage angesprochen, welche Fossilien sich besonders für Untersuchungen am Rasterkraftmikroskop eignen. Ein Verständnis dieser Vorgänge hilft den Ätzprozess zu optimieren und die präparierten Strukturen zu interpretieren.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Auflösung des Gesteins dort ansetzt wo eine gewisse Kohlenstoffkonzentration in der Quarzmatrix vorhanden ist, nämlich im Zellinneren und in der direkten Umgebung der Zellwand. Genauere Daten zur Kohlenstoffkonzentration in der Umgebung der Zellwand lieferten Mikrosondenexperimente, die an Zelle 4 durchgeführt wurden. Die Zellwand selbst, ebenso wie die reine Quarzmatrix wurde weniger stark angegriffen als *Chert* mit einem Kerogenanteil zwischen etwa null und einem Prozent (Kap. 7.1.4). Diese Beobachtung auf der Mikrometer-Skala deckt sich mit Beobachtungen der Löslichkeit von kohligen Stromatolithen auf der Millimeter-Skala und mit der Auflösung von größeren Materialstücken im Zentimeter-Bereich (vgl. Kap 5.5 und Kap. 5.6). Das Ätzen mit Flusssäure setzt auf allen Skalen dort an, wo eine gewisse, geringe Kohlenstoffkonzentration im Chert vorhanden ist.

Abb. 8-7 zeigt eine Übersicht über AFM-Bilder von 9 Acritarchenzellen nach der Präparation. Vertiefungen innen und außen von der Zellwand entstanden in den Zellen 1,2,3,4,5,6,7. Löcher im Zentrum der Zelle entstanden in den Zellen 1,2,4,5,6, ansatzweise auch in Zelle 7 erkennbar. Die zentralen Löcher in Zellen 5,6 und 7 sind nur schwach ausgeprägt, allerdings ist auch der Kohlenstoffanteil im Inneren dieser Zellen im Lichtmikroskop nicht zu erkennen (vgl. Abb. 3-4).



Das Ätzverhalten von Zelle 3 bildet eine Ausnahme, weil im Zentrum ein harter Kern stehen bleibt, obwohl sich ein großer organischer Einschluss in der Zelle befindet. In Abb. 7-6 und Abb. 8-7- 3 ist zu sehen, dass das Innere der fossilen Zelle sehr resistent gegenüber der Säurewirkung ist, weil der gesamte Kern der Zelle 3 aus einigen wenigen großen Quarzkristallen besteht, wie aus STEM-Bildern (Kap. 7.2.4) klar wird. Der "Steinkern" verhält sich wie reiner monokristalliner Quarz, so lange der Kohlenstoffgehalt aus dem Mineralinneren nicht mit Säure in Kontakt kommt (vgl. Kap. 5.5.). Im Gegensatz zum Zellinneren wird das einbettende Material um Zelle 3 leicht angegriffen und bildet unter Säureeinwirkung ein poröses Netzwerk aus, das um die Zelle herum in sich zusammenbricht. Dies wird im Tiefenquerschnitt durch die Zelle deutlich (vgl. Abb. 7-7). Bemerkenswert ist auch das Ätzverhalten an der doppelten Zellwand von Zelle 3. In Abb. 8-5 ist zu erkennen, dass sich die beiden Zellwände nicht gleich verhalten. Während die innere Wand der Säure gegenüber resistent ist und die Ausbildung einer erhabenen Wand begünstigt, bildet sich direkt außen vor der äußeren Wand ein tiefer Graben. Aus der Morphologie von Zellwänden und Graben bleibt unklar, inwieweit der organische Anteil der äußeren Wand (die organische Membran) erhalten bleibt. STEM und WDX-Experimente an Zelle 3 weisen allerdings darauf hin, dass nur die innerste Membran der Säure standhält. (S. dazu auch Kap. 7.2.4.3. und Kap. 8.3.2.3.)

Die Präparation der Zellen 8 und 9 lieferte keine erkennbaren Zellwände.

# 8.3.2 Strukturen in Fossilwänden

Die Fossilwände von Acritarchen bestehen aus einem Quarzanteil und einem Kohlenstoffanteil. Beide Teile weisen interne regelmäßig geordnete Strukturen auf (Kap. 7.2). Kraftmikroskopische Untersuchungen zeigen, wie diese regelmäßigen Strukturen bei der Flusssäurebehandlung freigelegt werden.

Es wurden in den freipräparierten Wänden der Zellen 1, 2 und 3 Feinstrukturen entdeckt, die typische Dicken um 300 nm (100 min.- 450 max.) haben und in allen Zellen radial orientiert sind. Im Gegensatz zu den Transmissions-Methoden am STEM, mit denen eine 100 nm dünne Folie zweidimensional durchleuchtet wird, sind am AFM freigeätzte Strukturen in 3 Dimensionen erkennbar. Bei höherer Vergrößerung gelang das Abbilden von dachziegelartig angeordneten Plättchen in Zelle 2 (Abb. 8-11), von denen angenommen werden kann, dass es sich um Kohlenstoff handelt, der eine kristalline Phase von aromatischen Kohlenwasserstoffen darstellt [Kempe et al., 2002]. Die Kristallplättchen sind mit typischen Dicken von 31,0 nm (+/-11,1 nm) etwas stärker als die organischen Strukturen, die mit STEM in Zelle 3 gemessen wurden, liegen aber in ähnlicher Größenordnung. Für alle Zellen gilt der Befund, dass Plättchenstrukturen nur lokal erhalten sind, der größte Teil der Zellwand aber unstrukturiert scheint. Radiale Strukturen, die in Zelle 2 in Größenordnungen von 10 nm, 100 nm und 1000 nm nebeneinander auftreten, zeigen, dass die Fossilwand einer Zelle unterschiedliche Strukturen beinhalten kann. Weiterhin konnte mit Zelle 6 ein Fossil abgebildet werden, dessen Wand aus vier differenzierten Schichten besteht.

Im Folgenden sind die gefundenen Strukturen und deren Position auf der Zellwand der einzelnen Zellen getrennt beschrieben.

### 8.3.2.1 Zellwandstrukturen in Zelle 1

Die Wand von Zelle 1 ist vor allem im oberen Bereich der Zelle gut erhalten (Abb. 8-8-2). Dort wurden höher auflösende Bilder aufgenommen, mit Positionen auf der Probe wie in Abb. 8-8-1 dargestellt (Pfeile). Dabei ist zu erkennen, dass die Zellwand unterschiedliche Strukturen aufweist, die nur etwa 10 µm voneinander entfernt liegen. Abb. 8-8-3 zeigt einen Detailausschnitt mit einer massigen kompakten Zellwand, die zum Zellinneren hin in einer geraden Kante abfällt, nach außen hin aber direkt ins Umgebungsmaterial übergeht. Die innere Struktur der Wand ist an dieser Stelle dicht und unregelmäßig.

Im Gegensatz dazu ist die Wand an einer benachbarten Stelle aus regelmäßigen Schichten aufgebaut (Abb. 8-8-4). Die nach innen gebogene Zellwand ist an dieser Stelle aufgebrochen, so dass zwei Stücke nebeneinander vorliegen. In Bildausschnitt 6 ist die Stelle dreidimensional dargestellt, wobei die schräg liegenden Bauelemente deutlicher hervortreten. Sie sitzen leicht versetzt hintereinander und weisen von oben betrachtet in etwa in Richtung der Pfeile, ungefähr radialstrahlig streichend und nach links fallend. In 5 ist aus einem anderen Betrachtungswinkel (horizontal gespiegelt) noch besser die plattige Struktur zu erkennen, in der einzelne Plättchen dachziegelartig aufeinander liegen. Die Plättchen sind zum Betrachter hin geneigt und sind in dieser Darstellung von rechts oben beleuchtet. Streichen und Fallen der Plättchen sind in 15 und 6 durch die Symbole angedeutet.

Abb. 8-8-7 zeigt eine Profillinie quer durch die Zellwand. Die Dreiecke in rot und blau markieren das Äußere und Innere der Zellwand in Bild und Profil. Die stehen gebliebene Wand ist an dieser Stelle genau 2 µm breit und erhebt sich etwa 1 µm über die Umgebung. Im Profil schließt sich gleich rechts das nächste Stück Zellwand an.



Abb. 8-8 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 1.  $\boxed{1}$ : Lichtmikroskopisches Übersichtsbild mit Position der höherauflösenden AFM-Aufnahmen ( $\boxed{3}$  und  $\boxed{4}$ ); Maßstab 10 µm.  $\boxed{2}$ : AFM-Gesamtaufnahme der Zelle; Maßstab 10 µm.  $\boxed{3}$ : Detailausschnitt von der Zellwand mit massiver Struktur; Bildausschnitt ist 4,8 µm breit und 2,7 µm hoch.  $\boxed{4}$ : Detailausschnitt von der Zellwand mit geschichteter Struktur; Original AFM-Topographiebild; Maßstab 1 µm.  $\boxed{5}$ : Derselbe Zellwand-abschnitt wie in  $\boxed{4}$ , in dreidimensionaler Darstellung und um 180° gedreht. Einige der Schichtstrukturen sind mit Pfeilen gekennzeichnet; Bildausschnitt ist 8,7 µm breit und 4,2 µm hoch.  $\boxed{6}$ : Derselbe Zellwandabschnitt wie in  $\boxed{4}$ , in dreidimensionaler Darstellung.  $\boxed{7}$ : Profil senkrecht durch die Zellwand. Rotes und blaues Dreieck sind im Bild (links) und im Profil jeweils an derselben Position; Maßstab links 10 µm; die Gitterlinien rechts sind in X-Richtung jeweils 0,5 µm- und in Y-Richtung je 0,25 µm voneinander entfernt.

#### 8 - Kraftmikroskopische Untersuchungen an Acritarchen

In Zelle 1 ist die interne schichtige Struktur der Zellwand auf ca. 11 µm Länge zusammenhängend erhalten. Die Zelle ist damit ein gutes Objekt um die Regelmäßigkeit der auftretenden Schichtdicken zu untersuchen. Dies gelingt mit einem Schnitt durch die Zellwand, parallel zum Umfang der Zelle, wie in Abb. 8-9 dargestellt. Die Abbildung zeigt den rechten Teil der Zellwand aus Abb. 8-8-4 und eine nach oben verschobene Schemazeichnung, in der die Umrisse der einzelnen Schichten verdeutlicht sind. Die einzelnen Schichtkanten sind in das zugehörige (nicht überhöhte) Höhenprofil, dessen Lage mit der Linie im Bild gekennzeichnet ist projiziert. Streich- und Fallrichtung sind, wie in Abb. 8-8 im Bild eingetragen. Der Fallwinkel der einzelnen Schichten ist in der (nicht überhöhten) horizontalen Ansicht des Wandstückes oben zu sehen; er beträgt ca. 47° nach links (Pfeile). Das Schicht-Fallen ist auch im Höhenprofil zu erkennen, wo sich tiefere Gräben auf der Zellwand gebildet haben (Pfeile). Die Dicken der einzelnen Schichten/Plättchen ist direkt in der Projektion abzulesen und beträgt zwischen 120 und 430 nm; die mittlere Dicke der Plättchen liegt bei 258,7 nm bei einer Standardabweichung von 55,5 nm.



Abb. 8-9 Rasterkraftmikroskopische Aufnahme von Zelle 1 und Höhenprofil. Das Topographiebild gibt denselben Ausschnitt wieder wie Abb. 8-8-4. Darin ist die Profillinie des Höhenprofiles parallel zum Umfang der Zellwand eingetragen. Streichen und Fallen der Schichten sind durch das Symbol angedeutet. Nach oben versetzt sind die Umrisse der einzelnen Schichten schematisch nachgezeichnet und deren Kanten in das nicht-überhöhte Profil projiziert. Der Fallwinkel der Schichten ist aus der horizontalen Darstellung desselben Bildes, ungefähr senkrecht zum Streichen (oben) abzulesen, er beträgt ca. 47°. Die Schichten sind in das Profil eingetragen und haben Mächtigkeiten zwischen 120 und 430 nm. Der Maßstabsbalken für das Profilbild gilt für X- und Z-Richtung.

### 8.3.2.2 Zellwandstrukturen in Zelle 2

Zelle 2 ist besonders gut erhalten und wurde auf der ganzen Länge hochauflösend kartiert, wie in Abb. 8-6 gezeigt. Generell ist die Zellwand unstrukturiert, hat aber jeweils am Nord- und Südpol eine Struktur, in der die Schichten radial angeordnet sind und dachziegelartig übereinander liegen. Abb. 8-10-1 zeigt ein Übersichtsbild, in dem die Positionen der Schichtstrukturen festgehalten sind. Übersicht 1 korreliert mit der AFM-Übersichtsaufnahme 2. Hier ist zu sehen, dass die Zellwand auf dem gesamten Umfang der Zelle gut freipräpariert ist. In 3 ist die Detailstruktur des oberen Bereiches aus 1 vergrößert dargestellt. Schichtstrukturen sind im rechten Bildausschnitt zu erkennen, wo etwa 0,8 µm dicke Blöcke senkrecht stehend aneinandergereiht sind (Pfeile). Der radial strukturierte Abschnitt ist nur etwa 5 µm lang, der Wandabschnitt links im Bild ist ungegliedert.

Im Gegensatz dazu ist die Zellwand im unteren Bereich der Zelle auf etwa 20  $\mu$ m Länge radial strukturiert (Abb. 8-11-1). Die die Position der Detailaufnahmen aus Abb. 8-10-4 ist in Abb. 8-10-1 markiert. 4 zeigt ganz regelmäßige Plättchen in der dreidimensionalen Ansicht von oben. In der unteren Darstellung ist dasselbe Bild 2fach gezoomt und in fast horizontaler Ansicht gezeigt, wobei die Schräglage und die gerade Struktur der einzelnen Platten zu sehen ist. Es lassen sich 14 Platten unterscheiden, deren Dicke zwischen 150 und 380 nm liegt; die mittlere Dicke ist 255,4 nm mit einer Standardabweichung von 52,6 nm. 5 zeigt die Position rechts oben auf der Zelle in höherer Vergrößerung. Die Wand erscheint auf den ersten Blick massiv und unstrukturiert, bei näherem Hinsehen fallen gröbere Einschnürungen in der Zellwand auf, die jeweils auf einem Abstand von ca. 2,1  $\mu$ m liegen (Pfeile). Die groben Einschnürungen sind im mittleren Bereich dieses Wandabschnittes wiederum in feine Platten mit radialer Orientierung unterteilt.

6 stellt ein Querprofil durch die Wand im unteren Teil von Zelle 2 dar. Die Zellwand ist hier 2,6 μm breit und erhebt sich zwischen 0,6 μm und 1,1 μm über die Umbebung.



Abb. 8-10 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 2. []: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild mit Position der höherauflösenden AFM-Aufnahmen (3, 4 und 5); Maßstab 10  $\mu$ m. 2: AFM-Gesamtaufnahme der Zelle; Maßstab 10  $\mu$ m. 3: Detailausschnitt von der Zellwand mit radialer Struktur; Bildausschnitt ist 10  $\mu$ m breit und 10  $\mu$ m hoch. 4: Detailausschnitt von der Zellwand mit geschichteter Struktur; 4 oben: 10x10  $\mu$ m Ausschnitt in dreidimensionaler Darstellung von

oben;  $\boxed{4}$  unten: 5x5 µm Ausschnitt derselben Stelle in horizontaler Ansicht .  $\boxed{5}$ : Detailausschnitt der Zellwand mit regelmäßigen Einschnürungen; Bildausschnitt ist 10 µm breit und 10 µm hoch.  $\boxed{6}$ : Profil senkrecht durch die Zellwand. Rote und blaues Dreieck sind im Bild (links) und im Profil jeweils an derselben Position; die Gitterlinien rechts sind in X-Richtung jeweils 2 µm- und in Y-Richtung je 0,2 µm voneinander entfernt.

Derselbe Wandabschnitt wie in Abb. 8-10-4 ist in Abb. 8-11 in verschiedenen Zoomstufen noch einmal dargestellt. Abb. 8-11-1 zeigt eine Übersicht über den "Südpol" der Zelle; der radial strukturierte Bereich ist mit Pfeilen gekennzeichnet. Der Kasten in 1 markiert den Bildausschnitt 2, der unten dreidimensional abgebildet ist. Ab dieser Vergrößerung sind die Schichtstrukturen zu erkennen. Weiteres Zoomen zeigt, dass die Schichten offensichtlich wiederum aus Plättchen aufgebaut sind, die dachziegelartig aufeinander liegen, wie in 3 abgebildet. In 4 sind die Konturen der Plättchen nachgezeichnet und in ein dreidimensionales Modell übertragen (5). Hierbei zeigt sich deutlich die terrassenartige Anordnung der Plättchen und deren Größe zwischen 100 nm und 300 nm. Wichtig für die Interpretation dieses Bildes ist, dass die Plättchen alle unterschiedliche Morphologie haben, an dieser Stelle also kein Abbildungsartefakt vorliegt. Die Dicke der Plättchen liegt zwischen 7 und 83 nm und bewegt sich damit in ähnlicher Größe, wie die organischen Strukturen, die in STEM-Versuchen an Zelle 3, innerhalb der Kohlenstoffmembran gefunden wurden (Vgl. Abb. 7-9). Die mittlere Dicke von 53 vermessenen Plättchen liegt bei 31,0 nm, die Standardabweichung bei 11,1 nm.

Die Plättchen auf dieser Vergrößerungsstufe sind die kleinsten Strukturen, die in der vorliegenden Arbeit mittels AFM in den Acritarchenzellen abgebildet wurden.



Abb. 8-11 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 2. 1: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild des unteren Randes ("Südpol") der Zelle. Der Kasten markiert den Zoombereich von 2. 2: Detailaufnahme der Zellwand mit radialen Schichtstrukturen. Der Kasten markiert den Zoombereich von 3. 3: Detailausschnitt von der Zellwand mit Plättchenstruktur in dreidimensionaler Darstellung. 4: Derselbe Ausschnitt wie in 3, mit eingezeichneten Konturen. 5: Konturmodell der Plättchenstrukturen in 4.

### 8.3.2.3 Zellwandstrukturen in Zelle 3

Wie in Zellen 1 und 2 zeigt Abb. 8-12 zwei Übersichtsbilder, eine Detailaufnahme und ein Profil durch die Zellwand. Das besondere Ätzverhalten an der Doppelwand von Zelle 3 ist in Kap. 8.3.1 beschrieben. Abb. 8-12-1 zeigt deutlich die direkte Nachbarschaft der herausgeätzten Furche zur äußeren Membran. Die innere Zellwand sticht deutlich als herausstehende Struktur hervor. Auf der Detailaufnahme 3 sind radiale Strukturen der inneren Zellwand in perspektivischer Darstellung zu sehen. Der Abstand der senkrecht stehenden Bauelemente der Struktur beträgt im Mittel 306,8 nm (+/- 58,5 nm). Der Bildausschnitt ist um 90° im Uhrzeigersinn im Verhältnis zur Übersicht gedreht, damit die Strukturen deutlicher werden. Eine Verdickung in der Zellwand bietet eine Landmarke, die ebenfalls im Übersichtsbild zu erkennen ist (Pfeil). Im Profil sind die Mächtigkeiten der beiden herausgeätzten Wände abzulesen (Pfeile); die innere Wand ist an dieser Stelle 700 nm dick und 200-500 nm hoch, die äußere Wand liegt etwas tiefer, ist 1,4 µm dick und 400-800 nm hoch; der Abstand der größten Erhebungen liegt bei 3,5 µm.

Die Dicke der inneren Wand entspricht mit 700 nm ungefähr der Breite der plattigen, radial zum Zellmittelpunkt angeordneten Strukturen, die aus den STEM-Untersuchungen an derselben Stelle und mit derselben Orientierung in Zelle 3 bekannt sind (Abb. 7-7-3). Der Abstand der einzelnen senkrecht stehenden Schichten ist mit 306 nm allerdings etwa 30 mal so groß wie der Abstand der radialen Quarzlamellen, die mittels STEM lokalisiert wurden. Der Schluss liegt nahe, dass die feinen 11,7 nm dicken Quarzlamellen aus dieser Zellwand durch den Ätzprozess in gröberer Form herauspräpariert wurden. Dieser Tatbestand ist wichtig für die Interpretation vieler der gefundenen Schichtstrukturen, weil in Zelle 3 die Schichtstrukturen, die auch in den anderen Acritarchenzellen auftreten auf die organische Struktur der Kohlenstoffmembran zurückgeführt werden können.


Abb. 8-12 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 3. 1: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild der Zelle mit Position der Detailaufnahme 3. 2: Kraftmikroskopisches Übersichtsbild. 3: Detailausschnitt von der Zellwand mit radialer Struktur in dreidimensionaler Darstellung. 4: Profil senkrecht durch die Zellwand. Rote und blaues Dreieck sind im Bild (oben) und im Profil jeweils an derselben Position; die Gitterlinien unten sind in X-Richtung jeweils 1 µm- und in Y-Richtung je 100 nm voneinander entfernt. Die Pfeile markieren die Breite der beiden Anteile der doppelschichtigen Zellwand.

#### 8.3.2.4 Zellwandstrukturen in Zelle 6

AFM-Aufnahmen von Zelle 6 brachten keine Feinstruktur in den dünnen Zellwänden zu Tage, dafür konnten aber die 4 parallelen Schichten aus denen die Wand besteht an einer Stelle freipräpariert werden. Abb. 8-13 zeigt neben dem lichtmikroskopischen- und rasterkraftmikroskopischen Übersichtsbild auch eine Detailaufnahme, in der 4 eng nebeneinander liegende Wandstücke erkennbar sind. Die einzelnen Schichten halten nur etwa 3 µm durch, sind dann unterbrochen und von weiteren 3 µm-Stücken gefolgt. Der Profilschnitt zeigt, dass die Schichten an dieser Stelle zwischen 500 nm und 1000 nm dick sind.



Abb. 8-13 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 6. 1: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild der Zelle mit Position der Detailaufnahme 3. 2: Kraftmikroskopisches Übersichtsbild. 3: Detailausschnitt von der Zellwand mit parallelen Ausbissen der vierschichtigen Zellwand. 4: Profil senkrecht durch die Zellwand. Rotes und blaues Dreieck sind im Bild (3) und im Profil jeweils an derselben Position; die Gitterlinien unten sind in X-Richtung jeweils 1 µm- und in Y-Richtung je 100 nm voneinander entfernt.

## 8.4 Messung von Adhäsionskräften

Zusätzlich zur Strukturanalyse wurden Kraft-Abstandskurven an einer Acritarchenzelle gemessen (Zur Technik der Kraftspektroskopie vgl. Kap. 4.1.4.). Die dabei ermittelten Adhäsionskräfte, die zwischen der AFM-Nadelspitze und der Oberfläche auftreten, sind ein Maß für die lokale "Klebrigkeit" der Probenoberfläche. Weil Kerogen höhere Adhäsion zeigt als Quarz, können die Messungen zur Lokalisierung von organischem Material innerhalb der Fossilwände beitragen und für eine erste Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften der Fossilien dienen.

## 8.4.1 Vergleichsmessungen an Quarz und Graphit

Für eine Charakterisierung der Adhäsionskräfte, die zwischen den Zellwänden von Acritarchen und einer SiN<sub>3</sub>-AFM-Spitze wirken, wurden Vergleiche mit Substanzen angestellt, aus denen der Fossil-Verbund besteht. Ziel der Vergleichsmessungen war die Bestimmung der Adhäsionskräfte jener Materialen, aus denen die untersuchten Mikrofossilien aufgebaut sind. Hauptbestandteil der untersuchten Mikrofossilien sind – wie in Kap. 2 und Kap. 3 beschrieben - v.a. *Chert* und Kerogen; die Vergleichssubstanzen Graphit und Quarz sind daher eine gute Näherung für ein Modellsystem einer fossilen Zellwand.

Um sicherzustellen dass die Wechselwirkung einzig von der Zusammensetzung des Materials abhängt und vom Relief unbeeinflusst bleibt, wurde darauf geachtet, Materialien zu verwenden, die Kraftmessungen auf absolut glatten Oberflächen zulassen. Für eine Simulation von reinem Kerogen wurde deshalb handelsüblicher *Highly ordered pyrolythic Graphite* (HOPG) benutzt, wobei alle Messungen auf einer frisch abgezogener Schichtfläche stattfanden. Für die Simulation von Kerogen-freiem Quarz wurde ein Tiefquarz-Einkristall aus der Praktikumssammlung des Instituts für Allgemeine und Angewandte Kristallographie, LMU – München, Arbeitsgruppe "Kristallzüchtung" (Prof. Gille) benutzt. Die Messungen fanden statt auf einer polierten (001)-Fläche.

Die Messung von Kraft-Abstandskurven ergaben Adhäsionskräfte zwischen 160 nN und 198 nN auf Graphit (Abb. 8-14 links) und nicht messbare Adhäsion auf einer Quarz (001)-Fläche (rechts). Graphit lieferte einen deutlichen "*Snap in*" mit Werten um 65 nN. Diese Kräfte definieren den physikalischen Rahmen für Kraftmessungen an Zelle 2.

101



Abb. 8-14 Kraft-Abstandskurven auf Graphit und Quarz, gemessen mit einer Federkonstante von 3N/m. Die gestrichelte Linie stellt Wechselwirkungskräfte bei der Annäherung der Spitze an die Probe dar, die durchgezogene Linie zeigt die Wechselwirkung beim Rücksprung der Feder. Die Kraftkurve auf Graphit zeigt einen deutlichen *"Snap in"* mit Anziehungskräften von ca. 65 nN und einen *"Snap out"* mit einer anziehenden Kraft von 198 nN beim Rückzug des Cantilevers. Adhäsionskräfte auf Quarz sind nicht messbar.

#### 8.4.2 Adhäsionskräfte auf Acritarchen

Diese Messungen wurden mit einem Park Scientific (heute Veeco) AFM-"Bioprobe" durchgeführt. Ziel war hierbei die Materialien in der direkten Umgebung der fossilen Zellwände physikalisch zu charakterisieren.

Für die Messung der Adhäsionskräfte über der fossilen Zellwand und der Quarzmatrix des Gesteins wurden weichere Cantilever als für die Abbildungen verwendet" nämlich Silicon-MDT Ultrasharp® NSC 11" mit einer Federkonstante von 3 N/m (+/-1,5 N/m). Die Federhärte wurde so gewählt, weil damit die Adhäsionskräfte auf den Reinsubstanzen Graphit (HOPG) und Quarz (beliebige (001)-Fläche) unterschieden werden konnten. Zur Kraftmessung auf dem Fossil wurde zunächst ein Topographiebild im "intermittent contact"-Modus aufgenommen und anschließend in diesem Bild eine Profillinie festgelegt, über die 15 Messpunkte gleichmäßig verteilt lagen. Zur Kraftmessung selber muss in den Kontakt-Modus umgeschaltet werden. Dabei kann es zu leichten Verschiebungen des Bildausschnitts kommen, so dass das tatsächlich gemessene Profil an einer geringfügig verschobenen Stelle liegt. Kraftmessungen am Fossil wurden in Form von 15 Messpunkten aufgenommen, die in regelmäßigen Abständen von 400 nm auf einem Profil über die Zellwand von Zelle 2 lagen. Die Lage des Kraft-Profiles auf dem Dünnschliff entspricht der Position des topographischen Profiles in Abb. 8-10. Die einzelnen Messpunkte sind in Abb. 8-15 links eingetragen, so wie sie im Kraft-Scan-Modus der Scannersoftware eingegeben wurden. Die tatsächliche Lage der Messpunkte kann leicht verschoben sein. Nach dem Topographiebild zu urteilen liegen die Punkte 1-5 außerhalb der Zelle, 6-11 auf der Zellwand und 12-15 im Zellinneren. Im Graf Abb. 8-15 rechts sind die Adhäsionskräfte über das Querprofil dargestellt. Für jeden Messpunkt sind die anziehenden Kräfte, die bei der Annäherung der Nadelspitze wirken (Snap in) und die anziehenden Kräfte, die beim Zurückziehen der Nadel wirksam sind (Snap out) angetragen. Im Zellaußenraum sind keine Wechselwirkungen messbar, wohingegen im äußeren Bereich der Zellwand Kräfte bis zu etwa 90 pN auftreten. Zwischen Snap in und Snap out ist dabei eine Differenz von ca. 50 pN zu verzeichnen. Eine schlüssige Erklärung ist, dass vor dem ersten Kontakt der Nadel zwischen den Objekten lediglich Van-der-Waals-Kräfte wirken, sich die Nadelspitze dann etwas in die Probe einsenkt oder in Berührung mit einem Wasserfilm auf der Oberfläche kommt. Dabei vergrößert sich die Kontaktfläche, so dass die Anziehungskräfte verstärkt werden. Beim Rückziehen der Nadel muss damit eine größere Anziehung überwunden werden als sie beim Annähern vorhanden war. Vermutlich treten unter den gewählten Bedingungen an Luft beide Effekte auf.



Abb. 8-15 Kräfte-Profil über einen Wandabschnitt von Zelle 2. Im AFM-Bild (links) ist die Spur des Profiles und die Position der Messpunkte 1-15 eingetragen. Das AFM-Bild entspricht etwa dem Bildausschnitt in Abb. 8-11-2 und repräsentiert eine Stelle der Zellwand, in der radiale Strukturen ausgeprägt sind. Im Diagramm (rechts) sind die Kräfte beim *Snap in* (Annäherungskurve) und *Snap out* (Rückzugskurve) für die einzelnen Punkte eingetragen.

Interessant ist, dass es mit den Messpunkten 9-12 einen Bereich auf der Zellwand gibt, der auch eine Wechselwirkung zeigt, die jedoch unter 10 pN liegt. Dies könnte durch eine geringere Kohlenstoffkonzentration in der Zellwand oder durch eine andere Oberflächenstruktur verursacht werden. Eine unterschiedliche Neigung der Oberfläche zwischen Messpunkt 6-8 und Punkt 9-13 ist in dem Topographiebild zu erkennen. Die veränderte Schräglage ab dem Punkt 9 kann die Kontaktoberfläche der Nadelspitze derart verringern, dass die Wechselwirkung abgeschwächt wird.

Verglichen mit den Anziehungskräften auf Graphit und Quarz erscheinen die gemessenen Kräfte auf der Zellwand plausibel. Auf der Chertmatrix, die aus mehr oder weniger reinem Quarz besteht, ebenso wenig Adhäsion gemessen werden kann, wie auf einer Quarz (001)-Fläche. Mit 90 pN liegen die Adhäsionskräfte auf der Zellwand etwa halb so hoch wie auf reinem Graphit. Dieser Wert erscheint gemessen an der geringen Kohlenstoffkonzentration, wie sie für Zelle 4 bestimmt wurde (Kap. 7.1.4) relativ hoch, liegt jedoch innerhalb der logischen Grenzen.

# **9** Vergleichende Experimente an Cyanobakterien

In diesem Kapitel sind die Versuche beschrieben, die während der vorliegenden Doktorarbeit an präkambrischen Cyanobakterien (*Myxococcoides minor* Schopf 1968) durchgeführt wurden. Bei den Versuchen ging es vor allem um einen Vergleich der freipräparierten Strukturen in Bakterien- und Algenzellen mit dem Rasterkraftmikroskop – daher wurde hier zunächst auf die Anwendung von Elektronenmikroskopie verzichtet.

## 9.1 Licht- und Kraftmikroskopie

Licht- und Kraftmikroskopische Untersuchungen wurden an Cyanobakterien analog zu den Versuchen an Acritarchen vorgenommen wie Kap. 8.2.2 beschrieben.

## 9.2 Ergebnisse

# 9.2.1 Ätzverhalten

Der Lösungsprozess findet in den fossilen Kolonien auf weniger vorhersagbare Weise statt, als an den größeren Acritarchenzellen, nachdem die Zellen in den Kolonien meist dicht sitzen und es schwieriger ist das Ätzverhalten differenziert nach Innenund Außenraum der Zellen zu betrachten. Wie bei den Acritarchen bleiben allerdings an den Positionen der Zellwände erhabene Strukturen stehen, wohingegen das umgebende Quarzmaterial abgetragen wird. Abb. 9-1-2 zeigt deutlich, dass die Konturen der fossilen Zellwände nach dem Ätzvorgang detailliert nachgezeichnet erscheinen. Im Profil in Abb. 9-1-3 ist ein Lösungsverhalten dokumentiert, das an den Ätzvorgang bei Acritarchenzellen erinnert. Die zwei dort gezeigten Zellwandabschnitte überragen die Umgebung mit 140 und 280 nm und in der Mitte hat sich eine Vertiefung von 200 nm gebildet. Ein fast ebenso tiefer Graben liegt zwischen der linken Wand (blaues Dreieck) und der nächsten Zelle.

Geringste Reliefunterschiede reichen aus um die Zellstrukturen der Bakterien freizulegen; oftmals sieht die Gesteinsoberfläche im Übersichtsbild noch völlig glatt aus und zeigt dennoch schon die Umrisse der darunter liegenden Zellen. Abb. 9-2-4 zeigt die perlschnurartig wirkenden Erhebungen der Wände von fünf Zellen. Dass die Wände tatsächlich aus dem umgebenden Gestein herauspräpariert sind, ist im zugehörigen Profil zu sehen, in dem die Zellwände nach links 160 nm über der Umgebung liegen, nach rechts die Gesteinsoberfläche aber nur 40 nm überragen.

In Kolonie 3 (linke Zelle) scheint ein ähnlicher Fall vorzuliegen wie bei Acritarchenzelle 3, wo ein harter "Steinkern" die Ausbildung eines Loches im Zellinneren verhindert. In Abb. 9-3-2 ist nur die rechte der beiden Zellen im Umriss zu erkennen. Diese wurde aus der Matrix herausgelöst wie in den beiden vorhergehenden Fällen. Bei genauem Hinsehen fällt allerdings zusätzlich ein ebener runder Fleck auf, der sich auf der Position der linken Zelle befindet. Links und rechts unten am Rand des Fleckes haben sich tiefe Zwickel entwickelt, die den äußeren Rand dieser Zelle markieren.

In Kolonie 4 erscheinen die Wände der Fossilien nur als ganz schwache Erhebungen. Deutlicher sind die runden Furchen an den entsprechenden Positionen zu erkennen, in denen die Zellwände liegen. Dies liegt möglicherweise daran, dass die Zellen dieser Kolonie extrem dünne Zellwände besitzen. Im Auflichtbild (Abb. 9-4-3) sind die Umrisse der neun oberflächlich liegenden Zellen mit weißen Kreisen markiert. Davon sind im Übersichtsbild (Abb. 9-4-2) fünf Zellen zu erkennen; vier davon sind mit vier horizontalen Pfeilen gekennzeichnet. Ein Profil durch die fünfte Zelle in Abb. 9-4-4 zeigt eine sehr flach ausgeprägte Zellwand, die 100 nm hoch in einem 200 nm tiefen Loch sitzt.

## 9.2.2 Strukturen in Zellwänden

Die gefundenen Zellwände von Cyanobakterien haben mit typischen Wandstärken von 500 nm nur etwa 20-30% der Mächtigkeit von Acritarchenwänden. Die Zellwände sind daher als solche schwieriger abzubilden. Dies gelang in vier von 11 Versuchen (sieben von 11 bei Acritarchen). Oft erscheinen die Zellwände als perlschnurartige Gebilde, die zunächst keine regelmäßige Feinstruktur haben. In einer der erfolgreich untersuchten Kolonien gelang allerdings die Abbildung von plättchenartigen Strukturen, die auf einer Strecke von 3 µm erhalten sind. Die Wandstrukturen in Kolonie 1 bestehen aus schrägliegenden Plättchen von 190 bis 470 nm Dicke und 500 nm Breite, die etwa 150 bis 280 nm aus der Gesteinsoberfläche herausragen und dachziegelartig aufgereiht sind. Die mittlere Dicke der Plättchen liegt bei 334,9 nm (+/-82,1 nm).

Damit sind sie den Schichtstrukturen ähnlich, die in den Acritarchenzellen 1,2 und 3 gefunden wurden.

106

Diese haben etwa gleiche Dicke, wenn auch größere Breite und Höhe. Gleiche Schichtdicke kann bedeuten, dass die Strukturen eine ähnliche Genese haben (Diskussion, Kap. 10).

#### 9.2.2.1 Zellwandstrukturen in Kolonie 1

In Kolonie 1 liegen 14 Cyanobakterienzellen oberflächlich angeschnitten vor. Alle Zellen sind in dem AFM-Übersichtsbild zumindest teilweise erfasst, wobei besonders die mittleren vier Zellen deutlich hervortreten. In Abb. 9-1-1 und 2 sind die lichtmikroskopische Aufnahme und die AFM-Aufnahme gegenübergestellt. 3 zeigt ein Topographiebild mit einem Profilschnitt, dessen Lage durch die Pfeile in 2 angedeutet ist. Das Profil schneidet die ganze Zelle komplett durch; deren äußere Grenzen sind mit 2 Dreiecken markiert. Besonders deutlich ragt mit 280 nm die linke Zellwand (blaues Dreieck) als geschlossene Struktur von 500 nm Dicke und 3 µm Länge aus der Ober-fläche heraus.

Um die Struktur dieses Wandstückes gut erfassen zu können, ist es in den Detailbildern 3 - 7 in verschiedenen Perspektiven dargestellt; deren Orientierung auf der Oberfläche ist in 1 markiert. Bildausschnitt 4 zeigt die Zellwand von der Zell-Außenseite. Diese Ansicht von schräg oben gibt einen deutlichen Eindruck von der Furche vor der Zellwand und der Vertiefung im Zellinneren wieder. Außerdem ist die Dachziegelstruktur zu erkennen, bei der die Plättchen vom Betrachter weg einfallen. Das Streichen der Plättchenoberflächen ist mit Pfeilen eingezeichnet. In Bildausschnitt 5 wird die gleiche Struktur von der gegenüberliegenden Seite von schräg oben betrachtet. Aus dieser Perspektive sind die hintereinanderliegenden Plättchen mit Einfallen zum Betrachter hin besonders gut zu erkennen. Die Breite der Zellwand ist in dieser Ansicht messbar und beträgt zwischen 300 und 600 nm. Wird der Betrachtungswinkel um 100° gedreht, wie in 6, so sind die Plättchen nicht zu sehen und die Wand wirkt kompakt und unstrukturiert. Diese Ansicht verdeutlicht, dass verschiedene Betrachtungsweisen der Strukturen nötig sind. Ausschnitt 7 liefert eine horizontale Ansicht, in der die Plättchendicke vermessen werden kann, nachdem die Blickrichtung parallel zum Streichen der Plättchenoberflächen liegt. Die einzelnen Plättchen sind zwischen 150 und 280 nm mächtig und fallen steil mit ca. 65° nach rechts ein. In dieser Ansicht wird auch deutlich, dass es sich bei den Strukturen nicht um Abbildungsartefakte handelt.

107



Abb. 9-1 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 1. 1: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild mit Position und Darstellungsperspektive der höherauflösenden AFM-Aufnahmen (4-7). 2: AFM-Gesamtaufnahme der Kolonie; die Pfeile markieren die Lage des Höhenprofiles. 3: AFM-Übersichtsbild über die untersuchte Einzelzelle mit Lage des Höhenprofiles; Maßstab im Bild: 1 µm; die Gitterlinien im Profil sind in X-Richtung jeweils 2 µm- und in Y-Richtung je 40 nm voneinander entfernt. 4: Detailausschnitt von der Zellwand mit geschichteter Struktur in dreidimensionaler Darstellung von außen; Maßstab: 1 µm. 5: Detailausschnitt derselben Stelle von innen; Maßstab: 1 µm. 6: Detailausschnitt derselben Stelle aus einer anderen Perspektive von innen; Maßstab: 1 µm. 7: Detailausschnitt derselben Stelle von außen in horizontaler Darstellung mit Blickrichtung parallel zum Streichen der Schichtstrukturen; Maßstab: 1 µm.

#### 9.2.2.2 Zellwandstrukturen in Kolonie 2

Ähnlich wie in Kolonie 1 werden die Zellwandumrisse von perlschnurartigen Erhebungen nachgezeichnet. Abb. 9-2-1 und 2 zeigen identische Bildausschnitte im Lichtmikroskop und AFM. Das tiefe Relief vermindert den Bildkontrast in 2, so dass die Zellwände hier kaum zu sehen sind. Das Einpassen der AFM-Zooms im Lichtbild erfolgt daher vor allem über die tiefen herausgeätzten Löcher, wie in 3 gezeigt. In 4 ist die Position des Höhenprofils über zwei angrenzende Zellwände eingezeichnet. Es beginnt innen an der Wand der linken unteren Zelle (blaues Dreieck) und endet mitten im Inneren der Zelle rechts oben (rotes Dreieck). Die geschnittenen Strukturen sind 4 parallele Erhebungen von ähnlichen Dimensionen wie in Kolonie 1, deren Lage in dem Detailbild in 1 eingezeichnet ist. Drei der Wände sind deutlich zu erkennen und messen etwa 500 nm in der Breite und 50 bis 150 nm in der Höhe; Die letzte Wand (zweite von rechts) ist etwas kleiner und liegt tiefer und ist deshalb im Topographiebild schlecht zu sehen. Warum es sich offensichtlich um 4 Wände handelt, obwohl nur 2 Zellen beteiligt sind, bleibt unklar. Eventuell handelt es sich um eine Doppelwand, die im Lichtbild nicht erkennbar ist. Eine ähnliche Doppelwand taucht im Bild außerdem an 2 anderen Stellen auf (Pfeile in 4). Eine regelmäßige Internstruktur der Zellwände ist nicht zu erkennen (Detailbilder 5 und 6).



Abb. 9-2 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 2. 1: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild mit Position des Höhenprofiles (in [4]). 2: AFM-Gesamtaufnahme der Kolonie. 3: Lichtmikroskopische Aufnahme der ganzen Kolonie nach der Ätzung in reflektiertem Licht, mit Position der Detailbilder (4-6). 4: Detailausschnitt von der Kolonie und Höhenprofil; die Gitterlinien im Profil sind in X-Richtung jeweils 1 µm- und in Y-Richtung je 20 nm voneinander entfernt. 5: Detailausschnitt der Zellwand in dreidimensionaler Darstellung; Maßstab wie in [6]. 6: Detailausschnitt der Zellwand; Maßstab: 1 µm.

#### 9.2.2.3 Zellwandstrukturen in Kolonie 3

Die Kolonie besteht aus 2 sehr dickwandigen Zellen, wie im Lichtbild in Abb. 9-3-1 zu sehen ist. Obwohl beide Zellen oberflächlich angeschnitten sind, ist im AFM-Bild nur eine Zelle mit sehr dicken Wänden erfasst. Deren Umriss ist abgeflacht oval und entspricht nicht ganz dem Lichtbild, weil dieses auf die Äquatorebene fokussiert ist. Von der zweiten Zellen erscheinen nur die äußeren rundlichen Umrisse im AFM-Bild, dort wo sich zwei tiefe Löcher unterhalb der Zelle gebildet haben.

Die Zellwand der rechten Zelle ist in der dreidimensionalen Darstellung im Zentrum von 3 gut zu erkennen, ist aber nach links und rechts nicht fortgesetzt. Die Wand hat keine offensichtliche regelmäßige Struktur. Ein Profilschnitt ist im original Topographiebild 4 eingezeichnet und zeigt mit 1400 nm Breite und 500 nm Höhe an der mächtigsten Stelle die dickste Zellwand aller untersuchten Cyanobakterien. An der dünnsten Stelle ist diese Zellwand 600 nm breit und 280 nm hoch.

#### 9.2.2.4 Zellwandstrukturen in Kolonie 4

Die Umrisse der Zellen in Kolonie 4 sind im AFM-Übersichtsbild kaum zu erkennen, nachdem die Zellwände der Individuen hier nur 300 nm dick sind. Abb. 9-4-1 und 2 zeigen wieder den identischen Bildausschnitt und sind vor allem über die dreieckigen Löcher und Kratzer korreliert, die auch im reflektierten Licht (3) gut zu sehen sind. Diese sind hier mit weißem Stift hervorgehoben. Erst bei genauem Hinsehen in hoher Vergrößerung zeichnen sich im Topographiebild die Umrisse von fünf runden Zellwänden ab, die in 2 mit Pfeilen markiert sind. Von der zentral liegenden Zelle konnten höherauflösende Aufnahmen gemacht werden, wie in 1 eingezeichnet. In dem Detailbild 4 ist zu erkennen, dass an Stelle der Zellwand sich nur eine 200 nm tiefe und 600 nm breite Furche befindet, in der nur an wenigen Stellen eine Zellwand auszumachen ist. Ein entsprechendes Profil ist in 4 eingezeichnet und zeigt die 100 nm hohe Zellwand. Diese erstreckt sich über etwa 1 µm Länge, wie durch die zwei Pfeile angedeutet. Eine Feinstruktur ist nicht zu erkennen.



Abb. 9-3 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 3. 1: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild. 2: AFM-Gesamtaufnahme der Kolonie mit Lage des Höhenprofiles (4). 3: Detailausschnitt einer Zelle der Kolonie in dreidimensionaler Darstellung mit 12,2 µm Breite und 11,9 µm Höhe. 4: Detailausschnitt der Zelle und Höhenprofil; Maßstab im Bild: 1 µm; die Gitterlinien im Profil sind in X-Richtung jeweils 1 µm- und in Y-Richtung je 100 nm voneinander entfernt.



Abb. 9-4 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 4. []: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild mit Lage der Detailaufnahme []. []: AFM-Gesamtaufnahme der Kolonie mit Lage des Höhenprofiles []; die Pfeile sind analog zu den Pfeilen in [] und markieren die Position von vier benachbarten Einzelzellen. []: Lichtmikroskopisches Übersichtsbild nach der Ätzung in reflektiertem Licht; herausgeätzte Strukturen sind mit weißem Strich nachgezeichnet. []: Detailausschnitt einer Zelle und Höhenprofil; die Gitterlinien im Profil sind in X-Richtung jeweils 0,2 μm- und in Y-Richtung je 50 nm voneinander entfernt.

## **10** Zusammenfassung und Diskussion

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Präparationsmethode, die für die vorliegende Arbeit entwickelt wurde geeignet ist, feinste Wandstrukturen von silifizierten Mikrofossilien für das Rasterkraftmikroskop freizulegen. Die Methode wurde an den zwei Fossilgruppen "Acritarchen" und "coccoide Cyanobakterien" angewandt. Die Präparation ermöglichte soweit bekannt zum ersten mal die Untersuchung von präkambrischen Mikrofossilien mit Rasterkraftmikroskopie. Die Präparation an den grazileren Cyanobakterien lieferte bei Ätzzeiten von sechs Minuten in flüssiger 5%iger Flusssäure gute Ergebnisse; für die gröberen Acritarchen wurden ab 30 Minuten Ätzung Fossilwandstrukturen freigelegt, die am AFM untersucht werden konnten. Ein entscheidender Schritt bei der Präparation besteht darin, die Fossilien vor dem Anätzen anzuschleifen bis sie direkt an der Oberfläche des Dünnschliffs liegen, womit sich die weitere Präparation auf ein Oberflächenproblem reduziert.

Die Ätzung erzeugt Porenräume, die vor allem in direkter Nachbarschaft der Zellwand innen und außen die Quarzmatrix ersetzen und brüchig machen. Von dort bricht loses Material heraus. Für Acritarchenzellen ist typisch, dass sich außerdem ein tiefes Loch im Zentrum der Zelle herausbildet und zwar dort wo sich vorher organische Einschlüsse in der Zelle befanden. Bei Cyanobakterien, die um fast eine Größenordung kleiner sind als Acritarchen, ist die freipräparierte Topographie nicht so vorhersagbar; generell löst sich das Material aber ebenfalls rings um die Wand. Die Geschwindigkeit mit der dies geschieht kann mittels AFM durch Berechnung des Rauigkeitsparameters SDR bestimmt werden. Für frisch polierte Acritarchenzellen wurde ein linearer Auflösungsprozess mit einer Ätzgeschwindigkeit von 0,71 % Oberflächenwachstum pro Minute bestimmt. Bei der Lösung verhalten sich die verkieselten Fossilien ähnlich zu den Substanzen, aus denen der Fossil-Chert-Verbund in guter Näherung aufgebaut ist - Quarz, Graphit und Quarz-Kerogen-Verbundstoff (Chert), wobei gilt, dass sich Graphit mit ca. 9 % in 26 h am schwersten, reiner Quarz am zweit schwersten (ca. 11,5% bei Quarz-Einkristallen und ca. 15% bei polykristallinem Quarzit) und Chert mit 0,05% Kohlenstoffgehalt am leichtesten (ca. 76%) in 26 h) auflösen.

Die herausgeätzte Topographie der Fossilpräparate wird allem Anschein nach von der Struktur der Quarzmatrix und deren Kohlenstoffkonzentration beeinflusst, wobei nicht geklärt ist, worin die Stabilität der Zellwände letztlich begründet ist. Die Quarzmatrix kann generell in und um die Zellen verschiedene Gefüge haben. Eine grobkristalline Zellfüllung mit feinkristallinem Zelläußeren (Acritarchenzelle 3) kommen ebenso vor wie feinkristalliner Chert mit Kristallitgrößen um 50-75 nm, der zur Zellwand hin in amorphen Quarz übergeht (Acritarchenzelle 4). Typischerweise löst sich das Material dort am schnellsten auf, wo ein feinkristalliner Chert vorliegt. Das Vorkommen von amorphem Quarz fällt in den dickwandigen untersuchten Acritarchen (hierfür steht Acritarchenzelle 4) mit einer geringen Kohlenstoffkonzentration größer als Null zusammen. Die Kohlenstoffkonzentration in der Matrix liegt in den untersuchten Zellen zwischen 0% und 1% und kann innen und außen von der Zellwand einen symmetrischen Gradienten bilden, der sich über 5-10 µm erstreckt. Die maximale Kohlenstoffkonzentration von 1,2% liegt dabei in der Zellwand selbst. Diese bleibt als Erhebung an der Oberfläche stehen. Bei Acritarchenzellen führt die Flusssäurepräparation zur Freilegung von Zellwänden mit Dicken zwischen ca. 1 und 3 µm, bei Cyanobakterien prägen sich Wände von 300-1000 nm Dicke aus.

Die wichtige Frage, welche der Strukturen innerhalb dieser Zellwände biogener Natur sein können und welche durch Kristallisationsprozesse bei der Silifizierung und der Diagenese entstanden sind, ist mit den vier erfolgreich untersuchten Zellen nicht erschöpfend zu beantworten. Die hier gefundenen Strukturen können aber erste Anhaltspunkte für diagenetische Entstehungsmodelle der Fossilien geben. Die weiter unten vorgestellten Modelle beinhalten ein Konzept, nach dem die heute vorhandenen Zellwände der Fossilien durch Kristallisationsprozesse von Quarz und kohligem Material entstanden sind; die Kristallisation wurde nach den Modellen allerdings von der ursprünglichen Biostruktur der Zellwände beeinflusst, so dass sich die Biostruktur in den resultierenden Fossil-Strukturen widerspiegelt und evtl. in zukünftigen Arbeiten offengelegt werden kann. Entscheidend für die Interpretation der gefundenen Fossil-Strukturen sind die Fragen, welche Teile der Fossilien aus Quarz bestehen und welche Teile aus Kerogen, also ursprünglichem Zellmaterial; außerdem ist die genaue Zusammensetzung des Kerogens, sowie die Kristallisationsstrukturen in Quarz und Kerogen von Bedeutung.

Für die Beantwortung dieser Fragen stehen EDX-Daten von Acritarchenzelle 4, STEM/WDX-Daten von Acritarchenzelle 3 sowie AFM-Daten von Acritarchenzellen 1,2 und 3 und AFM-Daten von Bakterienkolonie 1 und Raman-Spektren von Acritarchenzellen 3-8 zur Verfügung.

Die Raman-Spektren aller Zellen zeigen ausgeprägte G-Peaks und D-Peaks mit mehreren Sub-Peaks, was dafür spricht, dass alle Zellen aus polyzyklischen planaren Kohlenwasserstoffen bestehen, die untereinander vernetzt sind.

Die Kohlenstoff-Verteilungsmuster in Acritarchenzellen sind unterschiedlich, so dass eine detaillierte Betrachtung dieser Zellen nötig ist. Es lassen sich zwei Zelltypen definieren, wie in Abb. 10-1 dargestellt.



Abb. 10-1 Schematische Darstellung der verschiedenen Verteilung von Kohlenstoff in Acritarchenzellen.

Zelltyp 1: "Zelle mit fein verteiltem Kohlenstoff in Zellwand aus Quarzplättchen". Dieser Zelltyp hat eine Zellwand, die im optischen Mikroskop ca. 2 µm dick und massiv erscheint. Der Kohlenstoffanteil der Zellwand beträgt nur etwa 1% und ist soweit bekannt homogen in der Zellwand verteilt. Das Innere und Äußere der Zelle besteht aus feinkristallinem *Chert* mit Kristallitgrößen zwischen 50 und 75 nm. Die Zellwand ist in radial angeordneten Kristallisationsstrukturen organisiert. Zu diesem Typ gehören die Acritarchenzellen 1,2 und 4.

Zelltyp 2: "Zelle mit Zellwand aus Quarzplättchen und separater Kohlenstoffmembran". Dieser Zelltyp hat eine optisch dünnere aber sehr gut erhaltene Zellwand. Der Kohlenstoffanteil ist in dieser Zellwand auf eine ca. 30 nm dünne Membran konzentriert, die außen an der freigeätzten Fossilwand sitzt. Diese Membran trennt deutlich das Zellinnere vom feinkristallinen äußeren *Chert*. Der Hauptteil der Zellwand besteht aus radialstrahligen Quarzstrukturen, die wenig oder gar keinen Kohlenstoff beinhalten. Zu diesem Zelltyp gehört die Acritarchenzelle 3. Wichtig ist an dieser Stelle zu bemerken, dass die freigeätzte Zellwand von Acritarchenzelle 3 ca. 700 nm dick ist, obwohl der messbare Kohlenstoffanteil darin sich nur auf die äußeren 30 nm konzentriert. Das größte Volumen der stabilen Zellwand besteht demnach aus Quarz, so dass der Grund für die Stabilität der Wand wahrscheinlich eher in deren komplexen inneren Aufbau zu suchen ist, als in deren Kohlenstoffgehalt.

Eine weitere Betrachtung der Feinstrukturen in der Kohlenstoffmembran und der benachbarten Zellwand von Zelle 3 führt erstens zu einem Vergleich aller Fossilien untereinander und zweitens zu dem weiter unten beschriebenen Entstehungsmodell für die Fossilien, bei dem der steuernde Parameter die Durchlässigkeit der ursprünglichen Biomembran ist.

Allen hier betrachteten Zellen (Acritarchen und Cyanobakterien) ist gemeinsam, dass sie in der Zellwand plättchenartige Strukturen aufweisen, die eine ganz regelmäßige radiale Anordnung haben. Die Plättchen liegen dachziegelartig aufeinander haben eine Ausdehnung, die jeweils so groß ist, wie die Dicke der Zellwand in der sie sitzen. Die Breite der Plättchen variiert also etwas innerhalb einzelner Zellwände und ist auch von Fossil zu Fossil unterschiedlich. Dem entgegengesetzt steht die Dicke der einzelnen Plättchen, die bei statistischer Betrachtung bemerkenswert konstant ist. In den Zellen finden sich Plättchen von zwei verschiedenen Größenordnungen. Zum einen wurden in allen vier Zellen Plättchen mit einer Dicke von etwa 300 nm gefunden, wobei die Bandbreite der Dicken zwischen etwa 150 und 450 nm liegt und in allen Zellen gleich ist. Zum anderen konnten in Acritarchenzelle 2 und 3 Plättchen zwischen 10 und 30 nm Dicke vermessen werden, die den Schlüssel für das hier vorgestellte Entstehungsmodell liefern, weil sie mit regelmäßigen radialen Strukturen in der Kohlenstoffmembran aus Zelle 3 korrelieren: Die radialstrahligen Strukturen in dieser Kohlenstoffmembran, sind Stege mit Abständen von ~10 nm.

Direkt benachbart dazu befinden sich im Quarzanteil der Zellwand radialstrahlige Lamellen mit gleicher Ausrichtung und einem Schichtabstand von ~11 nm. Beide Strukturen bilden zusammen die Zellwand von Zelle 3. Die Parallelität in Orientierung und Größe der beiden Strukturen, lässt die Vermutung zu, dass es einen genetischen Zusammenhang zwischen beiden gibt. Wie die kleinen Plättchen-Strukturen aus Zelle 2 und 3 mit den großen Plättchen-Strukturen in Acritarchenzellen 1,2,3 und in Cyanobakterien-Kolonie 1 zusammenhängen ist nicht bekannt. Möglicherweise sind die großen Plättchen aus vielen kleinen Plättchen aufgebaut.

Eine Übersicht über alle Plättchenstrukturen und deren Dicken liefert Tab. 10-1 und Abb. 10-2; In der Abbildung sind die mikroskopischen Aufnahmen der Plättchenstrukturen und deren Zugehörigkeit zu den einzelnen Zellen gezeigt. Diejenigen Bilder, die ~20 nm-Plättchen beinhalten sind blau hinterlegt, Bilder mit ~300 nm-Plättchen sind grau hinterlegt. Zusätzlich ist die jeweilige Messmethode angegeben. Eine genauere Aufschlüsselung der Konsistenz der einzelnen Plättchen ist in Abb. 10-3 gegeben.



Abb. 10-2 Übersicht über Zellwandstrukturen in Acritarchenzellen 1,2 und 3, sowie Cyanobakterien-Kolonie 1. Daten von Strukturelementen, die dünner sind als 100 nm sind in blau eingetragen, alle anderen in schwarz. Zu allen Messwerten sind die zugehörigen Bilder dargestellt; Strukturen mit ähnlicher Dicke sind mit gleichen Farben hinterlegt.

Probe/Struktur	Kristallitdicke	Standardabweichung	Standardabweichung
	Mittel [nm]	[nm]	[%]
Kolonie 1/AFM	334.9	82.1	24.5
Zelle1/AFM	258.7	55.5	21.5
Zelle2/AFM1	31.0	11.1	35.8
Zelle2/AFM2	821.2	188.6	23.0
Zelle2/AFM3	2130.5	440.3	20.7
Zelle2/AFM4	255.4	52.6	20.6
Zelle3/STEM Quarz	11.7	2.2	18.8
Zelle3/STEM Camorph	10.0	1.3	13.4
Zelle3/AFM	306.8	58.5	19.1

Tab. 10-1 Mittlere Dicke und Standardabweichung von Strukturelementen in Zellwänden.



Abb. 10-3 Übersicht über die Dicke von Zellwandstrukturen in Acritarchenzellen 1,2 und 3, sowie Cyanobakterien-Kolonie 1, aufgeschlüsselt nach Messmethode und Fossil.

Die Ergebnisse, die in dieser Arbeit vorgestellt werden, verbinden elektronenmikroskopische Daten mit AFM-Daten. AFM-Daten bieten den Vorteil, dass sich Strukturen gut visualisieren und in drei Raumrichtungen ausmessen lassen - die Elektronenmikroskopie hat den Vorteil, dass eine Bestimmung der elementaren Zusammensetzung direkt möglich ist. Die Informationen aus beiden Techniken zu kombinieren ist u.U. nur über Umwege möglich, wie den hier gezeigten Größenvergleich. Um der Kernfrage an den Mikrofossilien näher zu kommen (welche Strukturen sind organisch?), wurde der Versuch unternommen, das Material der Zellwände direkt mit dem AFM zu charakterisieren um in Zukunft organische Anteile mit dem AFM abbilden zu können. Das AFM bietet zur Material-Charakterisierung der Zellwände, die Möglichkeit von Kraftmessungen. Durch die Bestimmung von Adhäsionskräften über den Zellwänden und der Gesteinsmatrix mit Hilfe von Kraftspektroskopie konnte erfolgreich eine Zellwand detektiert werden, weil sich die Adhäsionskräfte von organischem Material und von Quarz unterscheiden. Aus Vergleichsmessungen ist bekannt, dass die Adhäsion auf Graphit 65 pN (Snap in) und 190 pN (Snap out) beträgt, wogegen auf reinem Quarz sowie auch auf der Chertmatrix im Gestein Adhäsionskräfte unmessbar klein sind. Die Adhäsionskräfte liegen auf der Zellwand von Acritarchenzelle 2 bei 40 pN während der Annäherung der AFM-Nadel (Snap in) und bei 90 pN beim Zurückziehen (Snap out). Im Vergleich mit reinem Graphit und Quarz erscheinen diese Kräfte plausibel. Durch die Messung der Adhäsion kann also die Zellwand von dem Umgebenden Material unterschieden werden. Nach erfolgtem Kontakt zwischen der AFM-Nadel und der Probe steigt die Adhäsionskraft um 50 pN, was sich aus der Differenz zwischen Annäherungskurve und Rückzugskurve ergibt. Dies ist ein typischer Effekt, der sich durch die Zunahme der Kontaktfläche der zwei Objekte "AFM-Nadel" und "Probe" erklärt. Er weist auf das Vorhandensein eines Wasserfilms und/oder auf die plastische Verformbarkeit der Zellwand hin, in die sich die Nadelspitze ein Stück einsenkt [Capella & Dietler, 1999]. Nachdem weder auf reinem Quarz noch auf Chert eine Differenz zwischen Annäherungskurve und Rückzugskurve Messbar ist, ist denkbar, dass die plastische Verformung der Zellwand für silifizierte Mikrofossilien die größere Rolle spielt.

Ein Kraft-Querschnitt über die freigeätzte Wand von Acritarchenzelle 2 zeigt erhöhte Adhäsionskräfte über eine Breite von 2,3 µm, direkt über der Zellwand. Dies ist ein Hinweis darauf, dass es sich bei der Zellwand von Zelle 2 um eine Wand handelt, die organische Kristallite auf der gesamten Breite eingelagert hat. Wie aus Topographiemessungen bekannt ist, haben die kleinsten gefundenen Kristallite Größen um 200 nm und Dicken zwischen 10 nm und 84 nm.

# **10.1** Fossilisationsmodell für Zellen mit homogen verteiltem Kohlenstoff

Das Fossilisationsmodell für Zellen mit homogen verteiltem Kohlenstoff ist ein allgemeineres Modell, das Erklärungsansätze für die Wandstrukturen von Acritarch 1, 2 und von Bakterienkolonie 1 liefert. Bei der Beschreibung von Zellen werden vergleiche zu lebenden Einzellern gezogen, um eine Gesprächsbasis bereitzustellen. Es geht dabei nicht um eine eindeutige Zuordnung spezifischer Strukturen in lebenden Organismen, sondern darum eine Arbeitshypothese aufzustellen, die als Diskussionsgrundlage für die Klärung der Prozesse dienen kann, die bei der Silifizierung von Mikroorganismen eine Rolle spielen.

Das Modell basiert auf der Annahme, dass die Zellen mehr oder weniger frei von silikatischen Lösungen durchströmt werden konnten und dann sehr schnell in kristalliner Matrix eingebettet wurden. Die Zellen bestanden vor der Silifizierung aus einer porigen Zellwand (Biomembran?) und einem nicht näher bekannten Inhalt von Kohlenwasserstoffen und Wasser. Sie waren möglicher Weise in einer galertigen Schicht aus Glycoproteinen eingebettet und lagen (falls vorhanden) zwischen den Sedimentpartikeln der mikrobiellen Matte vor, wobei weder deren Verhältnis zu anderen Organismen noch deren Lebenszustand bekannt sind. Die porige, schwammartige Struktur der Matte bot wahrscheinlich ein von Meerwasser gut durchströmtes Milieu [Decho, 2000; Stolz, 2000], so dass kolloidale silikatische Lösungen, wie sie als Ausgangsstoff für Cherts angenommen werden können [Hesse, 1988] das Innere und Äußere gut durchdringen konnten. Bei 25 °C liegt der ph-Wert von kolloiden SiO<sub>2</sub>-Lösungen über 10 [Hesse, 1988], so dass davon ausgegangen werden kann, dass die Lösung gegenüber organischem Material relativ aggressiv war. Die Temperatur der Lösung kann sich in Größenordnungen von ca. 50 °C und darüber bewegt haben, falls hydrothermale Fluidströme als Quellen des SiO<sub>2</sub> angenommen werden [Hesse, 1989]. In einem entsprechenden Milieu löst sich organisches Material im Zellinneren auf und diffundiert in Richtung Membran.

121

In dem geschilderten Szenario bildet die Zellmembran eine halbdurchlässige Wand, die abgesehen von Poren einen Stauer für den Fluidfluss darstellt, so dass sich der Fluss vor und hinter der Membran verlangsamt und die Konzentration von Kohlenstoff und SiO<sub>2</sub> dort ansteigt, wo die Membran eine Barriere bildet.



Abb. 10-4 Fossilisationsmodell für silifizierte Mikrofossilien bei hohem Durchfluss. Die Zellmembran bildet eine Stauwand für fluide silikatische Lösungen und einen Kristallisationskeim für darin gelöstes organisches Material. Quarz und Kerogen kristallisieren am Ort der größten Konzentration entsprechend der membrangesteuerten Flussgeschwindigkeit aus. Das Produkt ist eine Zellwand mit radialen Quarzstrukturen, die von Kerogen-Kristallen durchsetzt sind. Die derart aufgebaute Zellwand ist besonders resistent gegenüber der Flusssäurepräparation, wogegen der Quarz-Kohlenstoff-Verbund rings um die Zellwand aus kleinsten Quarzkörnern oder amorphem Quarz leicht angeätzt wird und zwei Furchen in der Nachbarschaft der Zellwand hinterlässt.

Es bildet die Membran einen Kristallisationskeim für Quarz (Opal a) und eine feste Kohlenstoffphase. Die regelmäßige Porenstruktur der Membran und/oder Zellwand steuert dabei die Keimung und das anhaltende Kristallwachstum, so dass sich innen und außen der Membran eine breite Schicht (Fossilwand) mit Strukturen bildet, die in regelmäßigem Abstand parallel zum Fluidfluss ausgerichtet sind (Abb. 10-4). Die Dicke der Strukturen wird dabei von der Durchlässigkeit der Zellwand und den Kristallisationsgeschwindigkeiten der Produkte beeinflusst. Sobald die Schicht eine gewisse Dicke erreicht hat, stagniert der Fluss an den meisten Stellen und die Poren verstopfen, so dass das System im aktuellen Zustand erstarrt. Die hohe Übersättigung in der zu diesem Zeitpunkt mit SiO<sub>2</sub> gefüllten Zelle führt zum raschen Wachstum vieler kleiner Quarzkörner, wobei die Keimrate in der Region rings um die Zellwand besonders hoch ist, so dass der dort vorhandene Kohlenstoffgradient in amorphem Quarz eingefroren wird. Denkbar ist in diesem Modell auch, dass die Flussrate generell vom Gesamtsystem gesteuert wird, so dass das Kristallwachstum zunächst an wenigen Keimpunkten beginnt und sich dann auf das gesamte Volumen in und außerhalb der Zelle ausdehnt, sobald die kinetische Hemmung der Keimbildung zu Ende ist.

# **10.2** Fossilisationsmodell für Zellen mit Kohlenstoffmembran

Im Entstehungsmodell für Zellen mit Kohlenstoffmembran herrschen ähnliche Bedingungen wie oben beschrieben, mit dem Unterschied, dass die Durchlässigkeit der Zellwand / Membran wesentlich geringer ist. Zugrunde liegt evtl. die biologische Struktur der Zellwand oder äußere Faktoren, die die Membran bei der Ausfällung von Chert schneller "verstopfen" lassen. Das Modell stützt sich auf die Beobachtung, dass noch heute eine intakte, dichte Kohlenstoffmembran das Zellinnere umhüllt und die Quarzkristallisation im Zellinneren völlig anders verlief als in der Umgebung der Zelle und darauf, dass noch extrem viel vom Zellinhalt dort eingeschlossen ist, also nicht abtransportiert wurde. Die geringere Durchströmung der Zelle kann am Erhaltungszustand der toten Zelle liegen, an der Porenverteilung der Zellmembran oder an der Tatsache, dass die Zelle eine Doppelmembran besitzt. Fluide silikatische Lösungen dringen über wenige Poren oder Risse in die Zelle ein und füllen diese aus. Sobald der Konzentrationsgradient an SiO<sub>2</sub> zur Außenwelt ausgeglichen ist, stagniert der Stoffaustausch und es beginnt ein langsames Wachstum von Quarzkristallen im Zellinneren. Das Innere der Zelle bildet einen mehr oder weniger abgeschlossenen Kristallisationsraum gegen den sich das Äußere der Zelle differenziert verhält weil hier die Keimbildung von äußeren Faktoren gesteuert wird. Keimbildung erfolgt im Zellinneren an der inneren der beiden Membranen und an mehr oder weniger zerstörten Relikten innerer Zellstrukturen.

An beiden Positionen wachsen die Quarze langsam und bilden große Kristalle (Abb. 10-5). Die stabile Kohlenstoffmembran besitzt im Gegensatz zu den angelösten inneren Zellstruktruen eine regelmäßige Struktur, auf die der Quarz texturiert aufwachsen kann. Obwohl mit den vorhandenen Daten nicht genauer bestimmt werden kann, welche Art von Quarzstruktur die Zellinnenwand auskleidet, so kann doch festgestellt werden, dass in der Fossilwand heute regelmäßige Lamellen aus Quarz mit einer mittleren Dicke von 11 nm vorliegen, die auf der Kohlenstoffmembran mit regelmäßigen Strukturen von etwa 10 nm aufliegen. Die Abweichung beider Strukturgrößen um nur 10% ist frappierend, so dass denkbar ist, dass die Lamellenbildung im Quarz der Fossilwand durch einen Stapelfehler beim texturierten Aufwachsen von Quarz auf die Kohlenstoffmembran induziert wurde.

Eine naheliegende Interpretation ist z.B. die Ausbildung von Zwillingslamellen, die an der Kohlenstoffmembran entstehen und von dort ins Zellinnere hineinwachsen, so lange bis sie auf die großen Quarzkörner stoßen, die das Zellinnere ausfüllen.



Abb. 10-5 Entstehungsmodell für silifizierte Mikrofossilien bei geringem Durchfluss. Die stabile, schlecht durchlässige Zellwand/Zellmembran bildet einen abgeschlossenen Raum, in dem Quarz langsam auskristallisieren kann, während außerhalb der Zelle hohe Keimbildungsraten zur Entstehung von *Chert* führen. Keimbildung findet im Zellinneren an den reichlich vorhandenen organischen Einschlüssen und an der Innenseite der Membran statt. Diese bietet mit ihrer geordneten Struktur eine Oberfläche, auf die der Quarz texturiert aufwachsen kann. Ein geringer Unterschied in der Größe der Einheitszellen führt zur Ausbildung von Zwillingslamellen, die um 10 % größere Dicke haben als die Strukturelemente in der Kohlenstoffmembran. Kohlenstoff ist in der freipräparierten Zellwand auf die dünne organische Membran konzentriert.

Entsprechend der langsamen Stoffzufuhr, die in einem solchen System vorhanden gewesen sein muss, dauerte die Kristallisation im Zellinneren länger und im Zelläußeren kürzer, wo sich - wie im ersten Erklärungsmodell zur Silifizierung von Mikrofossilien - feinkristalliner *Chert* gebildet hat. Wiederum wird am Ende der Kristallisation von Quarz der Auflösungszustand der Zelle eingefroren.

## **10.3** Biomineralisation nicht ausgeschlossen

Da die taxonomische Einheit der Acritarchen eine polyphyletische Gruppe ist, kann kein direkter Vergleich der fossilen Strukturen von Acritarchen mit rezenten biogenen Strukturen von lebenden verwandten Arten durchgeführt werden. Besonders die erstaunliche Dicke der Fossilwände in den hier untersuchten Zellen (bis zu 3 µm) übersteigt die Mächtigkeit der Zellwände in den meisten lebenden Arten. Allerdings gibt es unter modernen marinen Algen Arten, die morphologisch ähnliche Strukturen wie die in dieser Arbeit vorgestellten erzeugen. So z.B. die Diatomee *Melosira varians [Susquehanna-University-Internetseite][ITPM-Internetseite, 2002 #130]*, die Überlebensstadien mit 10 µm dicken Wänden aus Quarzlamellen produziert (Abb. 10-6).



Abb. 10-6 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Diatomee *Melosira varians [Susque-hanna-University-Internetseite]*. Links: Wandstruktur einer aufgebrochenen Cystenzelle. Radial angeordnete Strukturen erstrecken sich über die gesamte Wanddicke und sind zwischen 380 nm und 600 nm dick. Rechts: Eiförmige Cystenzelle auf zylindrischem Algenkörper.

Die hier gezeigte Cyste von *Melosira varians* ist zwar mit rund 200 µm Durchmesser etwa dreimal so groß wie die größte der untersuchten Fossilien, hat aber beim Verhältnis von Wandstärke zu Zelldurchmesser mit 0,05 einen identischen Wert wie die bearbeiteten Acritarchen. Der interne Aufbau der Cystenwand mit radialen Strukturen von 380 nm bis 600 nm Dicke lässt *Melosira varians* als gut geeignetes Vergleichsobjekt erscheinen. Der Fund, dass es Acritarchen gibt, die fast gänzlich aus Quarz bestehen, zeigt, dass mit dem hier vorgestellten Zelltyp 2 – "Zelle mit Zellwand aus Quarzplättchen und separater Kohlenstoffmembran" – Fossilien existieren, deren Wandstrukturen den Strukturen von einzelligen phototrophen Eucaryoten sehr ähnlich sind. Es gelingt damit der Nachweis dass derartige Wandstrukturen in sehr ähnlicher Morphologie auf biogener Aktivität basieren können.

## **10.4** Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden Detailstrukturen in vier von 22 untersuchten Objekten gefunden. Eine detaillierte Vermessung vieler weiterer Zellwände ist nötig um für die hier gezogenen Schlüsse allgemeingültige Aussagen treffen zu können. Die Strukturen vieler Fossilien – und auch vieler Fossilarten sind noch zu vermessen und insbesondere mit Strukturen zu vergleichen, die sich bei heute stattfindenden Fossilisierungsprozessen bilden. Dabei sind u.a. die Fragen zu beantworten: Welche Fossilien bestehen aus Plättchenstrukturen? Wie sind die Plättchen organisiert und woraus bestehen sie? In welchem Verhältnis stehen Plättchen zur Gesteinsmatrix? Inwiefern hängt die Zellwandstruktur vom Diagenese- bzw. Metamorphosegrad ab? Eine Weiterentwicklung der Kraftspektroskopie über die ganze Fläche eines Fossiles, sowie die ortsaufgelöste Material-Beprobung von Zellwänden mit Hilfe der AFM-Nadel kann helfen, mehr Informationen zur Beschaffenheit und den physikalischen und chemischen Eigenschaften von Fossilien zu generieren. Insbesondere das Auffinden von Kerogen innerhalb der Fossilwände unter direkter Beobachtung der Morphologie wird helfen zwischen anorganischen Mineralisationen und organischen Strukturen zu unterscheiden und somit echte biogene Strukturen zu identifizieren.

## 11 Anhang

#### 11.1 Literaturverzeichnis

- [1] Altermann, W., 1985. The upper Paleozoic pebbly mudstone facies of peninsular Thailand and western Malaysia - continental margin deposits of Paleoeurasia. Geologische Rundschau, 75 (2): S. 371-382.
- [2] Altermann, W. & Kazmierczak, J., 2001. The role of benthic coccoid cyanobacteria in the formation of late Archean carbonates of the Campbellrand Subgroup, South Africa. In: Cassidy, K.F., Dunphy, J.M. & Van Kranendonk, M.J. (Editors), 4<sup>th</sup> International Archean Symposium. AGSO Australia, S. 219-221.
- [3] Altermann, W. & Schopf, J.W., 1995. Microfossils from the Neoarchean Campbell Group, Griqualand West Sequence of the Transvaal Supergroup, and their paleoenvironmental and evolutionary implications. Precambrian Research, 75: S. 65-90.
- [4] Awramik, S.M., Schopf, J.W. & Walter, M.R., 1988. Carbonaceous Filaments from North Pole, Western Australia: are they fossil bacteria in Archean stromatolithes? A discussion. Precambrian Research, 39: S. 303-309.
- [5] Berner, R.A., 1991. Atmospheric CO<sub>2</sub> levels over Phanerozoic Time. Science, 249: S. 1382-1386.
- [6] Berner, R.A., Lasaga, A.C. & Garrels, R.M., 1983. The carbonate-silicate geochemical cycle and its effect on atmospheric carbon dioxide over the past 100 million years. American Journal of Science, 283 (7): S. 641-683.
- [7] Binnig, G., Quate, C.F. & Gerber, C., 1986. *Atomic force microscope*. Physical Review Letters, 56 (9): S. 930-933.
- [8] Binnig, G., Rohrer, H., Gerber, C. & Weibel, E., 1982. *Surface studies by scanning tunneling microscopy*. Physical Review Letters, 49 (1): S. 57-61.
- [9] Bohl, W., 1998. Technische Strömungslehre. Vogel, Würzburg, 317 S.
- [10] Brandt, D. & Martin, C., 2000-2002. *Lexikon der Geowissenschaften*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- [11] Brasier, M.D., Green, O.R., Jephcoat, A.P., Kleppe, A.K., Van Kranendonk, M.J., Lindsay, J.F., Steele, A. & Grassineau, N.V., 2002. *Questioning the evidence for Earth's oldest fossils*. Nature, 416 (7): S. 76-81.
- [12] Buick, R., 1984. Carbonaceous Filaments from North Pole, Western Australia: are they fossil bacteria in Archean stromatolithes? Precambrian Research, 24: S. 157-172.
- [13] Butterfield, N.J., Knoll, A.H. & Swett, K., 1994. *Paleobiology of the Neoproterozoic Svanbergfjellet Formation, Spitsbergen*. Fossils and Strata, 34: S. 1-84.
- [14] Capella, B. & Dietler, G., 1999. *Force-distance curves by atomic force microscopy*. Surface Science Reports, 34: S. 1-104.

- [15] Cardon, Z.G., Czaja, A.D., Funk, J.L. & Vitt, P.L., 2002. Periodic carbon flushing to roots of Quercus rubra seedlings affects soil respiration and rhizosphere microbial biomass. submitted
- [16] Colbath, G.K., 1979. Organic-walled microphytoplankton from the Eden Shale (Upper Ordovician), Indiana, U.S.A. Palaeontographica, 171 (B): S. 1-38.
- [17] Columbus, C., 1493. The Columbus Letter of 1493. In: Harrisse, H. (Editor), Bibliotheca Americana Vetustissima: A Description of Works Relating to America Published Between the Years 1492 and 1551. G.P.Philes, New York.
- [18] Decho, A.W., 2000. Exopolymer Microdomains as a Structuring Agent for Heterogeneity Within Microbial Biofilms. In: Riding, R. & Awramik, S.M. (Editors), Microbial Sediments. Springer, Heidelberg, S. 9-15.
- [19] Drobek, T., 2001. Die Torsionsobertonmikroskopie als Methode zur Messung mechanischer Materialeigenschaften. Dissertation Thesis, Ludwig- Maximilians- Universität, München, 90 S.
- [20] Drobek, T. & Heckl, W.M., 2000. Scanning Probe microscopy studies of the surface of decagonal quasicrystals in ambient conditions. Materials Science an Engineering, A294-296: S. 878-881.
- [21] Durand, B. & Monin, J.C., 1980. Elemental analysis of kerogens (C, H, O, N, S, Fe). In: Durand, B. (Editor), Kerogen - Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks. Imprimerie Bayeusaine, Bayeux, S. 113-141.
- [22] Evitt, W.R., 1963. A discussion and proposals concerning fossil dinoflagellates, hystrichospheres and acritarchs, II. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 49: S. 298-302.
- [23] Freund, J.E., Edelwirth, M., Kröbel, P. & Heckl, W.M., 1997. Structure determination of two-dimensional adenine crystals on graphite. Physical Rewiew B, 55 (8): S. 5394.
- [24] Galimov, E.M., 1980. C<sup>13</sup>/C<sup>12</sup> in kerogen. In: Durand, B. (Editor), Kerogen Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks. Imprimerie Bayeusaine, Bayeux, S. 271-299.
- [25] Giessibl, F.J., Hembacher, S., Bielefeldt, H. & Mannhardt, J., 2000. Subatomic features on the silicon (111)(7x7) surface observed by atomic force microscopy. Science, 289 (5478): S. 422-425.
- [26] Greenwood, J.A. & Johnson, K.L., 1981. *The mechanics of adhesion of viscoelastic solids*. Philosophical Magazine A, 43 (3): S. 697-711.
- [27] Harwood, D.M. & Nikolaev, V.A., 2001. ORIGIN AND EARLY EVOLUTION OF DIA-TOMS: CRETACEOUS AND PALEOGENE RECORDS FROM THE SOUTHERN HIGH LA-TITUDES, North American Paleontological Convention, Berkeley; California.
- [28] Heckl, W.M., 1992. Scanning tunneling microscopy and atomic force microscopy on organic and biomolecules. Thin Solid Films, 210 (211): S. 640-647.
- [29] Heckl, W.M. & Marti, O., 1998. Atomic force microscopy. In: Heckl, W.M. & Marti, O. (Editors), Procedures in Scanning Probe Microscopies. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, S. 85-146.

- [30] Hennemeyer, D.M., 2001. *Einfluß dynamischer und oberflächenphysikalischer Parameter auf die rasterkraftmikroskopische Mikrodissektion*. Diplomarbeit Thesis, Ludwig-Maximilians-Universität, München, 77 S.
- [31] Hesse, R., 1988. Origin of chert: Diagenesis of biogenic siliceous sediments. Geoscience Canada, 15 (3): S. 171-192.
- [32] Hesse, R., 1989. *Silica Diagenesis: Origin of Inorganic and Replacement Cherts*. Earth- Science Reviews, 26: S. 253-284.
- [33] Hornbogen, E. & Skrotzki, B., 1993. Systematische Betrachtung und Kennzeichnung. In: Hornbogen, E. & Skrotzki, B. (Editors), Werkstoff-Mikroskopie : direkte Durchstrahlung mit Elektronen zur Analyse der Mikrostruktur. Springer, Berlin-Heidelberg, S. 230.
- [34] Horodyski, R.J., Bauld, J., Lipps, J.H. & Mendelson, C.V., 1992. Preservation of Prokaryotes and Organic-Walled and Calcareous and Siliceous Protists. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere - a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge, S. 185-193.
- [35] Howland, R. & Benatar, L., 1993. *A Practical Guide to Scanning Probe Microscopy*. Park Scientific Instruments, S. 74.
- [36] Idechik, I.E., Malyavskaya, G.R., Martynenko, O.G. & Fried, E., 1986. *Handbook of Hydraulic Resistance*. Hemisphere Publishing Corporation, Washington, 640 S.
- [37] Israelachvili, J., 1991. Intermolecular and surface forces. Academic Press, London.
- [38] ITPM-Internetseite, 2002. http://www.institutomaritimo.cl/espec/acui/micro/microal.html. Instituto Técnico Profesional Marítimo de Valparaíso, Patricio Lynch 220, Playa Ancha Levarte 159,Playa Ancha Valparaíso, Chile
- [39] Kazmierczak, J. & Altermann, W., 2002. *Neoarchean biomineralization by benthic coccoid cyanobacteria*. Science. im Druck
- [40] Kempe, A., Schopf, J.W., Altermann, W., Kudryavtsev, A.B. & Heckl, W.M., 2002. Atomic Force Microscopy of Precambrian microscopic Fossils. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99 (14): S. 9117-9120.
- [41] Knapp, H.F., 1998. Force Curves in Atomic Force Microscopy. In: Heckl, W.M. & Marti, O. (Editors), Procedures in Scanning Probe Microscopies. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, S. 110-112.
- [42] Kudryavtsev, A.B., Schopf, J.W., Agresti, D.G. & Wdowiak, T.J., 2000. In situ laser-Raman imagery of Precambrian microscopic fossils. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98 (3): S. 823-826.
- [43] Lewis, A., Isaacson, M., Harootunian, A. & Murray, A., 1984. *Developement of a* 500 Å spacial resolution light microscope. Ultramicroscopy, 13 (3): S. 227-232.
- [44] McCulloch, D., Prawer, S. & Hoffman, A., 1994. *Structural investigation of xenon ion beam irradiated glassy carbon*. Physical Review Bulletin, 50: S. 5905-5917.
- [45] Meyer, G. & Amer, N.M., 1990. Simultaneous measurement of lateral and normal forces with an optical-beam-deflection atomic force microscope. Applied Physical Letters, 57 (20): S. 2089-2091.

- [46] Moore, T.B. & Schopf, J.W., 1992. Geographic and Geologic Data for PPRG Rock Samples. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere - a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge.
- [47] Müller, D.J., Fotiadis, D., Scheuering, S., Müller, S.A. & Engel, A., 1999. Electrostatically balanced subnanometer imaging of biological specimens by atomic force microscopy. Biophysical Journal, 76 (2): S. 1101-1111.
- [48] Nanosensors-Produktkatalog. NANOSENSORS GmbH & Co. KG, Im Amtmann 6, D-35578 Wetzlar-Blankenfeld, Germany;
- [49] Oberlin, A., Boulmier, J.L. & Villey, M., 1980. Electron microscopic study of kerogen microtexture. Selected criteria for determining the evolution path and evolution stage of kerogen. In: Durand, B. (Editor), Kerogen - Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks. Imprimerie Bayeusaine, Bayeux, S. 191-204.
- [50] Pohl, D.W., Denk, W. & Lanz, M., 1984. *Optical sthetoscopy: image recording with resolution lambda/20*. Applied Physical Letters, 44 (7): S. 651-653.
- [51] Prawer, S., Nugent, K.W., Lifshits, Y., Lempert, G.D., Grossman, E., Kulik, J., Avigal, I. & Kalish, R., 1996. Systematic variation of the Raman spectra of DLC films as a function of sp<sup>2</sup>:sp<sup>3</sup> composition. Diamond Related Materials, 5: S. 433-438.
- [52] Reimer, L., 1984. *Transmission electron microscopy*. Springer series in optical sciences, III. Springer, Berlin, 512 S.
- [53] Richardson, J.B., Ford, J.H. & Parker, F., 1984. Miospores, correlation and age of some Scottish Lower Old Red Sandstone sediments from the Strathmore region (Fife and Angus). Journal of Micropaleontology, 3 (2): S. 109-124.
- [54] Sader, J.E., 1998. Frequency response of cantilever beams immersed in viscous fluids with applications to the atomic force microscope. Journal of Applied Physics, 84 (1): S. 64-76.
- [55] Sader, J.E., Chon, J.W.M. & Mulvaney, P., 1999. Calibration of rectangular atomicforce microscope cantilevers. Review of scientific instruments, 70 (10): S. 3967-3969.
- [56] Sader, J.E., Larson, I., Mulvaney, P. & White, L.R., 1995. *Method for the Calibration of atomic force microscope cantilevers*. Review of Scientific Instruments, 66 (7): S. 3789-3798.
- [57] Schmidt, P.F., 1994. *Praxis der Rasterelektronenmikroskopie und Mikrobereichsanalyse*. Kontakt & Studium, 444. Expert, Renningen-Malmsheim, 810 S.
- [58] Schopf, J.W., 1968. *Microflora of the Bitter Springs Formation, Late Precambrian, Central Australia*. Journal of Paleontology, 42 (3): S. 651-688.
- [59] Schopf, J.W., 1992a. Informal Revised Classification of Proterozoic Microfossils. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere - a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge, S. 1119-1168.
- [60] Schopf, J.W., 1992b. Proterozoic Procaryotes: Affinities, Geologic Distribution, and Evolutionary Trends. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere - a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge, S. 195-218.

- [61] Schopf, J.W., 1993. *Microfossils of the Early Archean Apex chert: new evidence for the antiquity of life*. Science, 260: S. 640-646.
- [62] Schopf, J.W., 1999a. *Cradle of Life*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 367 S.
- [63] Schopf, J.W., 1999b. *Cyanobacteria: Earth's Oldest "Living Fossils"*. In: Schopf, J.W. (Editor), Cradle of Live. Princeton University Press, Princeton, S. 209-231.
- [64] Schopf, J.W. & Blacic, J., 1971. New Microorganisms from the Bitter Springs Formation (Late Precambrian) of the North-Central Amadeus Basin, Australia. Journal of Paleontology, 45 (6): S. 925-959.
- [65] Schopf, J.W., Dolnik, T.A., Krylov, I.N., Mendelson, C.V., Nazarov, B.B., Nyberg, A.V., Sovietov, Y.K. & Yakshin, M.S., 1977. Six new Stromatolitic Microbiotas from the Proterozoic of the Soviet Union. Precambrian Research, 4: S. 269-284.
- [66] Schopf, J.W., Kudryavtsev, A.B., Agresti, D.G., Wdowiak, T.J. & Czaja, A.D., 2002. *Laser-Raman imagery of Earth's earliest fossils*. Nature, 416 (7): S. 73-76.
- [67] Schopf, J.W. & Packer, B.M., 1987. *Early Archean (3.3 billion to 3.5 billion-year-old) microfossils from Warrawoona Group, Australia*. Science, 237: S. 70-73.
- [68] Schopf, J.W. & Sovietov, Y.K., 1976. Microfossils in Conophyton from the Soviet Union and their bearing on Precambrian biostratigraphy. Science, 193: S. 143-146.
- [69] Schopf, J.W. & Walter, M.R., 1983a. In: Schopf, J.W. (Editor), Earth's Earliest Biosphere, Its Origin and Evolution. Princeton University Press, Princeton, S. 214-239.
- [70] Schopf, J.W. & Walter, M.R., 1983b. *Earth's Earliest Biosphere, Its Origin and Evolution*. Princeton University Press, Princeton, 543 S.
- [71] Servais, T., Brocke, R., Fatka, O., Le Hérissé, A. & Molyneux, S.G., 1997. Value and Meaning of the Term Acritarch. Acta Universitatis Carolinae Geologica, 40: S. 631-643.
- [72] Stark, R., 2000. *Dynamische und quasistatische Rasterkraftmikroskopie zur Materialcharakterisierung: Theorie und Experiment*. Dissertation Thesis, Ludwig- Maximilians- Universität, München, 110 S.
- [73] Stolz, J.F., 2000. *Structure of Microbial Mats and Biofilms*. In: Riding, R. & Awramik, S.M. (Editors), Microbial Sediments. Springer, Heidelberg, S. 1-8.
- [74] Stout, K.J., Sullivan, P.J., Dong, W.P., Mainsah, E., Luo, N., Mathia, T. & Zahouani, H., 1994. *The development of methods for the characterization of roughness on three dimensions*, Commission of the European Community, Luxembourg.
- [75] Strauss, H., Des Marais, D.J., Hayes, J.M. & Summons, R.E., 1992a. *The Carbon-Isotopic Record*. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge, S. 117-127.
- [76] Strauss, H., Des Marais, D.J., Hayes, J.M. & Summons, R.E., 1992b. Concentration of Organic Carbon and Maturities and Elemental Compositions of Kerogens. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere - a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge, S. 95-99.

- [77] Strauss, H. & Moore, T.B., 1992. Abundances and Isotopic Compositions of Carbon and Sulfur Species in Whole Rock and Kerogen Samples. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere - a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge, S. 709-796.
- [78] Susquehanna-University-Internetseite, 2002. http://www.susqu.edu/biology/algae/Melosira\_varians.htm. Susquehanna, Pennsylvania;
- [79] Tao, N.J., Lindsay, S.M. & Lee, S., 1992. *Measuring the microelastic properties of biological material*. BIOPHYSICAL JOURNAL, 63: S. 1165.
- [80] Tappan, H., 1980. *The Paleobiology of Plant Protists*. Freeman and Co., San Fancisco, 1027 S.
- [81] Van Waveren, I.M. & Marcus, N.H., 1993. Morphology of recent copepod egg envelopes and their implication for acritarch affinity. In: Molyneux, S.G. & Dorning, K.J. (Editors), International symposium on Acritarchs and Chitinozoa, Sept. 1991. Special Papers in Palaeontology. Palaeontological Association, London, United Kingdom (GBR), Keyworth, United Kingdom, S. 111-124.
- [82] Vanlandingham, M.R., McKnight, S.H., Palmese, G.R., Eduljee, R.F., Gillespie, J.W. & McCulough, R.L., 1997. Relating elastic-modulus to indentation response using atomic-force microscopy. Journal of materials science letters, 16 (2): S. 117-119.
  (42) English Article
- [83] Vidal, G., 1981. Aspects of problematic acid resistant, organic-walled microfossils (acritarchs) in the Upper Proterozoic of the North Atlantic region. Precambrian Research, 15: S. 9-23.
- [84] Walter, M.R., Grotzinger, J.P. & Schopf, J.W., 1992. Proterozoic Stromatolites. In: Schopf, J.W. & Klein, C. (Editors), The Proterozoic Biosphere - a Multidisciplinary Study. Cambridge University Press, Cambridge, S. 253-260.
- [85] Westra, K.L. & Thomson, D.J., 1994. Atomic force microscope tip needed for accurate imaging of thin film surfaces. Journal of Vacuum Science and Technology B, 12 (6): S. 3176-3181.
- [86] Wright, M. & Altermann, W., 2000. *Microfacies developement in Late Archaean stromatolites and oolites of the Campbellrand Subgroup, South Africa*. In: Insalco, E., Skelton, P.W. & Palmer, T.J. (Editors), Carbonate Platform Systems. Components and Interactions. Geologic Society of London, London, S. 51-70.

## Gesteinsformationen

- Apex Chert: 3,465 Ga, Warrawoona-Formation, West-Australien [Schopf et al., 2002]
- Chichkan Chert: 650 Ma, Chichkan-Formation, Malyj Karatau, Süd Kasachstan, PPRG 1473 [Moore & Schopf, 1992]
- Bitter Springs Chert: ~850 Ma, Bitter Springs-Formation, Love"s Creek Member, Amadeus Becken, Nördliches Territorium, Australien, PPRG 1314 [Moore & Schopf, 1992]
- Gunflint Chert: ~2,1 Ga, Gunflint Iron Formation, Schreiber Beach- Lake Superior, Southern Ontario, Canada [Schopf, 1999a]
# 11.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 2-1 Größenverteilung von rezenten sphäroidalen Einzellern	6
Abb. 2-2 Van Krevelen-Diagramm mit Entwicklungspfaden für die verschiedenen Kerogentypen I, II und III	8
Abb. 2-3 Sphäroidale (abiogene) Partikel in Kerogen	9

Abb. 3-1 Lichtmikroskopische Aufnahme von Bitter Springs Chert mit irregulärer Kolonie von coccoidalen	
Zellen	15
Abb. 3-2 Lichtmikroskopische Aufnahme einer Probe des <i>Chichkan Chert</i>	17
Abb. 3-3 Größenverteilung aller Sphäromorphen in Conophyton Gaubitza des Chichkan Chert	19
Abb. 3-4 Lichtmikroskopische Aufnahmen untersuchter Acritarchen	21
Abb. 3-5 Lichtmikroskopische Aufnahme eines Dünnschliffs des bearbeiteten Bitter Springs Stromatolithen	23
Abb. 3-6 Größenverteilung der Fossilienpopulation aus der die untersuchten Cyanobakterien stammen	26
Abb. 3-7 Lichtmikroskopische Aufnahmen mit Übersicht über untersuchte Cyanobakterien aus Proben $ar{1}$ bis	s <b>4</b>
	28

Abb. 4-1 Schema zur Verbiegung des Cantilever im AFM beim Rastervorgang	29
Abb. 4-2 Schematische Darstellung eines Scanvorgangs im AFM	31
Abb. 4-3 Schemazeichnung einer Kraft-Abstandskurve	34
Abb. 4-4 Berechnung der Kantenlängen eines Flächenelementes für den Rauigkeitsparameter SDR	37
Abb. 4-5 Schema für das Ausdehnungsverhalten der verwendeten Piezo-Scanner	38
Abb. 4-6 Schematische Darstellung geometrischer Abbildungseffekte	39

Abb. 5-1 Versuchsanordnung für verschiedene Ätzverfahren	. 45
Abb. 5-2 Lichtmikroskopische Aufnahmen von Stromatolithen nach verschiedenen Ätzversuchen	.46
Abb. 5-3 Quader aus Reinsubstanzen, aus denen in guter Näherung das Fossil-Chert-Verbundmaterial	
aufgebaut ist, nach einem Ätzversuch	. 48
Abb. 5-4 Lösungsstadien des Fossil-Chert-Verbundes am Beispiel von Zelle 1	. 50
Abb. 5-5 Profil durch Zelle 1 nach 40 min Ätzung	. 52
Abb. 5-6 Rauigkeitsparameter SDR in Abhängigkeit von der aufsummierten Ätzzeit an Zelle 1 und Zelle 2	. 54

Abb. 6-1 Raman-Spektren von 1: amorphem Kohlenstoff, 2: Holzkohle, 3: highly ordered pyrolytic graphite	
(HOPG)	56
Abb. 6-2 Raman-Spektren von Zelle 3-8	58

Abb. 7-1 Schema einer Messung mit der Elektronenstrahl–Mikrosonde	. 61
Abb. 7-2 Lichtmikroskopische Aufnahme von Zelle 4 in reflektiertem Licht nach der Mikrosondenmessung	. 62
Abb. 7-3 WDX-Kohlenstoff-Verteilungsbild von Zelle 4	. 63
Abb. 7-4 Kohlenstoff-Konzentrationsprofile in Zelle 4	. 64
Abb. 7-5 Schema zu den Messungen mit Transmissions-Elektronenmikroskopie	. 66
Abb. 7-6 SEM-Bild von Zelle 3 während der Präparation für TEM-Aufnahmen	. 68
Abb. 7-7 Transmissions-Elektronenmikroskopische Aufnahmen: Profilschnitt durch Zelle 3	. 71
Abb. 7-8 STEM und EDX-Elementverteilungsbilder von Zelle 3	. 74
Abb. 7-9 Transmissions-Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Zelle 3	. 76
Abb. 7-10 Transmissions-Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Zelle 4	. 78

Abb. 8-1 Schemazeichnung des Versuchsaufbaus für AFM-Messungen an durchsichtigen	
Gesteinsdünnschliffen	
Abb. 8-2 Videobild vom Scannvorgang an Zelle 2	
Abb. 8-3 AFM-Aufnahme (intermittent contact) eines fossilen Fames Quercus rubra	
Abb. 8-4 Bildbearbeitungsschritte an AFM-Bildern am Beispiel einer Aufnahme einer rezenten	Cyanobakterien-
Kolonie	
Abb. 8-5 Montage eines entzerrten AFM-Bildes von Acritarchenzelle 3 mit dem dazugehörigen	Lichtbild 86
Abb. 8-6 Fotomontage aus verschiedenen AFM-Topographiebildern von Acritarchenzelle 2	
Abb. 8-7 Kraftmikroskopische Aufnahmen der Acritarchenzellen 1-9 nach der Präparation mit	5%-iger
Flusssäure	
Abb. 8-8 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 1	
Abb. 8-9 Rasterkraftmikroskopische Aufnahme von Zelle 1 und Höhenprofil	
Abb. 8-10 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 2	
Abb. 8-11 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 2	
Abb. 8-12 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 3	
Abb. 8-13 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Zelle 6	100
Abb. 8-14 Kraft-Abstandskurven auf Graphit und Quarz	102
Abb. 8-15 Kräfte-Profil über einen Wandabschnitt von Zelle 2	103

Abb. 9-1 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 1	. 108
Abb. 9-2 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 2	. 110
Abb. 9-3 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 3	. 112
Abb. 9-4 Rasterkraftmikroskopische Aufnahmen von Kolonie 4	. 113

Abb.	10-1 Schematische Darstellung der verschiedenen Verteilung von Kohlenstoff in Acritarchenzellen	116
Abb.	10-2 Übersicht über Zellwandstrukturen in Acritarchenzellen 1,2 und 3, sowie Cyanobakterien-Kolonie	1
		118
Abb.	10-3 Übersicht über die Dicke von Zellwandstrukturen in Acritarchenzellen 1,2 und 3, sowie	
	Cyanobakterien-Kolonie 1	119
Abb.	10-4 Fossilisationsmodell für silifizierte Mikrofossilien bei hohem Durchfluss	122
Abb.	10-5 Entstehungsmodell für silifizierte Mikrofossilien bei geringem Durchfluss	125
Abb.	10-6 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Diatomee Melosira varians	126

# 11.3 Veröffentlichungen, Vorträge

Teile der vorliegenden Doktorarbeit wurden vorab in begutachteten Zeitschriften veröffentlicht und auf internationalen Tagungen präsentiert.

## Veröffentlichungen in begutachteten Zeitschriften

- [1] Kempe, A., Schopf, J.W., Altermann, W., Kudryavtsev, A.B. & Heckl, W.M., 2002c. Atomic Force Microscopy of Precambrian microscopic Fossils. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 99 (14): S. 9117-9120.
- [2] Altermann, W., Kempe, A., Baisch, B., Jammitzky, F., Markert, T. & Heckl, M.W., 2002. Surface marks on sand grains: Key for evaluation of aqueous paleoenvironments on Mars. Origins of Life and Evolution of the Biosphere. Im Druck.

## Kurzfassungen von Konferenzbeiträgen

- [1] Kempe, A., Altermann, W. & Heckl, W.M., 2002a. Search for traces of water by Atomic Force Microscopy, Second European Workshop on Exo/Astrobiology, Graz, Austria. Abstractband, S. 139.
- [2] Kempe, A., Schopf, J.W., Altermann, W., Kudryavtsev, A.B. & Heckl, W.M., 2002b. Atomic force Microscopy of Precambrian Microscopic Fossils, Scanning Probe Microscopies and Organic Materials XI, Universität Kassel, Kassel. Abstractband, S. 17.
- [3] Schopf, J.W., Czaja, A.D., Kudryavtsev, A.B., Agresti, D.G., Wdowiak, T.J., Kempe, A., Altermann, W. & Heckl, W.M., 2002. *The oldest evidence of life*, ISSOL meeting, Oaxaca, Mexico.
- [4] Kempe, A., 2001. Search for traces of life by atomic force microscopy A natural history of the impact of life on Planet Earth. In: Krumbein, W.E., Dornieden, T. & Volkmann, M. (Editors), Fossil and Recent Biofilms. BIS University of Oldenburg, Carl von Ossietzky Universitaet Oldenburg, Wechloy Campus, Oldenburg, Deutschland, S. 33.

- [5] Altermann, W., Kempe, A., Stark, R., Heckl, W.M. & Altenbach, A.V., 2001. Imaging of Precambrian microfossils by Atomic Force Microscopy (AFM), 31<sup>st</sup> International Geological Congress 2000. CPRM, Geol. Survey Brazil, Rio de Janeiro, Brazil. Abstract Vol. – CD-ROM.
- [6] Kempe, A., Altermann, W. & Heckl, W.M., 2000a. Search for traces of life by Atomic Force Microscopy, Gordon Conference on the Origin of Life, Plymouth State Colledge, Plymouth, New Hampshire, USA.
- [7] Kempe, A., Altermann, W., Stark, R. & Heckl, W.M., 2000b. Search for traces of life by atomic force microscopy, Scanning Probe Microscopies and Organic Materials IX, Hanover. Abstractband ohne Seitenangabe.

#### Sonstige Veröffentlichungen

[2] - Wallrabe-Adams, H.-J., A.V. Altenbach, A. Kempe, W. Kuhnt, T. Pletsch, und P. Schaefer: Facies development of Leg 173 sediments and comparison with tectono-sedimentary sequences of compressional Iberian plate margins. In Vorbereitung.

### Sonstige Vorträge und Ausstellungen

- [1] Ausstellung Münchner Wissenschaftstage 2002.
- [2] Schulunterricht im Gymnasium Oberhaching 2002. Nanoskopische Experimente zur Suche nach Leben auf dem Mars
- [3] Vortrag zur Marsreihe, Museum Reich der Kristalle 2001. Suche nach Lebensspuren mit dem Rasterkraftmikroskop
- [4] Ausstellung Lange Nacht der Museen, 2001
- [5] Ausstellung Physik und Leben 2001

# 11.4 Dank

Ich möchte mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Doktorarbeit beigetragen haben.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Wladyslaw Altermann danken, für sein Vertrauen, mich auf dieses spannende Thema mit höchst ungewissem Ausgang loszulassen; für die guten Diskussionen und die Teilhabe an seinem grenzenlosen Wissen aus den Tiefen des Präkambriums.

Ebenfalls an erster Stelle möchte ich meinem zweiten Doktorvater Wolfgang Heckl danken. Dafür dass ich Mitglied seiner außergewöhnlichen Arbeitsgruppe sein durfte, für die vielen Möglichkeiten meine eigenen Ideen umzusetzen und für die vielen Gespräche, in denen ich gelernt habe was sonst noch alles einen guten Wissenschaftler ausmacht, nicht zuletzt für die zahlreichen Reisen, die mir ermöglichten Neues kennen zulernen.

William Schopf für die Möglichkeit in seinen Labors zu arbeiten, für das Geschenk der wunderbaren Gesteinsproben, für die gemeinsame Zeit beim Experimentieren (2 Wochen!) im AFM-Labor und für die Diskussion über die entscheidenden Fragen.

Ich danke allen, die mir mit Ihrer Expertise an komplizierten Geräten entscheidend geholfen haben: Richard Wirth aus Potsdam für die TEM-Experimente, Gabriele Magel für die Mikrosonden-Messungen, für die sie aus Freundschaft die letzten Reste ihrer knappen Zeit opferte, Anatoliy Kudryavtsev aus Birmingham für die Raman-Spektren.

Ich danke besonders den Mitgliedern von Wolfgang Heckl's Arbeitsgruppe, mit denen ich eine spannende und freundschaftliche Zeit hatte: Richard Schloderer, für seine selbstlose Hilfe auf all seinen vielen Spezialgebieten und für den Blitzbau des neuen Scanners, Stefan Griessl für die Hilfe mit Computer und wo es nur ging, Javir Rubio für sämtliche AFM-Diskussionen und die gute gemeinsame Zeit im Labor, Marc Hennemeyer und Stefan Thalhammer für die Hilfe im biologischen Labor und für die tollen Diskussionen, die meinen Horizont um die lebenden Anteile in der Welt der Mikroben erweitert haben, Frank Trixler für die gute gemeinsame Zeit auf den Ausstellungen, wo ich von ihm vieles über Tunnelmikroskopie lernte und was die mit der Entstehung des Lebens und mit dem Mars zu tun hat, Ferdinand Jamitzky für die Diskussionen und die Hilfe, die wesentlich zu meinem Verständnis beigetragen haben, was man mit Daten anfangen kann, sobald man sie einmal hat, Paul Hix für die Hilfe beim Englischen und für die interessanten Erklärungen, wie man ein Tunnelmikroskop baut, Michael Reiter für die Anregungen zum Verfassen wissenschaftlicher Texte und für die freundschaftliche Zeit im gemeinsame Büro, Robert Stark und Tanja Drobek, die mich auf

fürsorgliche Weise in ihr gut funktionierendes AFM-Labor aufgenommen haben und mich mit technischen und physikalischen Diskussionen auf die eigenen Füße geschubst haben, Belinda Baisch und Eric Koschmieder für die AFM-Experimente, die sie zuverlässig durchführten, wenn's auch nicht immer nur Spaß gemacht hat. Ich möchte auch all den anderen Gruppenmitgliedern danken, die ich hier nicht namentlich nenne – es waren dreieinhalb schöne Jahre, weil jeder Tag Spaß gemacht hat, den ich mit Euch zusammen verbringen konnte.

Schließlich danke ich all den Mitarbeitern der geowissenschaftlichen Institute, die mir auf meinem Weg geholfen haben. An dieser Stelle sei genannt: Gerhard Brunauer, mit dem ich das Kristallographische Praktikum betreuen durfte – seine Erfahrung hat mir wohl manche Stunde eigener Recherche erspart - Günter Hesberg für die schnelle und professionelle Hilfe, immer wenn ich in letzter Minute vor Dienstschluss Teile aus der Mechanikwerkstatt brauchte, Detlef Körner und Max Häberle für die freundschaftliche Hilfe bei allen elektronischen Problemen und mehr...., Stocki für die Holzbauten, seine unkomplizierte und zuverlässige Art und den Rat wie So was geht, Claudine Koschmieder für die unbeschreiblich wichtige Hilfe in Sachen Geld und Uni und für all die Tricks auf die ich alleine nie gekommen wäre, Lisa Böck, Maika Meisner, Peter Dreier und Renate Wunderlich, die mir halfen wenn's um Chemie und Präparation ging und wo was steht und so...., Marianne Werner und Renate Liebreich für die Unterstützung am Elektronenmikroskop, Thomas Rüde für die Hilfe und das Türen aufsperren nach Dienstschluss, Peter Gille, der mir mit viel Freude die Kristallographie näher brachte – ich würde das Praktikum wieder betreuen....-, Ralf Barz und Peter Horn für die konstruktive Diskussion über mineralogische Fragen, Alexander Altenbach für intensive Diskussion über Taxonomie und all die anderen Dinge, die es auf dem Klavier der Wissenschaft richtig zu spielen gibt.

Ich danke denen, denen ich im Lauf meiner Experimentierlaufbahn begegnete und die mir Proben und Wissen zur Verfügung stellten: Reinhard Hesse, von dem ich viel über Diagenese und Chert lernte, für die unveröffentlichten Bilder von Opal-A Kristallen, Wolfgang Krumbein für die wohlgenährten Cyanobakterien aus seinen reichhaltigen Kulturen, Jósef Kazmierczak für interessante Experimente an kalzifizierenden Cyanobakterien, Ralf Milke für den Sand, Martin Grassl für Experimente an den sauber gezüchteten Kristallen.

Ich möchte auch denen Danken, die hinter der Bühne mitgeholfen haben, dass ich alles gut überstehe: Anne Bussmann für die Freundschaft und ihren philosophischen Blick auf meine Dissertation.

Claudia Niederwieser für all die Liebe in der schwierigen Zeit.

# 11.5 Lebenslauf

#### Persönliche Daten

Geburtsdatum	13.12.1971
Geburtsort	München
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

### Schulausbildung

1978 - 1982	Grundschule Sauerlach
1982 - 1991	Gymnasium Oberhaching
Juni 1991	allgemeine Hochschulreife

### Zivildienst

Okt 1991 - Okt 1992

Ausbildung und Einsatz als Rettungssanitäter

# Universitätsausbildung

Nov 1992 - Apr 1994	Studium der Chemie	
Mai 1994 - Mai 1999	Studium der Geologie	
Mai 1999	Diplom-Hauptprüfung. Thema der Diplomarbeit:	
	Zur Mesozoisch-Känozoischen Geologie Iberiens	
	- Vergleich aktiver und passiver Kontinentalrän-	
	der der Iberischen Platte - Detailkartierung des	
	Überganges kretazisch tertiärer Schichten in der	
	Umgebung des Pantá de Camarasa (Sierras Mar-	
	ginales, SE-Pyrenäen)	
seit Jun 1999	Promotionsstudium in den Geowissenschaften	
seit Jan 2002	Wiss. Mitarbeiter am Institut für Kristallographie	
	und Angewandte Mineralogie der Ludwig-	
	Maximilians-Universität, München; Arbeitsgruppe	
	Prof. Dr. W. M. Heckl	

Forschungsaufenthalte	
1998	Diplomkartierung in den Pyrenäen, Spanien
Feb-Apr 2001	Forschung am CSEOL, University of California,
	Los Angeles (Prof. Schopf)
Auszeichnungen	
1990, 1991	Bayerisches Hochbegabten-Stipendium
2000, 2001	Graduiertenstipendium der Ludwig-Maximilians-
	Universität
2001	Personenbezogenes Stipendium des DAAD zur
	Forschung in den USA

München, 1. Novenmber 2002