

Untersuchungen zu Form und Funktion der Leuchtorgane des Nordischen Krill

Meganyctiphanes norvegica (M. SARS, 1857)

(Crustacea: Euphausiacea)

Dissertation

00100

zur Erlangung der Würde des Doktors der Naturwissenschaften
des Fachbereichs Biologie
der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der
Universität Hamburg

vorgelegt von Torsten Fregin aus Hamburg

Hamburg 2012

Genehmigt vom Fachbereich Biologie der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften an der Universität Hamburg auf Antrag von Prof. Dr. F. BUCHHOLZ Weiterer Gutachter der Dissertation: Priv.-Doz. Dr. U. BICKMEYER Tag der Disputation: 01. Juli 2011

Hamburg, den 14. Juni 2011

An emming

Professor Dr. Axel Temming

Professor Dr. Axel Temming Leiter des Fachbereichs Biologie

Ich versichere hiermit, dass ich meine Dissertation				
Untersuchungen zu Form und Funktion der Leuchtorgane des Nordischen Krill Meganyctiphanes norvegica (M. SARS, 1857) (Crustacea: Euphausiacea)				
selbständig, ohne unerlaubte Hilfen und ausschließlich mit den angegebenen Quellen angefertigt habe.				
Die vorliegende Dissertation wurde in der jetzigen oder in einer ähnlichen Form bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.				
(Torsten Fregin)				
Hamburg, den 28.04.2011				

Das Licht der Erkenntnis leuchtet auf und erlischt, und es hinterläßt den Menschen erschüttert, glücklich und bang zugleich. Dafür gibt es viele Beispiele. Jeder kennt Newtons Apfel. Charles Darwin hat gesagt, die Idee zu seiner Entstehung der Arten sei ihm in einer Sekunde gekommen, und den Rest seines Lebens habe er gebraucht, um sie auszuarbeiten. Die Relativitätstheorie ist Einstein im Handumdrehen klar geworden. Das ist das größte Rätsel des menschlichen Geistes: der induktive Sprung. Alles fügt sich ineinander, Belanglosigkeiten rücken in einen Zusammenhang, aus Dissonanz wird Harmonie, und was vorher Unsinn schien, wird von Sinn überwölbt.

John Steinbeck

Inhaltsverzeichnis - i -

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis i
Zusammenfassungvii
Abstractviii
Abkürzungsverzeichnisix
Abbildungsverzeichnisx
Tabellenverzeichnis xiv
1. Einleitung
1.2 Besonderheiten des marinen Lebensraumes im Übergang zur Tiefsee 8
1.2.1 Tageszeitliche Vertikalwanderung9
1.2.2 Durchsichtiger Körper
1.2.3 Gegenlichterzeugung (Englisch "counterillumination", "countershading") 10
1.3 DVM, Körperdurchsichtigkeit und Gegenlichterzeugung bei Euphausiaceen
1.4 Generelle Übersicht über Biolumineszenz
1.4.1 Verbreitung im Meer
1.4.2 Verwendung
1.4.3 Wie wird Licht erzeugt?14
1.4.3.1 Bakterielle und intrinsische Lumineszenz und abgeleitete Leuchtorgane 14
1.5 Beispiele für Verwendungsmechanismen von Biolumineszenz
1.5.1 Verwendung in verschiedenen marinen Gruppen
1.5.1.1 Dinoflagellaten
1.5.1.2 Copepoden
1.5.1.3 Ostracoden
1.5.1.4 Schlangensterne (Echinodermata: Ophiuroida)
1.5.1.5 Seegurken (Echinodermata: Holothuroida)
1.5.1.6 Cephalopoden
1.5.1.7 Fische
1.5.1.7.1 Anglerfische (Ceratioidae)
1.5.1.7.2 Drachenfische (Malacosteidae)
1.5.1.7.3 Ponyfische (Leiognathidae)

- ii - Inhaltsverzeichnis

1.5.1.7.4 "Blitzlichtfisch" ("flash light fish") Photoblepharon palpebratus	
(Anomalopidae)2	2
1.5.1.7.5 Biolumineszente Fische ohne Artbeschreibung	2
1.6 Beobachtungen an Euphausiaceen	3
1.6.1 Biolumineszenz	3
1.6.1.1 Freiwasser	3
1.6.1.2 Labor	5
1.6.1.2.1 Spontane Blitze	6
1.6.1.2.2 Durch Pharmaka ausgelöstes Leuchten	7
1.6.1.2.3 Die "Hell-Dunkel-Reaktion" ("light-dark-experiments" nach Mauchline).2	8
1.6.1.2.4 Der "Ergriffeneffekt" (nach Vallentin und Cunningham) - mechanische	
Stimulierung	0
1.6.2 Schwimmverhalten von Euphausiaceen	0
1.6.2.1 Visuelle Beobachtungen von Tauchern im Freiwasser	0
1.6.2.2 Beobachtung mittels Sonar	1
1.6.2.3 Messung von Schwimmverhalten im Labor	2
1.7 Zwischenfazit zum Stand der Biolumineszenzforschung bei Krill	4
1.8 Messung von Biolumineszenz im Meer	5
1.8.1 Spontane Biolumineszenz	5
1.8.2 Induzierte Biolumineszenz	6
1.8.3 Die Identifikation biolumineszenter Organismen im Freiwasser	7
1.9 Histologische Untersuchungen an Leuchtorganen	8
1.10 Neurobiologie und Pharmakologie des Leuchtens	0
1.11 Das geographische Untersuchungsgebiet am Gullmarfjord 6	4
1.12 Zielsetzung dieser Arbeit	6
2. Material und Methoden	7
2.1 Tierfang	7
2.2 Morphologische Arbeiten	7
2.2.1 Fixierung Tiere	7
2.2.2 Präparation der Tiere für die Rasterelektronenmikroskopie 6	9
2.2.3 Semidünnschnitte und Ultradünnschnitte	,9
2.2.4 3D-Darstellungen der Leuchtorgane aus Semidünnschnittserien	0
2.2.5 Immunfärbungen an Blockpräparaten ("Whole Mounts")	0

Inhaltsverzeichnis - iii -

2.2.6 Dokumentation Färbungen: Hellfeld, Fluoreszenz-& Konfokalmikroskopie 71
2.2.7 Immunfärbungen an Gefrierschnitten
2.2.8 Trichromatische Färbung an Kryoschnitten
2.3 Pharmakologische und visuelle Stimuli als Auslöser für das Leuchten
2.3.1 Injektionssystem für pharmakologische Untersuchungen
2.3.2 Versuchsaufbau und Durchführung76
2.3.3 Verteilung injizierter Substanzen im Körper - Visualisierung mit Fast Green. 78
2.3.4 Getestete Substanzen
2.3.5 Messung des Leuchtens im Labor
2.3.5.1 Meßgeräte - Photomultiplier80
2.3.5.2 Künstliche Lichtereignisse als Auslöser für Biolumineszenz und andere
Verhaltensweisen82
2.3.5.3 Kühlsystem für Experimente außerhalb des Kühlraums
2.3.6 Hälterung von Krill in Hamburg
2.3.7 Auswirkung eines Lichtgradient auf das Leuchtverhalten
2.3.7.1 Apparatur mit zwei rotierenden Lochscheiben
2.3.7.2 Apparatur mit einer rotierenden Lochscheibe
2.4 Elektrophysiologische Messungen
2.5 Messungen im Freiwasser
2.5.1 Meßgeräte - Sonden92
2.5.2 Temperatur und Absorption von Blaulicht in der Wassersäule 96
2.5.3 Unterwasser-Kamera
2.6 Messung des Schwimmverhaltens in Gefangenschaft (3D-Trajektorien) 97
2.6.1 Kamerasystem
3. Ergebnisse
3.1 Morphologische und histologische Untersuchung der Leuchtorgane
3.1.1 Leuchtorgane der Thoraxsegmente
3.1.2 Leuchtorgane der Abdominalsegmente
3.1.3 Ligamentsystem posterior vom vierten abdominalen Leuchtorgan 134
3.1.4 Antikörperfärbungen zur Untersuchung der Steuerung des Leuchtvorgangs
im Inneren der Leuchtorgane durch das Nervensystem
3.2 Pharmakologische und andere Stimuli zur Auslösung des Leuchtens
3.2.1 Badapplikation von Serotonin

- iv - Inhaltsverzeichnis

3.2.2 Schwankungen der Leuchtstärke bei festgelegten Tieren	140
3.2.3 Auslösung des Leuchtens	142
3.2.4 Hell-Dunkel-Gradient als Auslöser des Leuchtens	145
3.2.5 Reaktion der Tiere auf Helligkeitsgradienten	146
3.2.6 Injizierte Pharmaka als Auslöser des Leuchtens	148
3.2.6.1 Zeitlicher Verlauf der Verteilung injizierter Substanzen.	148
3.2.6.2 Injektion von Serotonin	150
3.2.6.2.1 Latenz	150
3.2.6.2.2 Leuchtdauer	152
3.2.6.2.3 Latenz und Leuchtdauer der einzelnen Leuchtorgane	152
3.2.6.2.4 Variabilität von Latenz und Leuchtdauer zwischen verschiedenen	
Messperioden	152
3.2.6.2.5 Abhängigkeit von Latenz und Leuchtdauer vom Körpergewicht	154
3.2.6.2.6 Repetitive Injektion von Serotonin	154
3.2.7 Wirkung verschiedener Substanzen auf das durch Serotonin ausgelöste	
Leuchten	155
3.3 Biolumineszenz in Fjord und Labor im Vergleich	161
3.3.1 Lichtextinktion mit zunehmender Tiefe - Reichweite biolumineszenter	
Signale im Wasserkörper	161
3.3.2 Messungen von Biolumineszenz im Freiwasser des Gullmarfjords	165
3.3.3 Beschreibung einer einzelnen Aufzeichnung	167
3.3.4 Anzahl Blitze pro Stunde	169
3.3.5 Verteilung der Blitze im Verlauf der Nacht	170
3.3.6 Einteilung der Leuchtereignisse in Kategorien	175
3.3.7 Messung der zeitlichen Abstände zwischen zwei aufeinander	
folgenden Blitzen	182
3.3.8 Meganyctiphanes im Aquarium	185
3.3.9 Spontane und stimulierte Biolumineszenz im Oberflächenwasser	190
3.3.10 Besonderheiten spontaner Biolumineszenz in Tiefenwasser (ohne Krill)	192
3.3.11 Aufzeichnung von leuchtendem, frei im Labortank schwimmendem Krill	193
3.3.12 Komplexe Leuchtereignisse im Freiwasser des Gullmarfjord	195
3.3.13 Versuch der Beobachtung von Krill mittels Kamera im Freiwasser	195
3.3.14 Anwendung der Analysetechnik auf andere Arten	197

Inhaltsverzeichnis - v -

3.4 V	Verfolgung und Auswertung der Schwimmtrajektorien von Krill in Aquarien	
	mittels 3D-Videosystem	198
3.5 E	Elektrophysiologische Messungen	204
4. Di	iskussion	206
4.1 N	Morphologische und histologische Untersuchungen der Leuchtorgane	206
	4.1.1 Bewegungsapparat der thorakalen Leuchtorgane	206
	4.1.2 Bewegungsapparat der abdominalen Leuchtorgane	208
	4.1.3 Immunfärbungen	212
4.2 A	Auslösung und Steuerung der Lichtproduktion durch Pharmaka	
	und externe Lichtstimuli	217
	4.2.1 Wirkung von Pharmaka auf die Lichtproduktion	217
	4.2.2 Zusammenfassende Betrachtung der pharmakologischen Experimente	228
	4.2.3 Hell-Dunkel-Reaktion	232
4.3 B	Biolumineszenzmessungen in Fjord und Labor im Vergleich	234
	4.3.1 Spontane Biolumineszenz im Freiwasser des Gullmarfjord und im Labor	237
	4.3.2 Weitere Untersuchungen zur Biolumineszenz	241
	4.3.2.1 Biolumineszenz als Gegenlichterzeugung zur Auflösung des eigenen	
	Schattenwurfs	241
	4.3.2.2 Biolumineszenz bei Krill als Kommunikationskanal	245
	4.3.3. Beobachtung von Schwimmtrajektorien im Labor	247
4.4 F	Pazit und Ausblick	249
5. Li	teraturverzeichnis	250
6. Ar	nhang	285
6.1	Danksagung	285
6.2	Chemikalienliste	286
6.3	3D-Koordinatenbestimmung aus zwei parallelen Kameras	287
6.4	Tabelle Aufzeichnungen Biolumineszenz im Freiwasser des Gullmarfjord	289

- vi - Zusammenfassung

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Fragestellungen aus verschiedenen Themenkomplexen bearbeitet, die dazu beitragen sollen, ein Verständnis für die Bedeutung der Leuchtorgane im Lebenszyklus des Nordischen Krill, *Meganyctiphanes norvegica* (M.Sars), zu entwickeln.

In einem morphologisch-histologischen Teil wurden die thorakalen und abdominalen Leuchtorgane und ihr peripheres Umfeld, zum ersten Mal mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) und dreidimensionaler Rekonstruktionen (3D-Modelle) aus Semidünnschnittserien untersucht. Für die thorakalen Leuchtorgane zeigen die Ergebnisse, dass die Rotation der Leuchtorgane durch zwei antagonistisch wirkende Muskeln bewirkt wird, welche nur auf einer Seite inserieren und mit einem sehnenartigen Ligament verwoben sind. Für das Abdomen bestätigen die Aufnahmen die klassischen Beschreibung, dass alle vier Leuchtorgane synchron durch ein durch die fünf ersten Abdominalsegmente verlaufendes Ligamentsystem bewegt werden.

Ergänzt wurde dieser Teil durch Immunfluoreszenzfärbungen an den Leuchtorganen der Augenstiele, des Thorax und des Abdomens. Die verwendeten Antikörper gegen Serotonin, Serotoninrezeptor 5-HT_{1crust}, methyliertes α-Tubulin, Octopamin, Synapsin, Na-K-ATPase sowie rhodamingekoppeltes Phalloidin lieferten alle detektierbare und lokalisierbare Signale. 5-HT und Octopamin bilden Netzwerke von Axonkollateralen, welche nicht vom Antikörper gegen Tubulin markiert werden. Der Serotoninrezeptor ist auf den Zellen, die den Streifenkörper (die "Laterne") bilden, lokalisiert. Synapsin und Na-K-ATPase sind in den gleichen Regionen lokalisiert bzw. konzentriert wie die Endigungen der Blutkapillaren. Auf diesen Beobachtungen basierend wird ein modifiziertes Modell der Leuchtsteuerung nach Krönström et al. (2009) postuliert.

In einem pharmakologischen Teil wurde die Auslösung der Biolumineszenz durch Badapplikation von Serotonin sowie die Injektion von Serotonin in die Hämolymphe untersucht. Die Auslösung des Leuchtens bzw. die Wechselwirkung mit dem Serotonineffekt wurde für verschiedenen Substanzen getestet. 8-OH-DPAT, 5-Methoxytryptamin, Forskolin und Calcimycin lösen bei Injektion in die Hämolymphe das Leuchten aus. Octopamin, Pimozide, Propanolol und Tyramin haben bei gleichzeitiger Applikation mit Serotonin keinen signifikanten Einfluss auf Leuchtdauer oder Latenz, hingegen reduzieren Fluoxetin und Methiothepin die Leuchtdauer.

In einem weiteren Teil wurde die spontane Biolumineszenz im Gullmarfjord (Schweden) mittels Sonden, die über Lichtvervielfacherröhren verfügten, untersucht. Insgesamt wurde 602 Stunden lang in verschiedenen Tiefen die wohl größtenteils unstimulierte Biolumineszenz aufgezeichnet und ungefähr 73000 Lichtsignale registriert. Diese wurden nach Form kategorisiert und nach zeitlichem Abstand zueinander analysiert, wobei keine wiederkehrenden Muster gefunden wurden. Im Labor beobachteter Krill zeigte keine spontane Biolumineszenz, weswegen keine Aussage über die Beteiligung des Krill an der im Freiwasser vorkommenden Biolumineszenz gemacht werden kann. Mittels eines dreidimensionalen Kamerasystems wurden Schwimmtrajektorien des Krill im Labortank gefilmt und ausgewertet mit Hinblick auf die gezeigten Verhaltensweisen.

Mittels zwei unterschiedlicher Geräte mit Rotationsscheiben, welche eine serielle Messung (>100 Hz) der Umgebungshelligkeit und der Biolumineszenz des Krill ermöglichen, wurde die Hypothese der Gegenlichtillumination ("countershading") untersucht, welche aber nicht bestätigt wurde.

Summary - vii -

Summary

In the presented work different experiments from different fields of research have been performed to contribute to an understanding of the role of light organs in the life history of the Nordic Krill, *Meganyctiphanes norvegica* (M.Sars).

In a morphological-histological part the light organs (and the accompanying structures) of the eye stalks, the thorax and the abdomen have been studied for the first time by means of scanning electron microscopy as well as by preparation of 3D models based on three dimensional reconstructions from serial sectioning series. The rotation of the thoracic light organs is facilitated by two antagonistically working muscles, attached to one side of the light organ; they are wrapped by a ligament system, probably for force storage similar to a tension spring. The results for the abdominal light organs confirm the classic descriptions: all four light organs are rotated synchronically by a single ligament system running through the first five abdominal segments.

This part is complemented by immunohistochemistry of the light organs of the eye stalks, the thoracic and abdominal segments. Rhodamine conjugated phalloidin, as well as antibodies directed against serotonin (5-HT), serotonin receptor 5-HT_{1crust}, methylated alpha-tubuline, octopamine, synapsin, and Na-K-ATPase, showed detectable and localizable signals. Phalloidin labeled the capillaries. Structures showing 5-HT- and octopamine-immunoreactivity are forming networks of probably axon collaterals within the light organs, which are not labelled by the tubuline antibody. The serotonin receptor is located on the cells forming the striated body (the "lantern"). Synapsine and Na-K-ATPase are localized within the vicinity of capillary endings, thought to have sphincter functions. Incorporating these findings, a modified version of the model for the control of light production proposed by Krönström et al. (2009) is presented.

In a pharmacological work the influence of bath applicated and injected 5-HT on latency and duration of light production was examined. The triggering of the bioluminescence or the interaction with serotonin was examined for different pharmacological agents known to influence serotonergic systems. 8-OH-DPAT, 5-methoxytryptamin, forskolin, and calcimycin trigger light production when injected into the hemolymph. Octopamine, pimozide, propanolol, and tyramine did not have a significant influence on latency or duration onto bioluminescence elicited by serotonin, whereas fluoxetin and methiothepin reduced the duration.

The spontaneous bioluminescence in the free waters of Gullmarfjord, Sweden, in different depth at different times of the year, was recorded by underwater probes equipped with photomultiplier tubes. A total of 602 hours of continuous recordings of probably mostly nonstimulated bioluminescence showed about 73000 light signals. These were classified into different flash categories, then analyzed by the time spacing in between two consecutive flashes, but no recurring patterns were found. Krill observed in water tanks in the lab did not show spontaneous flashing behaviour; therefore no statement can be made concerning the involvement of krill in naturally occurring bioluminescence in the deep waters of the fjord. The swimming behaviour of the krill was recorded and categorized in the lab with a dual camera system recording three-dimensional trajectories.

With two different versions of recording hardware, equipped with spinning discs for serial measurement (>100 Hz) of the stimulus light intensity and the bioluminescence of the krill, the hypothesis of countershading was examined, but could not be confirmed in this setup.

Abkürzungsverzeichnis

5HT(R) 5-Hydroxytryptamin (Serotonin) (Rezeptor)

Abb. Abbildung abd. abdominal

A.dest demineralisiertes bzw. destilliertes Wasser (lat. Aqua destillata)

bzw. beziehungsweise

ca. circa

EM Elektronenmikroskop bzw. elektronenmikroskopisch

E. superba Euphausia superba (Antarktischer Krill)

Kap. Kapitel

LED Leuchtdiode LO Leuchtorgan

M. norvegica Meganyctiphanes norvegica (Nordischer Krill)

n bzw. N Anzahl

n.s. nicht signifikant
p Signifikanzniveau
PFA Paraformaldehyd

PMT Photomultiplier (von Englisch "photomultiplier tube")

REM Rasterelektronenmikroskop

ROI Bereich von Interesse (von Englisch "region of interest")

s. siehe

s Sekunde(n)

SD Standardabweichung (Englisch "standard deviation")

SEM Standardfehler des Mittelwerts (Englisch "standard error of the mean")

s.o. siehe oben

sog. sogenannt(e/n)

Tab. Tabelle

TEM Transmissionselektronenmikroskop

th. thorakal
v.a. vor allem
vs. versus
vgl. vergleiche
z.B. zum Beispiel

ZNS Zentralnervensystem

Abbildungsverzeichnis

Einleitung

Abb. 1: Fotos von leuchtenden Meganyctiphanes norvegica
Abb. 2: Äußere Morphologie eines Euphausiids (Mauchline&Fisher 1969) 4
Abb. 3: Tageszeitliche Vertikalwanderung von <i>M. norvegica</i> (Mauchline 1960) 8
Abb. 4: Fotos vom Leuchtkäfer Lampyris noctiluca
Abb. 5: Biolumineszenzmessung im Freiwasser (Hardy & Kay 1964)
Abb. 6: Tageszeitliche Variation spontaner Blitze im Meer (Kampa & Boden 1956) 34
Abb. 7: Lichtblitz von E. superba nach elektrischer Stimulierung (Clarke et al. 1962) 37
Abb. 8: Schemazeichnungen von Leuchtorganen (Petersson 1968; Herring&Locket 1978) 38
Abb. 9: Zusammenfassende Schemazeichnung eines abdominalen Leuchtorgans 39
Abb. 10: Blutkreislauf von M. norvegica (Mauchline&Fisher 1969)
Abb. 11: Zeichnungen von M. norvegica nach Kröyer (1859)
Abb. 12: Zeichnungen von vermutlich M. norvegica nach Claus (1863)
Abb. 13: Zeichnungen von Euphausia pellucida nach G.O. Sars (1885)
Abb. 14: Horizontalschnitt durch ein Leuchtorgan nach Vallentin&Cunningham (1888) . 44
Abb. 15: Schemazeichnung eines Leuchtorgans nach Chun (1893)
Abb. 16: Schemazeichnung eines Leuchtorgans nach Chun (1896)
Abb. 17: Schemazeichnung eines Leuchtorgans nach Trojan (1907) 51
Abb. 18: Schemazeichnung eines Leuchtorgans nach Dahlgren (1916) 52
Abb. 19: Foto Leuchtorgan (histologischer Schnitt) nach Bassot (1966)
Abb. 20: Fotos Leuchtorgan (histologischer Schnitt) nach Petersson (1968) 57
Abb. 21: Foto Serotoninfärbung im Leuchtorgan nach Fregin (2001)
Material und Methoden
Abb. 22: Geographische Lage des Messgebietes
Abb. 23: Automatisiertes Injektionssystem für pharmakologische Untersuchungen $\ \ldots \ .$ 72
Abb. 24: Laborgehäuse für Photomultiplier (Trockenbereich)
Abb. 25: Laborgehäuse für Photomultiplier (Nassbereich)
Abb. 26: Rundtank für Hälterung von Krill im Labor
Abb. 27: Laborfiltersystem zur Reinigung von Meerwasser
Abb. 28: Mikroskop mit Shuttersystem (zwei rotierende Lochscheiben) 80

Abb. 29: Shuttersystem mit einer Lochscheibe
Abb. 30: Portabler Elektrophysiologiearbeitsplatz
Abb. 31: Schema Aufbau stationäre Biolumineszenzmessung im Freiwasser 84
Abb. 32: Fotos Sondentypen 1, 2 und 3 für Biolumineszenzmessungen im Freiwasser 86
Abb. 33: Explosionszeichnungen (Teil 1) für Sondentyp 2
Abb. 34: Explosionszeichnungen (Teil 2) für Sondentyp 2
Abb. 35: Explosionszeichnungen für Sondentyp 3
Abb. 36: Messgerät für Trübungsgrad und Temperatur im Freiwasser
Abb. 37: Unterwasserkamerasystem
Abb. 38: Schema 3D-Kamerasystem95
Abb. 39: Versuchsaufbau des 3D-Kamerasystems
Abb. 40: Infrarotscheinwerfer für Unterwasserbeleuchtung
Ergebnisse
Abb. 41: Übersicht Lage der Leuchtorgane in den einzelnen Segmenten
Abb. 42: Gliedmaßen und Leuchtorgan des zweiten Thorakalsegments (REM) 103
Abb. 43: Leuchtorgan des siebten Thorakalsegments (REM)
Abb. 44: Morphologie der thorakalen Leuchtorgane (REM)
Abb. 45: Semidünnschnittserie LO zweites Thorakalsegment (Tafeln 1&2) 106-107
Abb. 46: Semidünnschnittserie LO siebtes Thorakalsegment (Tafeln 1&2) 108-109
Abb. 47: Azanfärbungen thorakale Leuchtorgane
Abb. 48: Phalloidinfärbung und $\alpha\text{-}Tubulin\text{-}Immunmarkierung th. LO $
Abb. 49: 3D-Rekonstruktion des Leuchtorgans im zweiten thorakalen Segment 113
Abb. 50: Pleosternit erstes abdominales Segment (REM)
Abb. 51: Leuchtorgan des ersten abdominales n Segments (REM)
Abb. 52: Leuchtorgane Abdominalsegmente (Färbung $\alpha\text{-}Tubulin,$ Phalloidin)
Abb. 53: Leuchtorgane Abdominalsegmente (REM)
Abb. 54: Verbindung Subneuralgefäß und Ganglion (REM)
Abb. 55: Leuchtorgane Abdominalsegmente (REM)
Abb. 56: Semidünnschnittserie LO erstes Abdominalsegment (Tafeln 1&2) 121-122
Abb. 57: Azanfärbungen abdominaler Leuchtorgane
Abb. 58: Phalloidin- und Serotoninfärbungen abdominaler Leuchtorgane
Abb. 59: Ligamentsystem des Abdomens (TEM)

Abb. 60: 3D-Rekonstruktion des Leuchtorgans im ersten Abdominalsegment (Teil 1).	127
Abb. 61: 3D-Rekonstruktion des Leuchtorgans im ersten Abdominalsegment (Teil 2).	. 128
Abb. 62: 3D-Rekonstruktion thorakales Blutgefäßsystem	. 129
Abb. 63: Ligamentsystem des vierten und fünften Abdominalsegments (REM)	. 130
Abb. 64: Ligamentsystem des vierten und fünften Abdominalsegments (Semidünn.)	. 131
Abb. 65: Phalloidin- und Serotoninfärbungen innerhalb der Leuchtorgane	. 132
Abb. 66: 5HTRcrust, α-Tubulin, Octopamin, Synapsin, Na ⁺ K ⁺ -ATPase	. 133
Abb. 67: Badapplikation von Serotonin.	. 138
Abb. 68: Relative Helligkeiten der einzelnen Leuchtorgantypen	. 139
Abb. 69: Vergleich Fluktuation Lichtproduktion und Anstellwinkel Abdomen	. 141
Abb. 70: Latenz und Leuchtdauer bei Beleuchtungsstimulation	. 143
Abb. 71: Injektion von Fast Green in die Hämolymphe.	. 144
Abb. 72: Latenz und Leuchtdauer bei Injektion von Serotonin in die Hämolymphe	. 147
Abb. 73: Latenz und Leuchtdauer bei Serotonininjektion - Vergleich Leuchtorgantyper	ı. 148
Abb. 74: Abhängigkeit von Latenz und Leuchtdauer vom Körpergewicht	. 149
Abb. 75: Variabilität von Latenz und Leuchtdauer verschiedener Forschungsreisen	. 150
Abb. 76: Repetitive Injektion von Serotonin (Aufzeichnungsverlauf)	. 151
Abb. 77: Repetitive Injektion von Serotonin (Statistik)	. 153
Abb. 78: Repetitive Injektion von Serotonin (akkumulierend)	. 155
Abb. 79: Latenz und Leuchtdauer pharmakologische Messungen (Dezember 2001)	. 156
Abb. 80: Latenz und Leuchtdauer pharmakologische Messungen (März 2003)	. 158
Abb. 81: Extinktionskurven der Wassersäule des Gullmarfjord	. 162
Abb. 82: Helligkeitsvariabilität an der Oberfläche und in 60 m Tiefe	. 163
Abb. 83: Kurzzeitige Veränderungen der Helligkeit im Tagesverlauf	. 164
Abb. 84: Beleuchtungsstärkeschwankungen bei einzelnen Wolkendurchgängen	. 165
Abb. 85: Wassertemperatur und Trübungsgrad	. 166
Abb. 86: Sonaraufzeichnungen vom Fjord.	. 167
Abb. 87: Beispiel für Sondenaufzeichnung (Biolumineszenzmessung)	. 168
Abb. 88: Messung Biolumineszenz in 20 Metern Tiefe bei Vollmond	. 169
Abb. 89: Blitze pro Stunde in unterschiedlichen Tiefen	. 170
Abb. 90: Anzahl Blitze pro Viertelstunde in verschiedenen Tiefen (zeitgleich)	. 172
Abb. 91: Anzahl Blitze pro Viertelstunde in gleicher Tiefe (aufeinander folgende Tage)	173
Abb. 92: Kategorien der verschiedenen Blitzformen	. 174
Abb. 93: Dauer der Blitze in den verschiedenen Kategorien.	176

Abb. 94: Variabilität der Anzahl der Blitze in den einzelnen Kategorien
Abb. 95: Prozentuale Anteile der Blitze der einzelnen Kategorien
Abb. 96: Abstände zwischen aufeinanderfolgenden Blitzen
Abb. 97: Abstände zwischen Blitzen in verschiedenen Tiefen (Frühjahr)
Abb. 98: Abstände zwischen Blitzen in verschiedenen Tiefen (Herbst)
Abb. 99: Spontane Biolumineszenz im Labor (Krill, Tiefenplankton, Dinoflagellaten) 183
Abb. 100: Spontane Biolumineszenz im Labor über 24 Stunden
Abb. 101: Spontane Biolumineszenz im Oberflächenwasser
Abb. 102: Stimulierte Biolumineszenz im Oberflächenwasser
Abb. 103: Tiefenplankton mit komplexer Biolumineszenz
Abb. 104: Leuchtereignisse bei freischwimmendem Krill nach Serotonininjektion 189
Abb. 105: Biolumineszenz von Krill bei mechanischer Stimulierung
Abb. 106: Beispiele komplexer Leuchtereignisse im Freiwasser
Abb. 107: Kameraaufnahme im Freiwasser des Gullmarfjord unter Rotlicht 192
Abb. 108: Biolumineszenz bei Kronenqualle Periphylla periphylla
Abb. 109: Analyse zeitlicher Verlauf der Biolumineszenz bei Periphylla
Abb. 110: 3D-Darstellung der Schwimmtrajektorien von M. norvegica
Diskussion
Abb. 111: Modifizierte Schemazeichnung eines abdominalen Leuchtorgans 207
Abb. 112: Schemazeichnung der Rotation thorakaler Leuchtorgane
Abb. 113: Schema (Übersicht) der Rotation der abdominalen Leuchtorgane
Abb. 114: Schema (Modell) für die Rotation der abdominalen Leuchtorgane 213
Abb. 115: Modell für die Regulierung des Leuchtens auf zellulärer Ebene

Tabellenverzeichnis - xiii -

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Zusammensetzung des Planktons in der Antarktis nach Hardy (1967)
Tab. 2: Leuchtdauer und Latenz nach Lichtstimulation
Tab. 3: Zeitlicher Verlauf der Verteilung von Farbstoff "FastGreen" in der Hämolymphe. 145
Tab. 4: Pharmakologische Messungen im Dezember 2001
Tab. 5: Pharmakologische Messungen im März 2003
Γab. 6: Durchschnittliche Anzahl von Blitzen pro Stunde im Freiwasser
Tab. 7: Häufigkeitsverteilung und Dauer der Blitze in den 6 Kategorien
Tab. 8: Prozentuale Verteilung der Blitzabstände aufeinander folgender Blitze 180
Γab. 9: Kategorisiertes Schwimmverhalten von M. norvegica im Labor

Einleitung - 1 -

1. Einleitung

Um die Verwendung von Sinnesorganen für spezifische Aufgaben zu verstehen, ist es nötig, das natürliche Umfeld der untersuchten Art, sein Beziehungsgeflecht zu anderen Arten, die Wirkung von abiotischen Faktoren und innerartliche Verhaltensweisen gut zu kennen. Die Leuchtkrebse (Euphausiaceen), oft auch als "Krill" bezeichnet (norwegisch für "Walnahrung"), nehmen eine zentrale Stellung zwischen Primärproduzenten und Sekundärkonsumenten ein und bilden so einen wichtigen Bestandteil der marinen Nahrungsketten (Hill et al., 2006).

Wegen der zentralen Stellung im marinen Nahrungsgefüge wurden sehr viele Studien durchgeführt, welche diese Rolle genauer untersucht haben. Im Mittelpunkt des aktuellen öffentlichen Interesses stehen dabei Veränderungen durch die globale Erwärmung (Reid & Croxall, 2001; Verity et al., 2002; Richardson, 2008; Moloney et al., 2011), welche besonders in den arktischen und antarktischen Meeresgebieten starke Auswirkungen haben kann (u. a. starker Anstieg der Durchschnittstemperaturen, starke Abnahme der Meereisbedeckung).

So ist der Bestand an Antarktischem Krill (Euphausia superba) im Südwestatlantik in den vergangenen 30 Jahren Schätzungen zufolge um gut 80% gesunken - dieser Meeresbereich beinhaltete mehr als 50% des gesamten Antarktischen Krills (Atkinson et al., 2004). Im gleichen Maße, wie der Krillbestand zurückgegangen ist, hat sich die Abundanz von Salpen (vorwiegend Salpa thompsoni) vergrößert, da diese Tiere z. B. höhere Wassertemperaturen tolerieren. Krill ist wie viele andere Arten ein tageszeitlicher Vertikalwanderer (s.u.), so dass die kontinuierliche Abnahme des Sauerstoffgehalts in der Wasserschicht von 300-700 Meter Tiefe innerhalb der letzten 50 Jahre (Stramma et al., 2008) möglicherweise auch einen starken Einfluss auf die marinen Nahrungsketten haben kann.

Physiologische Anpassungsfähigkeit, z. B. die Tolerierung veränderter Durchschnittstemperaturen (Clarke, 1991), aber auch die schnelle evolutionäre Anpassung an die Veränderungen durch den Klimawandel (Berteaux et al., 2004; Bradshaw & Holzapfel, 2006; Parmesan, 2006) könnten dazu beitragen, die Nahrungsnetze zu stabilisieren und einzelnen Arten das Überleben sichern (Cresswell et al., 2008).

- 2 - Einleitung

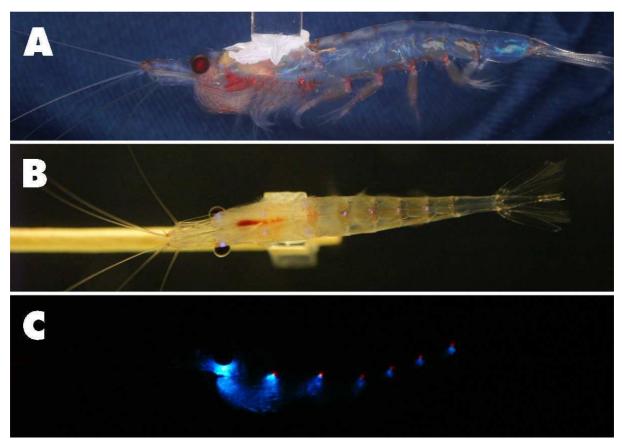


Abbildung I. Meganyctiphanes norvegica, Fotos von Torsten Fregin. [A] Laterale Aufnahme. [B] Leuchtendes Tier im Halbdunkel von ventral. [C] Leuchtendes Tier in Dunkelheit von lateral. Belichtungszeit 30 Sekunden.

Für das Verständnis der Nahrungsketten und die Dynamik ihrer Veränderungen sind die genaue Kenntnis der beteiligten Arten und ihrer physiologischen Eigenschaften nötig (Nicol, 2003). Die Biolumineszenz, welcher die Leuchtkrebse ihren deutschen Namen verdanken (Abbildung 1), wurde bisher nur wenig untersucht. Die Lichtproduktion konnte unter natürlichen Bedingungen nur zufällig beobachtet werden, und bisher ist ihre Rolle im Leben dieser Tiere noch völlig unklar.

1.1 Krill und sein Lebensraum

Diese meist hochozeanisch in fast allen Meeren epi- und mesopelagisch vorkommenden Tiere bilden, mit ca. 86 Arten in 10 Gattungen, als Euphausiacea (mit den Mysidacea und Syncarida) zusammen mit ihrer Schwestergruppe den Dekapoda die Eucarida. Die Familie der Bentheuphausiidae mit einer Art besitzen keine Leuchtorgane, und stehen der Familie der Euphausiidae gegenüber. Diese besitzen im Grundbauplan 10 Leuchtorgane: jeweils eins in den Augenstielen, jeweils zwei paarige im 2. und 7. Thoraxsegment, sowie vier unpaare in den

Einleitung - 3 -

ersten vier Abdominalsegmenten. Bei einigen räuberischen Arten (*Stylocheiron*) ist die Anzahl reduziert, diese Tiere haben nur fünf Leuchtorgane (die anterioren thorakalen sowie die posterioren drei im Abdomen fehlen).

Am bekanntesten ist die Antarktische Art Euphausia superba DANA, die bis zu 6,5 cm groß werden kann, und als "Krill" im eigentlichen Sinne zu verstehen ist. Als "Nordischer bzw. Nördlicher Krill" wird die im Nordatlantik und Mittelmeer vorkommende Art Meganyctiphanes norvegica (M. SARS) bezeichnet, die ca. 4 cm groß wird. Französische Autoren sprechen oft auch vom "Mediterranen Krill". Im Pazifik ist die bis 2,5 cm große Art Euphausia pacifica HANSEN dominierend. Oftmals kommen im selben Verbreitungsgebiet mehrere Arten gleichzeitig vor, so Euphausia crystallorophias ebenfalls in der Antarktis, oder Thysanoessa raschii im Verbreitungsgebiet von Meganyctiphanes norvegica, und oft werden mehrere Arten in einem Netzfang gleichzeitig gefunden.

Euphausiaceen sind Filtrierer, die mit den ersten sechs Thorakopodenpaaren (Abbildung 2) einen Fangkorb bilden und entweder durch Vorwärtsschwimmen mit geöffnetem Fangkorb oder durch spezifische Filtrierbewegungen Nahrungspartikel aus dem Wasser filtern. Im allgemeinen sind sie omnivor, und nehmen Phytoplankton, Copepoden und ähnlich kleine Nahrungspartikel auf.

Jahreszeiten, die wenig oder kein Phytoplankton bieten, werden über verschiedene Anpassungen überstanden, zu denen Hungern, Körpergrößenreduzierung, Eisalgenverzehr, Wachsesterspeicherung während größerem Nahrungsangebots gehören (Quetin & Ross, 1991).

Die Schwimmbewegung wird durch den synchronen Schlag der fünf Pleopodenpaare ermöglicht, und kann kurzfristig eine Geschwindigkeit von bis zu 60 Zentimeter pro Sekunde betragen, diese liegt aber durchschnittlich wesentlich niedriger bei ca. 5-20 cm pro Sekunde. Beim Fluchtreflex mittels Schwanzschlag ("tail flip") erreichen sie bis zu 100 cm pro Sekunde (Kils, 1979).

Am besten untersucht ist der Lebenskreislauf beim Antarktischen Krill, *E. superba*. Die adulten Tiere können mehrfach im Jahr laichen, abhängig von der Nahrungssituation; Hauptlaichzeit ist während der Frühjahrsplanktonblüte. Bei der Begattung übertragen die Männchen mittels der beiden vorderen Pleopoden (Petasma) Spermatophoren auf die Weibchen. Nach der

- 4 - Einleitung

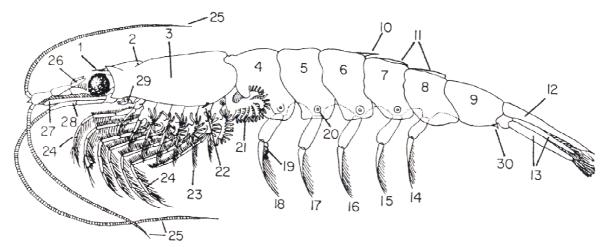


Abbildung 2. Äußere Morphologie eines Euphausiid, nach Mauchline & Fisher (1969). I, Rostrum; 2, Nackenfurche; 3, Carapax, den Cephalothorax überdeckend; 4-9, sechs abdominale Segmente; 10, dorsaler Dorn; 11, dorsal Kiel; 12, Telson; 13, Uropoden; 14-17, fünftes bis zweites Pleopodenbeinpaar; 18, erstes männliches Pleopodenpaar mit 19, Petasma; 20, Leuchtorgan des zweiten abdominalen Segments; 21, Kiemen; 22, laterales Zähnchen des Carapax; 23, Exopodit des sechsten Thoraxbeines; 24, Endopoditen des ersten und sechsten Thoraxbeines; 25, Flagellen der ersten und zweiten Antenne (Antennule bzw. Antenne); 26, Lappen des Peduncle der Antennule; 27, Antennale Schuppe; 28, Peduncle der Antenne; 29, Mundwerkzeuge; 30, Präanaler Dorn des sechsten abdominalen Segments. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von Elsevier Ltd.

externen Befruchtung sinken die oberflächennah abgegebenen Eier bis zum Schlupf der Nauplien innerhalb von 4-6 Tagen in Tiefen von 800-1500 Meter ab. Die geschlüpften Nauplien sinken noch einen weiteren Tag ab, und steigen dann auf bis zu 250 Meter Tiefe auf. Die Calyptopis I, das erste Stadium mit Mund und der Ernährung dienenden Körperanhängen, steigt in flache Schichten auf, wo sie sich von Phytoplankton ernährt. Über drei Calyptopisund sechs Furcillia-Stadien wandeln sich die Tiere in 4-9 Monaten in Juvenilstadien um, die dann zu den Adulttieren heranreifen (Ikeda et al., 1985; Ross & Quetin, 2000).

E. superba kann ein Alter von über 5 Jahren erreichen (Ikeda & Thomas, 1987). Lange nahm man an, dass die Tiere nur 2-3 Jahre alt werden können, aber durch Schrumpfungseffekte (Nicol et al., 1992; Marinovic & Mangel, 1999) im Winterhalbjahr ist die ursprüngliche Größenklasseneinteilung irreführend gewesen, weswegen jetzt die Augen für die Altersbestimmung herangezogen werden (Sun et al., 1995).

Krill neigt zur Schwarmbildung (Tarling et al., 2009). In der Antarktis dienen große Schwärme von *E. superba* als wichtige Nahrungsquelle für Bartenwale. Schwärme von *M. norvegica* wurden an der kanadischen Atlantikküste beobachtet und scheinen dort wie generell im Atlantik ebenfalls als wichtige Walnahrung zu dienen (Murase et al., 2002; Cotte & Simard, 2005).

Einleitung - 5 -

Kleine Schwärme von *M. norvegica* wurden auch im Oslofjord beobachtet (Macdonald, 1927). Schwärme von *Nyctiphanes australis* stranden regelmäßig an Tasmanischen Stränden (O'Brien et al., 1986; O'Brien, 1988). In Gefangenschaft bildet *Euphausia superba* ab einer bestimmten Populationsdichte im Aquarium Schwärme, bei niedrigerer Anzahl schwimmen die Tiere ohne Orientierung zu den Artgenossen (Kawaguchi et al., 2010).

Die meisten Euphausiaceenarten leben vermutlich die meiste Zeit in Schwärmen, dies ist aber noch nicht bewiesen (Nicol, 2003). Erwachsene Tiere, die außerhalb von Schwärmen beobachtet werden, sind oft krank oder verletzt (Hamner et al., 1983), aber ein Teil des Krillbestandes kommt wohl auch in Form isoliert lebender Individuen vor (Fischer & Mohr, 1978). Schwärme wurden bei vielen Arten beobachtet, aber welchen Anteil ihrer Lebenszeit die Tiere in ihnen verbringen, ist noch unbekannt. Zwar sind die Leuchtkrebse generell tageszeitliche Vertikalwanderer (siehe dort), aber es bleiben doch in den einzelnen Schichten relativ viele Tiere übrig, die anscheinend nicht wandern, oder aber in Abhängigkeit des Füllstandes des Magens, bis zu dreimal pro Nacht auf- und absteigen (Tarling & Johnson, 2006).

Ein Großteil der bisherigen Studien hat sich vor allem auf die geographische Verbreitung und Abundanz des Antarktischen Krills (*Euphausia superba* DANA), sein Nahrungsspektrum, seinen Fortpflanzungsrhythmus sowie seine ontogenetische Entwicklung konzentriert (Siegel & Kalinowski, 1994; Siegel, 2005). Physiologische Studien wurden meist unter ähnlichen Gesichtspunkten durchgeführt: Energiestoffwechsel, Sauerstoffverbrauch, Lipidstoffwechsel, Größenwachstum (Übersichten: Clarke & Morris, 1983; Buchholz, 2003).

Dabei wurden die Biomasse- und Abundanzuntersuchungen oftmals unter dem Gesichtspunkt der industriellen Nutzbarkeit des Antarktischen Krills *Euphausia superba* DANA durchgeführt (Nicol & Endo, 1999). Krill kann in einem Seegebiet bis zu 50% der gesamten Zooplanktonbiomasse ausmachen (Hopkins, 1985). Ursprüngliche optimistische Schätzungen gingen von einer Biomasse von mehr als einer Milliarde Tonnen Krill in der gesamten Antarktis aus, aktuelle Schätzungen kommen auf wesentlich niedrigere Werte von ca. 60 Millionen Tonnen (Demer, 2004; Hewitt et al., 2004). Dieses ist auf die Schwierigkeit der genauen Bestimmung des durchschnittlichen Biomassewerts zurückzuführen, da der Antarktische Krill meist in Schwärmen angetroffen wird, deren Größen oftmals nur geschätzt werden konnten. Dazu kamen Ungenauigkeiten der Messungen mittels Sonar, die oftmals ganz

- 6 - Einleitung

andere Werte erbrachten als zeitgleiche Messungen mittels Netzfang (G. Tarling, persönliche Mitteilung).

Viele Studien haben sich mit dem Lebenszyklus (Englisch "life history") beschäftigt (Marr, 1962; Mauchline & Fisher, 1969). Dabei stand die tageszeitliche Vertikalwanderung (s.u.) (Lampert, 1989) (Englisch: "diel vertical migration DVM") dieser Tiere unter besonderer Aufmerksamkeit (Onsrud & Kaartvedt, 1998), und auch die Schwarmbildung und ihre verschiedenen Parameter wurden untersucht (Hamner et al., 1983; Strand & Hamner, 1990) (Hampton, 1982; Naito et al., 1986; Watkins et al., 1986; Barange et al., 1993).

Die Biomasseverteilung tritt in marinen Lebensräumen mit relativ großen räumlichen und jahreszeitlichen Dichteunterschieden auf (Hardy & Gunter, 1935), so dass von einem Flickenteppich gesprochen werden kann (Mackas et al., 1985) (in der englischsprachigen Literatur werden dabei die Begriffe "patch" bzw. "patchiness" verwendet).

Diese Ungleichverteilung (Haury et al., 1978) hängt wesentlich mit der Dynamik des Wasserkörpers (Legendre & Demers, 1984; Mackas et al., 1985; Umani et al., 2005), mit dem Verlauf von Strömungen, internen Wellen, Langmuir-Zellen, Temperatursprungschichten (Derenbach et al., 1979), Windeinwirkung, Meerestiefe, sowie der dadurch bedingten Verteilung von im Wasser gelösten Nährstoffen und Spurenelemente wie z. B. Eisen, Stickstoff und Phosphat zusammen. Von diesem Nährstoffangebot sowie dem solaren Energieeintrag sind Phytoplanktonblüten abhängig. Auch sehr kleine Zooplankter können dabei ihre Tiefenverteilung durch aktives Schwimmen gegen Strömungen halten (Genin et al., 2005). Desweiteren kann die Zusammensetzung der Primärproduzenten durch Primärkonsumenten oder andere biologische Gründe massiv verändert werden (Perissinotto, 1992; Folt & Burns, 1999).

So fiel A.C. Hardy auf der Expedition des Forschungsschiffs "Discovery" (1925-1927) auf, dass das Phytoplankton sowie diverse andere Arten in sehr unterschiedlichen Abundanzen vorkommen (Hardy, 1967): mit zunehmendem Phytoplankton nehmen auch andere Arten an Individuenanzahl zu, bis es ab einer bestimmten Konzentration zu einer Umkehr kommt (Tabelle 1). Hardy schloss daraus, dass es bei zu hohen Phytoplanktonkonzentrationen zu negativen Auswirkungen auf die Konsumenten kommen könnte; er mochte die Verteilung nicht nur auf das Abweiden (Englisch: "grazing") des Phytoplanktons durch die Konsumenten

Einleitung - 7 -

zurückführen. Mittlerweile scheint es aber eher so, dass verschiedene Faktoren wirken (Priddle et al., 1986): Krillschwärme sind ebenso wie hohe Phytoplanktonkonzentrationen im Wasser verteilt und auf der Suche nach Phytoplanktonansammlungen. Niedrige Phytoplanktonkonzentrationen bei gleichzeitig hohen Konsumentenanzahlen weisen eher darauf hin, dass eine ehemals hohe Phytoplanktonanzahl schon stark abgeweidet wurde, hohe Phytoplanktonkonzentrationen weisen darauf hin, dass der Fleck von den Konsumenten noch nicht lokalisisert wurde. Desweiteren filtern Euphausiaceen bevorzugt Phytoplanktonzellen > 20 µm aus dem Wasser, kleinere gelangen relativ ungestört durch den Fangkorb (Meyer & El-Sayed, 1983). Eine abgegraste Phytoplanktonstelle weist vor allem kleine und kaum noch große Phytoplanktoneinzeller auf.

Diese Ungleichverteilung des Phytoplanktons dürfte den Hauptgrund für die Schwarmbildung (als evolutionär stabile Strategie ESS) bei Euphausiaceen im Südpolarmeer darstellen (Wolf & Mangel, 2007). Die Nahrungsgrundlage ist ungleich verteilt, und es ist nicht sicher, wo sie als nächstes anzutreffen sein wird. Es sind oftmals lange Strecken zwischen den Orten mit hohen Nahrungskonzentrationen zu überwinden. Auf diesen Wanderstrecken bildet ein Schwarm gegenüber solitären Individuen (Major, 1978; Nicol & Odor, 1985) besonders unter Bedingungen der Dauerhelligkeit im Hochsommer in hohen nördlichen bzw. südlichen Breiten (Major, 1978; Blachowiak-Samolyk et al., 2006) eine erhöhte Sicherheit gegen Fraßfeinde. Des Weiteren ist die Wanderung im Schwarm vermutlich energiesparend (Ritz et al., 2001). In den Weidegründen selbst herrscht durch die hohen Konzentrationen an Nahrungspartikeln zwischen den Individuen einer Art relativ wenig Nahrungskonkurrenz. Dabei ist die Aufhebung der Schwarmformation offenbar nicht nötig, auch im Schwarm können die Einzelindividuen genügend Nahrung aufnehmen (Antezana et al., 1982).

Tabelle I. Zusammensetzung des Planktons an 43 verschiedenen Meßstationen (in 6 Gruppen zusammengefasst) im Südatlantik vor der Antarktis. Aus Hardy A.C. (1967) S. 335.

Phytoplankton values averaged	Euphausia Superba	E. frigida	Thysan- oessa	Para- themisto	Salpa fusiformis
57,500	289	3	17	48	38
290,000	1913	44	57	266	1781
483,000	95I	47	94	44	1051
2,064,000	369	76	136	87	675
50,936,500	31	15	138	53	246
315,125,000	41	2	69	45	49

- 8 - Einleitung

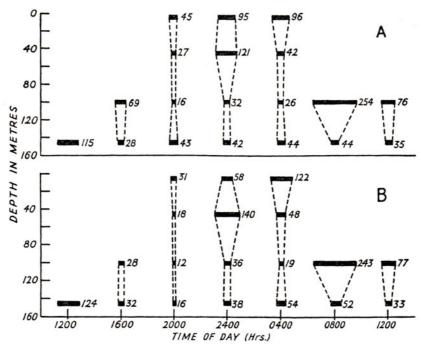


Abbildung 3. Tageszeitliche Vertikalwanderung von M. norvegica nach Mauchline (1960). [A] Männchen [B] Weibchen. Während der Mittagszeit ist die gesamte Population am Grunde der Clyde Sea konzentriert, wohingegen sie um Mitternacht sich vor allem in flachen Schichten verteilt. Abbildung reproduziert mit Genehmigung der Royal Society of Edinburgh.

Anders als nach Jahrzehnten der Forschung zu erwarten, ist aber über die Schwarmbildung vor allem bei nordischen Arten wenig bekannt. Weder ist bekannt, wie lange Schwärme bestehen, noch, ob sie das ganze Jahr über vorhanden sind. Es wird vermutet, dass sie vor allem im Frühjahr zur Fortpflanzungszeit gebildet werden (Mauchline, 1984) und das die Leuchtorgane eine Rolle in der Kommunikation, die zur Schwarmbildung führt, spielen. Beim Antarktischen Krill *Euphausia superba* bestehen die großen Schwärme vermutlich nur während der antarktischen Sommermonate, während sie sich im Winterhalbjahr auflösen, und die Tiere in kleinen Gruppen von durchschnittlich 20-50 Individuen sich unter dem Packeis von Eisalgen ernähren (O'Brien, 1987b).

1.2 Besonderheiten des marinen Lebensraumes im Übergang zur Tiefsee

In der Umgebung des schwachen Zwielichts am Übergang zur totalen Finsternis der Tiefsee, kommen die Tiere an die Grenzen der Leistungsfähigkeit optischer Sinnesorgane. Der stärkste Kontrast, der hier zu finden ist, stammt von der Silhouette, die ein undurchsichtiger Körper gegenüber dem von der Wasseroberfläche noch vordringenden Lichtstrahlen einem unterhalb befindlichen anderen Organismus bietet.

Einleitung - 9 -

Es ist daher oft postuliert worden, dass es viele Arten gibt, die auf diese Art und Weise auf die Jagd nach Beute gehen, und es daher einen starken Selektionsdruck gibt, diese Silhouette aufzulösen und den Kontrast zu minimieren. Dafür sind drei mögliche Wege vorgeschlagen worden: 1. Tageszeitliche Vertikalwanderung, 2. durchsichtige Körper und 3. Gegenlichterzeugung.

1.2.1 Tageszeitliche Vertikalwanderung

Die Arten wandern in die komplett lichtlosen Tiefen ab, womit sie dann aber auch von der wesentlich höheren Biomassekonzentration in den flachen, lichtdurchfluteten Zonen mit hoher Primärproduktion direkt unterhalb der Wasseroberfläche abgeschnitten wären. Daher haben sehr viele Arten eine tageszeitliche Vertikalwanderung (Englisch "diel vertical migration DVM"; diese Abkürzung wird im weiteren verwendet) entwickelt: sie wandern im Wasserkörper über große vertikale Strecken, oftmals mehrere hundert Meter (Lampert, 1989). Tagsüber sind sie in großen Tiefen anzutreffen, bei der Abenddämmerung wandern sie dann in flache Schichten, und bei der beginnenden Morgendämmerung steigen sie wieder in tiefere Schichten ab (Clarke & Backus, 1956; Onsrud & Kaartvedt, 1998). Dabei orientieren sie sich vermutlich an einer für sie typischen Helligkeit (Isolumen) (Roe et al., 1984; Widder & Frank, 2001). Diese beträgt bei M. norvegica ca. 4,6 x 10^{-6} bis 2,3 x 10^{-4} µmol Photonen m $^{-2}$ s $^{-1}$ (Onsrud & Kaartvedt, 1998). Solche Vertikalwanderer reagieren schon positiv auf die schwachen Helligkeitsveränderungen, die durch eine partielle Sonnenfinsternis ausgelöst werden, und verringern ihre Tiefe relativ zur Abnahme der Helligkeit der durch den Mond verdeckten Sonne (Backus et al., 1965; Bright et al., 1972; Tarling et al., 1999; Strömberg et al., 2002). Arten, die von tageszeitlichen Vertikalwanderern bejagt werden, können entgegengesetzt migrieren (Tarling et al., 2003).

Die DVM wird zwar proximal durch die Lichtintensität ausgelöst, aber zumindestens bei Copepoden ist eine Kontrolle des Anpassungsdrucks gegeben: ohne Fraßdruck geben diese Krebse innerhalb einer Woche die Vertikalwanderung auf (Bollens & Frost, 1989). So ist DVM wohl immer ein Kompromiss zwischen optimaler Nahrungsaufnahme und der Vermeidung von Fraßdruck (Liu et al., 2003). Dieses wurde in der "Hunger-Sättigungs-Hypothese" ("hunger-satiation-hypothese") als ultimativer Grund für die DMV beschrieben, als Kompromiss zwischen der Sicherheit von tieferen, dunkleren, kälteren und nahrungsarmen und somit das Wachstum verlangsamenden Wasserschichten und der höheren Entwicklungsrate in den

- 10 - Einleitung

oberflächennahen Schichten mit höherer Temperatur und höherem Nahrungsangebot (Pearre, 2003).

1.2.2 Durchsichtiger Körper

Ein möglichst durchsichtiger Körper absorbiert weniger Licht, und tatsächlich besitzen viele Tiefseeorganismen bis zu einer bestimmten Tiefe fast farblose, durchsichtige Körper (McFall-Ngai, 1990; Johnsen, 2001; Johnsen, 2003). Ab einer Tiefe von ungefähr 500 Metern nehmen hingegen stark rot gefärbte Körperfarben zu. Es wird vermutet, dass diese Körperfärbung sowohl noch von der Oberfläche kommendes Restlicht, als auch von biolumineszenten Organismen ausgestrahltes Licht absorbiert und so eine Rückstrahlung vermindert (Yaldwyn, 1963). Organismen, die sich von biolumineszenten Arten ernähren, haben oftmals eine starke Pigmentierung um Magen und Verdauungsorgane, höchstwahrscheinlich um die Abstrahlung von Licht zu vermeiden (McAllister, 1967). Eine bisher wenig beachtete Gruppe mit mehrheitlich durchsichtigen Körpern bilden die im Englischen als "gelatinous organisms" bezeichneten Tiere, also z. B. viele Cnidaria, Ctenophora und Tentaculata. Diese machen ca. 20–30% der gesamten Biomasse aus (Pugh, 1989). Ihre Bedeutung wurde in der Vergangenheit massiv unterschätzt, da sie oftmals durch den Fang mit Netzen gar nicht an Bord geholt werden konnten, oder aber extra so gefischt wurde, um möglichst wenige Exemplare als "Beifang" zu haben, um die übrigen Tiere (v. a. Fische und Krebse) nicht zu vernesseln.

1.2.3 Gegenlichterzeugung (Englisch "counterillumination", "countershading")

Neben der Durchsichtigkeit, welche einen möglichst schwachen Schattenwurf bedingen soll, gibt es einen ähnlichen Wirkmechanismus bei Flachwasserarten, die im allgemeinen dunkle Dorsalseiten und helle Ventralseiten besitzen (Ruxton et al., 2004, Rowland, 2009). Hier wird zwar nicht das Durchdringen des Lichts durch den Körper ermöglicht, aber die Anpassung der Farbe der Bauchseite verringert den Kontrast. Eine Verstärkung dieses Effekts ergibt sich, wenn ein Tier die Umgebungshelligkeit messen kann und über ventral ausgerichtete und in der Helligkeit modulierbare Leuchtorgane verfügt (Dahlgren, 1916): diese Gegenbeleuchtung (Englisch "counterillumination" oder "countershading") wird bei vielen Arten als Hauptzweck der Leuchtorgane hypothetisiert (Clarke, 1963).

Einleitung - 11 -

Diese Tiere sollen das von ihren Körpern absorbierte Licht mit ihren Leuchtorganen neu erzeugen und in der richtigen Intensität nach ventral abstrahlen, wobei dies ein sehr präziser Vorgang sein muss; andernfalls könnte bei einer zu starken Lichtsabgabe ein gegenteiliger Effekt eintreten. Beim zu den Laternenfischen (Myctophidae) gehörenden *Symbolophorus californiensis*, einem bis 5 cm großen Fisch, der bis zu 70 Leuchtorgane auf der Ventralseite besitzt, konnte die Helligkeit der Leuchtorgane in Abhängigkeit von der Umgebungshelligkeit gemessen werden und es zeigte sich, dass die Tiere ihre Helligkeit auf Veränderungen hin nachregulierten (Case et al., 1977). Beim Nördlichen Bootsmannfisch *Porichthys notatus* konnte eine solche Helligkeitsregulierung der Leuchtorgane in Relation zur Umgebungshelligkeit ebenfalls gemessen werden (Harper & Case, 1999). Ähnliche Messungen gibt es auch bei Ponyfischen (Leiognathidae) (McFall-Ngai & Morin, 1991; Latz & Case, 1992). Bei dem Cephalopoden *Erprymna scolopes* konnte eine Modulation der Lichtabgabe in Relation zur Umgebungshelligkeit gezeigt werden (Jones & Nishiguchi, 2004).

Bei den Laternenfischen (Myctophidae) wurde gezeigt, dass sie ein kleines Leuchtorgan oberhalb des Auges besitzen, welches direkt durch das Auge auf einen kleinen Bereich der Retina leuchtet (Lawry, 1974). Dieses ermöglicht es diesen biolumineszenten Tieren vermutlich, ihre eigene Leuchtkraft in Relation zum Umgebungslicht zu messen.

Auch die spektrale Zusammensetzung der Biolumineszenz spricht für die Hypothese der Gegenbeleuchtung, da die Tiere vor allem blaues Licht im Bereich von 460-490 nm abstrahlen. Diese Wellenlängen werden am wenigsten von Meerwasser absorbiert (Tyler, 1959; Smith & Baker, 1981), dringen daher am weitesten in die Tiefe vor und prägen das Lichtklima entscheidend.

Interessant sind Anpassungen bei einigen Arten, die sich anscheinend auf die Jagd nach gegenlichtenden Organismen spezialisiert haben. So gibt es bei der Fischfamilie der Notosudidae in der Art *Scopelosaurus lepidus* eine extrem konvex gewölbte (Englisch "convexiclivate") Fovea, die von einer Punktquelle kommendes Licht gegenüber diffusem Umgebungslicht freistellt (Steenstrup & Munk, 1980). Biolumineszente Ereignisse können gut als Punktlichtquellen betrachtet werden (Kirk, 2006). Die gelben Linsen in den Augen mesopelagischer Fische werden oftmals als Filter für kurzwelliges Licht angesehen (Somiya, 1976; Muntz, 1976), was es den Fischen ermöglichen könnte, die Biolumineszenz von anderen Arten zu erkennen, die eine leichte Verschiebung ihres Spektrums gegenüber dem

- 12 - Einleitung

Umgebungslicht aufweisen (Young, 1983; Herring, 2000; Warrant et al., 2003; Warrant & Locket, 2004).

1.3 DVM, Körperdurchsichtigkeit und Gegenlichterzeugung bei Euphausiaceen

Für Euphausiaceen treffen im allgemeinen alle drei Funktionen zu: sie sind tageszeitliche Vertikalmigranten (Abbildung 3) (Mauchline, 1960; Marr, 1962; Mauchline & Fisher, 1969; Sameoto, 1980; Roe, 1984; Godlewska & Klusek, 1987; Andersen, 1991; Greene et al., 1992; Godlewska, 1996; Onsrud & Kaartvedt, 1998), haben einen oftmals fast durchsichtigen Körper (eigene Beobachtungen) und besitzen im Grundbauplan 10 ventral ausgerichtete Leuchtorgane (Vallentin & Cunningham, 1888; Chun, 1893; Giesbrecht, 1896; Mauchline & Fisher, 1969; Kampa & Boden, 1956; Boden & Kampa, 1959). Ob sie ihr Licht in Abhängigkeit von der Umgebungshelligkeit modulieren (können), ist nicht bekannt.

Die Biolumineszenz, welcher die Leuchtkrebse ihren deutschen Namen verdanken, wurde generell bisher wenig untersucht. Unter natürlichen Bedingungen ist die Lichtproduktion nur zufällig beobachtet worden und ihre Rolle im Leben dieser Tiere noch völlig unklar. Es gibt eine große Anzahl von Hypothesen, warum marine Organismen Licht produzieren, aber nur bei wenigen Arten konnte bisher ein Wirkzusammenhang ansatzweise nachgewiesen werden. Wenn der Fraßdruck ("patterns of predation risk") durch Räuber wie Fische und Wale der Schlüssel zum Verständnis für die Verbreitung von Krill in Raum und Zeit sowie seiner Körpergröße ist (Alonzo & Mangel, 2001) und Leuchtorgane gerade gegen Fraßfeinde eingesetzt werden, ist es unverständlich, dass die Bedeutung von Biolumineszenz im Leben von Euphausiaceen bisher nicht gründlicher untersucht wurde, könnte sie doch möglicherweise einen sehr wichtigen Aspekt im Wirkgefüge darstellen.

Einleitung - 13 -

1.4 Generelle Übersicht über Biolumineszenz

1.4.1 Verbreitung im Meer

Euphausiaceen leben in einem sehr biolumineszenten Umfeld. Bis ins 19. Jahrhundert wurde vermutet, dass in den Tiefen des Meeres kein Leben herrscht, sondern ab ca. 500 Metern eine azoische Zone vorhanden sei. Heute wissen wir, dass überall in der ca. 1 Milliarde Kubikkilometer Wassermasse, die in den Weltmeeren vorhanden ist, eine große und sehr diverse Anzahl von Arten lebt, und bei aktuellen Untersuchungen noch viele neue Arten gefunden werden (Brandt et al., 2007).

Das es viele (marine) biolumineszente Arten gibt, ist seit Aristoteles' Zeiten bekannt (Harvey, 1957), und viele Seeleute und auch Urlauber an den Küsten kennen das durch Bakterien und Dinoflagellaten ausgelöste Meeresleuchten, welches sogar aus dem Weltall beobachtbar ist (Miller et al., 2005). Während Biolumineszenz in terrestrischen Habitaten selten vorkommt, und in limnischen fast unbekannt ist, findet sie sich in marinen Lebensräumen in einer großen Formenfülle bei sehr vielen verschiedenen Arten, und in mehr als der Hälfte aller Tierstämme. So sind ca. 66% mesopelagischer Fischarten und bis zu 96,5% aller gefangenen Individuen biolumineszent (Beebe, 1937), und im Nordatlantik je nach Fangort 67-100% der in den oberen 500 Metern gefangenen dekapoden Krebse biolumineszent (Herring, 1976). Biolumineszenz kommt vielfach bei Bakterien, Dinoflagellaten, Nesseltieren, Rippenquallen, Annelieden, Insekten, Krebsen, Kopffüßlern, Schlangensternen, Seegurken, und Appendicularien vor, wobei unter den Vertebraten nur die Fische mit leuchtenden Vertretern bekannt sind. Es gibt eine große Anzahl von Übersichtsartikeln und Buchkapiteln mit taxonomischen Auflistungen, von denen hier nur einige zitiert werden können (Nicol, 1962; Nicol, 1963; Boden & Kampa, 1964; Tett & Kelly, 1973; Boden & Kampa, 1974; Herring, 1977; Kelly & Tett, 1978; Morin, 1983; Young, 1983; Herring, 1987; Hastings & Morin, 1991; Reynolds & Lutz, 2001; Widder, 2002; Robison, 2004; Haddock, 2006; Robison, 2008).

1.4.2 Verwendung

Es wurden über 24 verschiedene mögliche Kategorien für die Funktion von Biolumineszenz postuliert (generell Übersichten: (Otte, 1974; Lloyd, 1977), für marine Lebensräume im speziellen: (Buck, 1978; Morin, 1983; Young, 1983; Widder, 1999; Haddock et al., 2010). Sie

- 14 - Einleitung

können im allgemeinen in die drei Kategorien Nahrungssuche, innerartliche Kommunikation, sowie Verteidigung gegen Fraßfeinde aufgeteilt werde. Für die meisten dieser möglichen Funktionen gibt es bisher keine gesicherten Beobachtungen; sie beruhen oftmals auf Schlussfolgerungen, die aufgrund anatomischer Merkmale oder deduktiver Schlüsse ("es ist möglich, das") gezogen wurden, aber nicht selten als tautologisch und anthropomorph zu bewerten sind.

Im folgenden möchte ich einen kurzen Überblick geben über Biolumineszenz in marinen Lebensräumen, wie sie entsteht, welche Rollen für sie postuliert wurden und welche Ausprägungen es in den verschiedenen Stämmen des Tierreichs gibt (Herring, 1987; Widder, 2010). Anschließend berichte ich über die bisher bekannten Informationen über die Leuchtorgane bei Euphausiaceen, über beobachtetes spontanes und künstlich ausgelöstes Leuchten, ihre Morphologie und pharmakologischen Eigenschaften.

1.4.3 Wie wird Licht erzeugt?

Biolumineszenz ist eine katalysierte, exergonische chemische Reaktion. Dabei wird in den meisten Fällen ein organisches Substrat, dass Luciferin, von einem Enzym (der Luciferase) mittels Sauerstoff zum Peroxiluciferin oxidiert, welches einen angeregten Singulettzustand darstellt. Beim Rückfall eines Elektrons auf den Ausgangswert wird ein Photon emittiert. Durch die Verwendung des Sauerstoffs wird postuliert, dass dieses System ursprünglich unter reduzierenden Bedingungen zur Entgiftung von freien Radikalen oder ähnlich reaktiven Substanzen genutzt wurde und die Lichtproduktion ein Nebenprodukt war, welches erst später in der Evolution an Bedeutung gewann (Hastings & Nealson, 1977; Haddock et al., 2010).

Auch wenn sich die Begriffe Luciferin und Luciferase eingebürgert haben, sind die betreffenden Substrate und Enzyme art- bzw. stammspezifisch, und besitzen kaum bzw. keine Homologien. Sie sind im Verlaufe der Evolution polyphyletisch mindestens dreißigmal unabhängig voneinander entstanden (Buck, 1978; Hastings, 1983).

1.4.3.1 Bakterielle und intrinsische Lumineszenz und abgeleitete Leuchtorgane

Bei der Lichtproduktion in Leuchtorganen wird grundlegend zwischen der intrinsischen und der bakteriellen bzw. symbiotischen Biolumineszenz unterschieden. Bei ersterer produziert der Einleitung - 15 -

Organismus alle nötigen Enzyme und Substanzen selber (oder nimmt sie über die Nahrung auf) und kann die Lichtproduktion regulieren, indem die chemischen Reaktionen innerhalb der lichtproduzierenden Zellen, der sogenannten Photozyten, gesteuert werden. So kann auch die gesamte Lichtproduktion abgestellt werden. Die Steuerung erfolgt vermutlich in den meisten Fällen über die Begrenzung der Sauerstoffzufuhr. Dem gegenüber gibt es Leuchtorgane, in denen der Wirt mit Leuchtbakterien eine Symbiose eingegangen ist: er liefert die nötigen Nährstoffe, die Bakterien leuchten dauerhaft (Hastings, 1978; Hastings, 1983). Die Regulation der abgegebenen Lichtmenge erfolgt in diesem Fall über die Bakteriensuspension umhüllende Strukturen, z.B. irisähnliche Strukturen, wo die Lichtmenge proportional zur Offnungsweite ist. Die Form der (intrinsischen) Leuchtorgane kann von sehr einfachen Strukturen bis zu komplexen Organsystemen mit Linsen, Reflektoren und glasfaserähnlichen Lichtleitern ausgeprägt sein. In den verschiedenen Gruppen gibt es sehr unterschiedlich geformte Leuchtorgane, von einzelnen leuchtenden Epidermiszellen über Drüsen mit leuchtenden Sekreten (die ins Wasser abgegeben werden und dort zu leuchten anfangen) bis hin zu Photophoren, welche definiert sind als Licht erzeugende Organe, die über ein Tapetum, photogenische Zellen, und eine Linse verfügen und unter neuronaler Kontrolle stehen (Boden & Kampa, 1964).

Warum Bakterien Licht erzeugen, ist unbekannt (Urbanczyk et al., 2011). Es wird vermutet, dass aus einem chemischen Prozess, der zur Entgiftung freier Radikaler oder terminaler Oxidation diente, die heutige bakterielle Biolumineszenz evolutionär hervorgegangen ist. Biolumineszente Bakterien sind im Meer in großen Anzahlen vorhanden, freilebend oftmals in Verbindung mit Schwebeteilchen, dem sogenannten Marinen Schnee ("marine snow"). Diese Bakterien (Gattung *Photobacterium*) sind fakultative Leuchter, d. h. es ist eine Mindestkonzentration pro Milliliter erforderlich, ab der sie Dauerleuchten. Dies wird durch die kontinuierlich ins umgebene Medium abgegebene Substanz 3-Oxohexanoylhomoserinlacton kontrolliert, welche die Autoinduktion der für die Lumineszenz nötigen Proteine bewirkt (Nealson & Hastings, 1979; Winkler & Sicher, 1996; Wegrzyn & Czyz, 2002). Die nötigen Konzentrationen werden in den symbiotischen Leuchtorganen erreicht, oder in Ansammlungen von größeren Schwebepartikeln. Auch der Kot vieler Tiefseefische enthält oftmals viele biolumineszente Bakterien, so dass der Kot leuchtet (Andrews et al., 1984).

- 16 - Einleitung

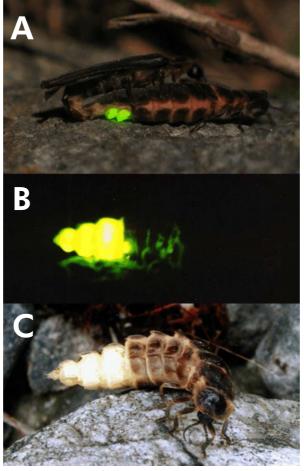


Abbildung 4. Leuchtkäfer Lampyris noctiluca (Lampyridae). [A] Adulttiere (nur Weibchen leuchten). [B] und [C] leuchtendes Larvenstadium. Fotos von Torsten Fregin. Männchen ca. 12 Millimeter lang, Weibchen und Larve ca. 18 Millimeter lang.

1.5 Beispiele für Verwendungsmechanismen von Biolumineszenz

Wenn man an Biolumineszenz denkt, fallen einem meistens als erstes terrestrische Leuchtkäfer ein (Abbildung 4). Bei diesen wurde eine innerartliche Kommunikation nachgewiesen, bei der sich die Männchen und Weibchen einer Art anhand der zeitlichen Abstände zwischen Einzelblitzen erkennen (Lewis & Cratsley, 2008). So antwortet z. B. in der Art *Photuris macdermotti* ein Weibchen mit 1 Sekunde Verzögerung auf zwei im Abstand von 2 Sekunden ausgesandte Blitze des Männchens, worauf dieses das Weibchen anfliegt (Lloyd, 1975). Daran angepasst gibt es räuberische Arten, die diesen Kode imitieren – dort wartet dann nicht das

Einleitung - 17 -

artgenossische Weibchen, sondern ein Weibchen der Art *Photuris versicolor*, die das Männchen fängt und verspeist (Lloyd, 1975).

Lange nahm man an, dass ein ähnlicher Mechanismus auch bei den in Deutschland einheimischen Lampyridae gilt. Bei in Europa einheimischen Arten ist allerdings gezeigt worden, dass die Geschlechtspartner sich über Pheromone finden, und die (dauerleuchtende) Biolumineszenz von am Boden sitzenden Weibchen wahrscheinlich nur der (aposematischen) Abschreckung von Fraßfeinden wie Kröten dient (De Cock & Matthysen, 2005) und nicht der Anlockung der (nicht biolumineszenten) Männchen. Gleiches gilt für die leuchtenden Larven von Lampyris noctiluca (De Cock & Matthysen, 2003). In den meisten Fällen herrschen wohl unterschiedliche selektive Drücke (Moosmann et al., 2009).

Bei marinen Organismen sind solche Zusammenhänge zwischen Biolumineszenz und Verhalten bisher wesentlich weniger aussagekräftig gezeigt worden. Dies liegt vor allem daran, dass bei Tiefseeorganismen die direkte Beobachtung oftmals großen technischen Aufwand benötigt, weswegen bisher oberflächennahe Biolumineszenz wesentlich besser analysiert ist.

1.5.1 Verwendung in verschiedenen marinen Gruppen

Neben der Gegenlichterzeugung stammen die meisten der bisher unter natürlichen Bedingungen beobachteten Lichtverwendungen aus dem Bereich der Räubervertreibung oder –abschreckung. Burkenroad schlug 1943 die Hypothese vor, dass das Licht, wenn es den Räuber nicht direkt erschreckt, möglicherweise einen Räuber zweiter Ordnung anlockt, welcher dem Räuber erster Ordnung nachstellt (Burkenroad, 1943). Diese Einbrecheralarm-Hypothese ("burglar alarm") hat viel Aufmerksamkeit erfahren, und es wurden viele Hinweise gefunden, die auf ihre ubiquitäre Verwendung deuten. Es gibt eine Reihe von Freilandbeobachtungen und aufschlussreiche Laborbeobachtungen, die im folgenden kurz vorgestellt werden und die Licht auf die Verwendungsmöglichkeiten der Biolumineszenz werfen.

1.5.1.1 Dinoflagellaten

Dinoflagellaten blitzen in Abhängigkeit von Scherrkräften im Wasser und blitzen ohne externen Stimulus seltener, zeigen aber oftmals einen circadianen Rhythmus (von Dassow et al., 2005; Cussatlegras & Le Gal, 2004; Buskey et al., 1992; Anderson et al., 1988; Tett, 1971).

- 18 - Einleitung

In einer ersten Studie haben Esaias und Curl (1972) Weideversuche mit Copepoden und biolumineszenten Dinoflagellaten durchgeführt. Sie stellten fest, das die Copepoden mit zunehmender Konzentration an Dinoflagellaten weniger von diesen konsumierten. White stellte ebenfalls fest, dass der Copepode *Acartia tonsa* bei hohen Dinoflagellatenkonzentrationen und damit vermehrt ausgelösten Blitzen von *Gonyaulax excavata* 50-75% weniger Nahrung aufnimmt, als bei niedrigen Konzentrationen (White, 1979).

Buskey und Swift untersuchten die Wirkung von simulierten Dinoflagellatenblitzen auf das Schwimmverhalten von Copepoden der Art *Acartia hudsonica* (Buskey & Swift, 1983; Buskey et al., 1983). Die Copepoden reagierten auf einen einzelnen Blitz mit einem kurzen starken Anstiegs ("burst") sehr schnellen Schwimmens. Bei mehreren aufeinanderfolgenden Blitzen (alle 5 Sekunden) nahm die durchschnittliche Schwimmgeschwindigkeit zu, es kam zu vermehrten Bursts, und die Schwimmtrajektorien wurden langgestreckter und linearer.

Mensinger und Case untersuchten den Jagderfolg des nachtaktiven Fisch *Porichthys notatus* auf Mysiden der Art *Holmesimysis costata* in Abhängigkeit der Anzahl von Dinoflagellaten pro Milliliter im Aquarium (Mensinger & Case, 1992). Dabei stellte sich heraus, dass die Blitzanzahl proportional zur Konzentration von Dinoflagellaten war und durch die Bewegung der Mysiden verursacht wurde. Bis zu einer bestimmten Dinoflagellatenkonzentration nahm der Jagderfolg des Fisch auf die Mysiden zu, ab einer zu hohen Konzentration an Dinoflagellaten allerdings hörte er auf sich zu bewegen, da er anscheinend selbst bei den Angriffen immer mehr Blitze auslöste.

Bei einem ähnlichen Experiment wurde der Jagderfolg von Stichlingen (*Gasterosteus aculeatus*) auf Copepoden (*Tigriopus japonicus*) in Anwesenheit von biolumineszenten Dinoflagellaten (*Gonyaulax polyedra*) untersucht (Abrahams & Townsend, 1993). In der Gegenwart der Dinoflagellaten war der Jagderfolg um über 50% erhöht. Leider konnte in dieser Studie nicht untersucht werden, ob die Copepoden sich von den Dinoflagellaten ernährt haben oder nicht.

In einer Untersuchung über den Jagderfolg von Cephalopoden (Sepia officinalis und Euprymna scolopes) in totaler Dunkelheit auf verschiedene Organismen wurde festgestellt, das die Erfolgsquote mit zunehmender Dinoflagellatenkonzentration zunahm (Fleisher & Case, 1995). Bei Sepia war der Erfolg vor allem von der Anwesenheit von Dinoflagellaten abhängig, denn in

Einleitung - 19 -

der Kontrolle ohne Dinoflagellaten wurden z. B. keine Mysiden gefangen, bei einer Konzentration von 1 Dinoflagellat pro Milliliter allerdings 4 von 10 in 3 Stunden, und 8 von 10 in 3 Stunden bei Konzentrationen von 20 Dinoflagellaten pro Milliliter.

Diese Versuche zeigen, dass die Hypothese vom Einbrecheralarm und der Anlockung von Jägern zweiter Ordnung sehr wohl stimmen kann. Allerdings sind die Konzentrationen an Dinoflagellaten in den Experimenten oftmals wesentlich höher als im Freiwasser.

1.5.1.2 Copepoden

Biolumineszente Copepoden (Herring, 1988) haben Drüsen, mit denen sie hell leuchtende Substanzen ins Wasser abgeben können (Barnes & Case, 1972). Sehr viele verschiedene Stimuli lösen diese Ejektion aus. In einem Experiment wurden 10 Individuen der Art *Metridina lucens* in einem 600 ml Becherglas über längere Zeit beobachtet und haben nicht geleuchtet (David & Conover, 1961). Die gleiche Beobachtung gab es in Bechergläsern mit Krill *Meganyctiphanes norvegica* - keine spontanen Blitze. Wenn aber der Krill zu den Copepoden gesetzt wurde, wurden die Copepoden gefressen, und eine große Anzahl von Copepodenblitzen konnte aufgezeichnet werden. Bei Vergleichsexperimenten mit Arten, die keine Copepoden fressen, konnten meist keine Blitze gemessen werden.

Biolumineszente Copepoden (*Metridia longa*) reagieren auf künstliche Blitze viel intensiver mit Fluchtverhalten als nicht biolumineszente Copepoden (Buskey & Swift, 1985).

Es wurden seit diesen Experimenten noch einige zur Biolumineszenz von Copepoden ohne Berücksichtigung zu anderen Arten durchgeführt (Widder et al., 1999; Hartline et al., 1996; Bannister, 1993; Herring et al., 1993; Buskey & Swift, 1990; Campbell & Herring, 1990; Latz et al., 1990; Latz et al., 1987; Hartline et al., 1999), aber die meisten Untersuchungen mit Copepoden beschäftigen sich mit dem Verhalten nicht biolumineszenter Arten (Alcaraz et al., 2007; Johnson et al., 2007; Thorisson, 2006; Cohen & Forward, 2005b; Cohen & Forward, 2005a; Yen et al., 2004; Bagoien et al., 2000; Doall et al., 1998; Buskey et al., 1996; Runge & Ingram, 1991; Daro, 1988; Marcus, 1986; Buskey, 1984).

Vermutlich dient die Biolumineszenz bei Copepoden dem gleichen Zweck wie in Dinoflagellaten, obwohl beide auf unterschiedlichen trophischen Stufen stehen. - 20 - Einleitung

1.5.1.3 Ostracoden

Das biolumineszente Verhalten einiger karibischer Flachwasserarten wurde sehr eingehend studiert, und verschiedene Verwendungen des Lichts sowohl intra- als auch interartlich festgestellt (Morin, 1986; Morin & Cohen, 1991).

Die Männchen von über 50 Arten der Gattung Vargula zeigen artspezifische biolumineszente Blitzfolgen (durch Abgabe von biolumineszenten Substanzen in das Meerwasser), wie die Weibchen davon beeinflusst werden, ist aber unbekannt. Außerdem verwenden die Tiere die Bioluminezenz als Mittel gegen Angreifer: sie geben eine große biolumineszente Wolke in das Wasser ab, die einige Sekunden lang leuchtet. Dabei wurde beobachtet, wie schon vom Angreifer verschluckte Ostracoden wieder aus dem Magen erbrochen wurden.

1.5.1.4 Schlangensterne (Echinodermata: Ophiuroida)

Seefedern leuchten bei Berührung stark auf, und dieses Leuchten scheint als aposematisches Signal für Krabben zu dienen (Grober, 1988b; Grober, 1988a). Die Seefedern sind für die Krabben ungenießbar, diese können sie aber auf der Nahrungssuche leicht beschädigen. Im Versuch wurde gezeigt, dass leuchtende Seefedern wesentlich häufiger verschmäht werden, als nichtleuchtende Kontrollen.

1.5.1.5 Seegurken (Echinodermata: Holothuroida)

Bei der benthopelagischen Holothurie *Enypniastes eximia* wird die Lichtproduktion durch Berührung der Oberfläche ausgelöst, die sich daraufhin in einer leuchtenden Wolke kleiner, klebriger Teilchen vom Körper ablöst, die leicht an einem Angreifer anhaften (Robison, 1992).

1.5.1.6 Cephalopoden

Die räuberische mesopelagische Art *Taningia danae* wurde in 240-940 Metern Tiefe mittels Kamerasystem unter Halogenlicht (mit roten oder blauen Filtern) an ausgelegten Ködern beobachtet (Kubodera et al., 2007). Dabei wurde festgestellt, dass diese Tiere mit an den Spitzen ihrer Arme sitzenden Leuchtorganen kurz vor dem Angriff kräftige, kurze Lichtblitze abgaben.

Einleitung - 21 -

1.5.1.7 Fische

1.5.1.7.1 Anglerfische (Ceratioidae)

Nach aktuellen (2007), noch nicht publizierte Beobachtungen von E. Raymond und E. A. Widder (zitiert nach (Schrope, 2007)) mit einem auf dem Meeresgrund in 600 Metern Tiefe abgestellten Kamerasystem ("Eyes in the Sea EITS"), wurden auf Blitzfolgen, die mit einer Gruppe von Leuchtdioden (LED) erzeugt wurden, und in der Form denen von den leuchtenden Köderangeln (Esca, "lures") von Tiefseeanglerfischen nachempfunden sind (Munk, 1999), Antwortblitze im gleichen Rhythmus aufgezeichnet.

Dieses Beispiel für eventuelle intraspezifische Kommunikation mittels Biolumineszenz ist aber nicht die normalerweise für die Köderangeln angenommene Anwendung. Die an den Spitzen abgewandelter Rückenflossen sitzenden Leuchtorgane (Esca) können mehrere verschiedenen Funktionen übernehmen: Dauerleuchten, Blinken, und Abgabe von leuchtenden Substanzen in das Meerwasser. Es wird vermutet, dass die dauerleuchtenden Esca leuchtende Kotstücke imitieren, die von Tiefseefischen abgegeben werden, und in denen biolumineszente Bakterien leben. Dieser Kot wird z. B. von einigen Krebsen gefressen (Raymond & Devries, 1976; Heffernan & Hopkins, 1980; Gowing & Wishner, 1992) die damit als mögliche Beute für die Anglerfische dienen könnten. Die Abgabe von leuchtenden Partikeln könnte als Abwehrmaßnahme gegen größere Organismen dienen, die nicht ins Beutespektrum passen, aber angelockt wurden. Beobachtet wurde dieses bisher allerdings nicht. Die Zwergmännchen werden wohl nicht vom Licht der Weibchen, sondern von Pheromonen angelockt (Pietsch, 2005).

1.5.1.7.2 Drachenfische (Malacosteidae)

Drachenfische (Aristostomias scintillans) besitzen unterhalb der Augen rotes Licht ausstrahlende Leuchtorgane, und die Augen können rotes Licht wahrnehmen (O'Day & Fernandez, 1974; Widder et al., 1984). Es wird daher vermutet, dass diese Fische die Leuchtorgane wie Scheinwerfer verwenden, um andere Tiere, die rotes Licht nicht wahrnehmen können, zu sehen.

- 22 - Einleitung

1.5.1.7.3 Ponyfische (Leiognathidae)

Ponyfische der Art *Leiognathus splendens* können im Labor mindestens vier verschiedene Leuchtmodi zeigen und im Schwarm im Freiland synchronisieren die Tiere ihr Leuchten (Woodland et al., 2002). In Gruppen der Art *Leiognathus elongatus* scheinen die biolumineszenten Individuen die nicht biolumineszenten Individuen zu verfolgen, und es wird vermutet, dass diese beiden Gruppen Männchen und Weibchen darstellen (Sasaki et al., 2003).

1.5.1.7.4 "Blitzlichtfisch" ("flash light fish") Photoblepharon palpebratus (Anomalopidae)

Diese im Ufer- und Riffbereich u. a. des Roten Meeres vorkommende Art benutzt ihre scheinwerferartigen Leuchtorgane unterhalb der Augen, die mit einer Art Lid verschlossen werden können, vermutlich für eine große Anzahl von Verhaltensweisen (Morin et al., 1975). Im Laborversuch wurden durch das Leuchten Artemien angelockt, die von den Fischen gesehen und gefangen wurden. Wenn die Tiere gestört werden, zeigen sie ein spezifisches "blink and run"-Verhalten, was besonders in Gruppen schwimmenden Tieren beim Angriff eines Räubers helfen könnte. Innerartlich wird das Licht verwendet, wenn z. B. zwei Gruppen aufeinander zu schwimmen und eine einzelne große Gruppe bilden, oder wenn einzelne Individuen ihr Territorium gegen Artgenossen verteidigen.

1.5.1.7.5 Biolumineszente Fische ohne Artbeschreibung

R. Clarke (1950) zitiert einen Eintrag von Mackintosh in einem anscheinend unpublizierten 17. Scientific Report von 1931 mit der Beobachtung: "It is noteworthy that during the night, when the ship was stopped and the wind fallen away, an eel-shaped Stomiatoid fish, with brilliant luminous organs and silvery scales, was feeding on the krill close to the surface, and could be plainly seen by the light of a cargo cluster. We attempted to catch it with a hand net, but without success" ["Es ist erwähnenswert, dass bei Nacht, wenn der Wind sich gelegt hatte und das Schiff still lag, ein aalförmiger (?) Fisch, mit brillanten Leuchtorganen und silbrigen Fischschuppen Krill dicht an der Oberfläche fraß, und deutlich gesehen werden konnte durch das Licht einer Deckslampe". Übersetzung von Torsten Fregin].

Ausserdem zitiert er aus dem "Biological Deck Log" der Discovery Expedition 1927 einen Eintrag von E. R. Gunther: "From a pair of luminous organs in the orbital region, the fish

Einleitung - 23 -

(which was 9-12 inches in length) emitted a beam, of varying intensity, of strong blue light which shone directly forwards for a distance of about two feet. The fish had the habit of lurking at a depth of 2-6 feet below the surface, poised at an angle of about 35-40° from the horizontal - this gave the beam an upward tilt: occasionally the fish swam round and with a quick action snapped at the cloud of krill above it" ["Von einem Paar Kopfleuchtorgane gab der 20-25 cm lange Fisch einen starken Strahl blauen Lichts ab, welches in der Intensität variierte und über eine Weite von ca. 50 cm reichte. Der Fisch stand ca. 0,5-1,5 Meter unter der Wasseroberfläche und blickte in einem Winkel von ca. 35-40° nach oben: manchmal schwamm der Fisch herum und schnappte schnell nach der Wolke Krill über ihm". Übersetzung von Torsten Fregin].

Diese Beispiele von Biolumineszenz mariner Tiere zeigen die große Bandbreite, in der Licht von den Tieren verwendet werden kann. Es zeigt sich aber auch, dass das normale Verhalten oft nicht leicht beobachtbar ist. Im folgenden liste ich die mir bekannten Beobachtungen zu Biolumineszenz bei Euphausiaceen auf.

1.6 Beobachtungen an Euphausiaceen

1.6.1 Biolumineszenz

1.6.1.2 Freiwasser

1880 wurde milchweiß leuchtendes Wasser in der Nähe der Faröer-Inseln beobachtet. Netzfänge brachten große Anzahlen von *Nyctiphanes (Thysanopoda) norvegica* [=Meganyctiphanes norvegica] an Bord und das Licht im Wasser scheint durch das diffuse Licht von den phosphoreszierenden Organen dieser Art auszugehen (Murray, 1885).

A. Hardy beschreibt in seinem autobiographischen Buch "Great Waters" über die Fahrt des Forschungsseglers Discovery in die Antarktis 1927 (Hardy, 1967), wie bei Nacht zwei Netze voll mit *E. superba* eingeholt wurden. Alle Tiere in den Netzen leuchteten, und die Netze konnten schon weit unterhalb der Wasseroberfläche durch die Biolumineszenz gesehen werden.

Gleiches berichtet Mauchline, der bei Nacht gefangene *M. norvegica* im Netz leuchten sah (Mauchline, 1960).

- 24 - Einleitung

B.G. Ivanov beschreibt die Lumineszenz von oberflächennahen Schwärmen des Antarktischen Krill, *Euphausia superba* (Ivanov, 1969). Er stellt fest, dass sie mit dem dunkeladaptieren Auge grünlich schimmernd bis zu einer Entfernung von 150 Metern vom Schiff aus zu sehen seien, aber nur bei totaler Dunkelheit (ohne Mondlicht oder Schiffslichtern). Wenn das Schiff durch einen solchen leuchtenden Schwarm hindurch fährt, sind Blitze einzelner Individuen an der Hülle des Schiffs gegenüber dem Hintergrund des schwarzen Wassers deutlich sichtbar. Die Schwärme sind nicht nur durch die Biolumineszenz des Krill selbst sichtbar, sondern auch durch andere Organismen, die durch die Schwimmbewegung der Krebse zum Leuchten angeregt werden. Das bei Nacht Schwärme von *E. superba* anhand der Biolumineszenz gesehen werden können, wurde auch aus anderer Quelle bestätigt (Tomo, 1983b). Der letztgenannte Beobachter stellte auch fest, dass die Schwärme unter anderem von ebenfalls biolumineszenten Laternenfischen (Myctophidae) bejagt wurden, wobei einzelne Krillgarnelen sogar aus dem Wasser sprangen (Tomo, 1983a).

Vor der Küste Südafrikas wurden ungewöhnliche biolumineszente Flecken im Meer von Flugzeug und Schiff aus untersucht (Cram & Schulein, 1974). Dabei wurde festgestellt, das Schwärme des Seehechts *Merluccius capensis* an der Meeresoberfläche Schwärme der Euphausiacee *Nyctiphanes capensis* bejagte. Die vom Flugzeug aus beobachtete Biolumineszenz der Flecken sah für die Beobachter farblich und in Form der Flecken anders aus als die durch pelagische Fischschwärme ausgelöste Biolumineszenz des Phytoplankton.

Während der Nacht können anscheinend einzeln vorkommende Euphausien "aufgrund ihres Eigenleuchtens" beobachtet werden (Fischer & Mohr, 1978).

Wissenschaftler, die Schwärme des Antarktischen Krill *E. superba* und der ebenfalls vorkommenden Art *E. crystallorophias* bei Tag und Nacht (Mitternacht November 1985) durch Tauchgänge unter Eis beobachteten (O'Brien, 1987b), schreiben nichts zu eventuell vorhandener oder nicht vorhandener Biolumineszenz (O'Brien, 1987b), aber auch nichts zur vorhandenen Hintergrundhelligkeit. In einer anderen Publikation berichten die selben Autoren, dass sie bei keinem Tauchgang mit Krill jemals Biolumineszenz beobachtet hätten (O'Brien, 1987a). Andere berichten, dass die Tiere ihre Schwarmformation bei Nacht aufrechterhalten haben, ohne dass Biolumineszenz sichtbar war (Hamner et al., 1983; Hamner, 1984).

Einleitung - 25 -

Bei einer anderen Expedition in die Antarktis wurden ein Schwarm mit großer Individuendichte und ein weiterer Schwarm mit geringerer Individuendichte (definiert über den durchschnittlichen Abstand zwischen zwei Tieren) des Krill *E. superba* in einem vom Eisbrecher geschaffenen freiem Wasserstück inmitten von Packeis visuell beobachtet (Naito et al., 1986). Neben Paarungen (Männchen verfolgten Weibchen und paarten sich mit ihnen, wobei sich eine T-Form der beiden Tiere ergab) wurde auch Biolumineszenz beobachtet: "A peculiarity we found in this swarm was that the krill could be detected only when it moved upwards by their pale blue luminescence. The luminescence, however, was not continously observed but could be seen at the moment the krill began to swim" ["In diesem Schwarm beobachteten wir eine Besonderheit, nämlich das der Krill nur durch seine Lumineszenz gesehen werden konnte, wenn er sich aufwärts bewegte. Die Lumineszenz allerdings wurde nicht kontinuierlich beobachtet, sondern nur wenn der Krill anfing zu schwimmen". Übersetzung Torsten Fregin].

1.6.1.2 Labor

Es gibt eine große Anzahl von Veröffentlichungen, bei denen Krill im Labor gehalten wurde, vor allem zur Untersuchung von Metabolismusparametern, Freßverhalten, Langlebigkeit, Häutungsverhalten. In den wenigsten wurde dokumentiert, ob der Krill Licht produzierte oder nicht. Eine frühe Untersuchung (Macdonald, 1927), in der spontane Lichtbildung bei Krill beobachtet wurde, berichtet, dass die Tiere nur innerhalb der ersten 12-24 Stunden nach dem Fang entsprechend aktiv waren und das die Anzahl der Blitze mit der Zeit schnell abnahm. Ein gegenteiliges Ergebnis beobachteten Hardy und Kay (1964): abends gefangene Tiere zeigten keine spontane Biolumineszenz bis zum nächsten Morgen. Allerdings schreiben sie in der gleichen Publikation 5 Seiten später, dass spontane Lumineszenz mit der Zeit nach dem Fang abnimmt, sie innerhalb der ersten 10 Stunden nach dem Fang höher als der Durchschnitt ist und bis zu 50 Stunden nach dem Fang beobachtet werden kann.

Im allgemeinen wurden die Tiere in sehr kleinen Behältern gehalten, oftmals mit Volumina von weniger als 1 Liter Wasser pro Tier. In größeren Aquarien, in denen Krill Schwarmverhalten zeigte (Strand & Hamner, 1990) und sich sogar teilweise erfolgreich fortpflanzte (Hirano et al., 2003; King et al., 2003), wurde keine Biolumineszenz beobachtet (So Kawaguchi und Stephen Nicol, persönliche Mitteilungen).

- 26 - Einleitung

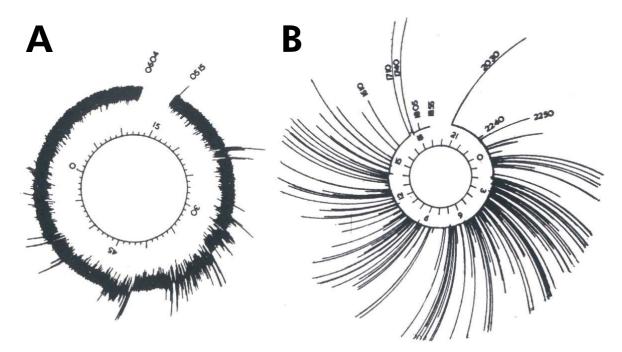


Abbildung 5. Biolumineszenzmessungen nach Hardy und Kay (1964). Signale eines Photomultiplier wurden mit einem kymographenähnlichen Gerät aufgezeichnet. [A] Messung im Freiwasser in 60 m Tiefe, Aufzeichnungsdauer 49 Minuten von 5.15 Uhr bis 6.04 Uhr. Es sind einige Einzelblitze sowie einige Blitzgruppen ("Bursts") zu sehen. [B] Messung von Spontanaktivität von M. norvegica im Becherglas über 24 Stunden (Insgesamt geschätzt ca. >120 Blitze). Abbildungen reproduziert mit Genehmigung von Cambridge University Press.

Es gibt eine Reihe von Untersuchungen an Euphausiaceen im Labor, wobei hier nur die für die Lichtproduktion und normale Verhaltensweisen (wie Schwimmtrajektorien) relevanten behandelt werden. Dabei unterscheide ich folgende Kategorien: 1) Spontane Lichtproduktion 2) Lichtproduktion durch Pharmaka 3) Lichtproduktion nach Einwirkung äußerer Lichtquellen 4) Verhalten bei äußerer mechanischer Störung. Ich beschreibe dann noch das von der Biolumineszenz unabhängige 5) Schwimmverhalten im Tank. Ich gehe nicht auf physiologische Parameter ein, auch wenn die meisten Experimente in dieser Hinsicht durchgeführt wurden.

1.6.1.2.1 Spontane Blitze

Mauchline berichtet, dass bei *M. norvegica*, die in der Clyde Sea gefangen wurden, spontane Lumineszenz ausserhalb der Monate November bis Januar nur selten beobachtet wurde. Die Tiere ließen sich aber abhängig voneinander in einer Art Kettenreaktion zum Leuchten bringen: wurde ein Tier mechanisch in einem ersten Aquarium stimuliert, leuchteten auch Tiere in dahinter liegenden Aquarien (Mauchline, 1960). In einem weiteren Experiment setzte Mauchline unbefruchtete Weibchen mit Spermatophoren tragenden Männchen zusammen. Er

Einleitung - 27 -

konnte dann nach einiger Zeit zwar befruchtete Weibchen im Aquarium finden, aber in der Zwischenzeit keine Biolumineszenz feststellen.

Hardy und Kay (1964) untersuchten die Biolumineszenz im Freiwasser (keine Artbestimmung möglich) und verglichen diese Aufzeichnungen mit Messungen an *Meganyctiphanes* im Labor (Abbildung 5). Sie konnten keinerlei tageszeitliche, geschlechtsspezifische oder körpergrößenabhängige Besonderheiten feststellen. Und da sie ihre Untersuchungen im August und September machten und die Tiere spontan aktiv waren, widersprechen ihre Ergebnisse denen von Mauchline. Sie konnten auch keine Kettenreaktion (ein Tier leuchtet und regt damit weitere Tiere zum Leuchten an) feststellen, was allerdings an der Jahreszeit liegen könnte.

Desweiteren konnten sie kein "Antwortblitzen" durch künstliche Blitze oder mittels 5-HT stimulierte Tiere messen. Sie merken aber auch an, dass ihr Meßsystem nur starke Blitze, nicht aber schwaches Dauerleuchten technisch bedingt wiedergeben kann. Dieses Dauerleuchten wurde von Körte in einem "Planktonrad", welches es ermöglicht, vertikal wandernde Arten im Labor zu beobachten, untersucht (Körte, 1964). Er fand, dass die Tiere in 40-80% der beobachteten Zeit schwach leuchteten ("prolonged dim glows").

Genaue Beschreibungen, wie die spontanen Blitze aussehen (Form, Anstiegswinkel, Abfall der Kurve), liegen nicht vor. Die älteren zitierten Arbeiten benutzen kymographenähnliche Aufzeichnungsgeräte, die nur Aktivitäten generell anzeigen, aber deren Auflösung zu gering ist, um die Form und Dynamik der Blitze zu erkennen (Abbildung 5). Elektrische Stimulierung (kurze Pulse mit 60 V) von *M. norvegica* löste schwaches Glühen mit einer Dauer von 4-22 Sekunden aus (Clarke et al., 1962b) (Abbildung 7). Spontane Blitze von *Euphausia superba*, *Nematoscelis difficilis* und *Nyctiphanes simplex* sowie diversen anderen biolumineszenten Arten wurden aufgezeichnet, und nach Dauer, Anstiegs- und Abfallszeit mathematisch analysiert und mit Aufzeichnungen aus dem Freiwasser verglichen (Nealson et al., 1986). So konnten zwar die biolumineszenten Arten im Freiwasser bestimmt werden, die Form der Blitze ist in dieser Publikation leider nicht wiedergegeben.

1.6.1.2.2 Durch Pharmaka ausgelöstes Leuchten

Meganyctiphanes norvegica kann durch Gabe von 5x10⁻⁵ g/ml Serotonin (5-HT, 5-Hydroxyptryptamine) ins umgebende Seewasser mit einer Latenz von 3-16 Minuten zum

- 28 - Einleitung

Dauerleuchten für 1-1,5 Stunden gebracht werden (Kay, 1963). LSD (Lysergsäurediethylamid) löst in geringeren Konzentrationen als Serotonin Leuchten aus, die Wirkung ist aber, anders als bei Serotonin, dessen Wirkung durch Auswechseln des Wassers im Aquarium beendet wird, nicht reversibel (Kay, 1965). Eine Substanz (Cinnamanilide), welche die Wirkung von Serotonin in Ratten unterdrückt, hat die gleiche Wirkung in Krill (Doyle, 1966). Substanzen, die strukturell dem Serotonin ähnlich sind, können bei Badapplikation die gleiche Wirkung haben (z.B. n,n-Dimethyl-5HT, Bufotenine); diverse andere Pharmaka, darunter die wichtigen Neurotransmitter wie Dopamin und Adrenalin sowie das Octopamin, haben keine Wirkung (Herring & Locket, 1978).

In die Hämolymphe injiziertes Serotonin löst ab einer Konzentration von 10⁻⁶ Mol (Hämolymphkonzentration) kurzes, schwaches Glühen aus, höhere Konzentrationen lösen Dauerleuchten aus, das bei 10⁻³ Mol über 3 Stunden anhält (Fregin & Wiese, 2002).

Hardy und Kay stimulierten drei *Meganyctiphanes* mit 5-HT, um diese leuchtenden Tiere zu verwenden, um andere zum Leuchten zu stimulieren (Hardy & Kay, 1964). Dabei nannten sie die mit 5-HT stimulierten Tiere "flashing", also blitzend, nicht "glowing", also glühend bzw. dauerleuchtend. Dies führt zu der Frage, ob die in der Literatur angegebenen Beobachtungen alle leicht kategorisierbar sind.

1.6.1.2.3 Die "Hell-Dunkel-Reaktion" ("light-dark-experiments" nach Mauchline)

Werden Exemplare von *M. norvegica* längere Zeit Raumlicht ausgesetzt, und dann schnell in totale Dunkelheit überführt, beginnen sie für längere Zeit zu leuchten. Mauchline (1960) beleuchtete die Tiere für 20 Minuten mit elektrischem Licht ("exposed to electric light for 20 min.") und konnte keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern feststellen, aber einen jahreszeitlichen Trend: von Januar bis Juli (1958) begannen ca. 60-80% der Tiere zu leuchten. Die Anzahl der leuchtenden Tiere nahm dann im Jahresverlauf ab und erreichte im November und Dezember mit weniger als 10% ein Minimum, um dann im Januar wieder auf 60% stark anzusteigen. Hardy und Kay nutzten den Effekt (sie beleuchteten *Meganyctiphanes* für 3 Minuten mit einer 60 Watt Glühlampe), um die möglichst aktivsten Tiere für Experimente zur spontanen Biolumineszenz auszuwählen (Hardy & Kay, 1964). Beleuchten der Tiere mit sehr schwachem Licht (gleiche Intensität wie das natürliche Leuchten der Tiere) für 2 oder 15 Minuten hingegen hatte keinen Effekt. Bei hohen Lichtintensitäten (22 µW/cm² Weißlicht) ist

Einleitung - 29 -

die Leuchtdauer bei Einwirkzeiten von 1, 2, 9, 27 und 81 Minuten ca. 5 Minuten, die Latenz bis zum Beginn des Leuchtens sinkt aber von gut 78 Sekunden bei 1 Minute Einwirkzeit bis auf 20 Sekunden bei 81 Minuten Einwirkzeit ab (Fregin, 2001).

Auch sehr kurz einwirkendes Blitzlicht (1,25 ms Dauer, 120 J, 10 cm Abstand zum Tier) löst Leuchten nach einer Latenz von ca. 96 Sekunden für ungefähr 5 Minuten aus (Hardy & Kay, 1964). Ein weiterer gleichartiger Blitz nach Leuchtbeginn inhibiert dieses Leuchten für ungefähr die gleiche Dauer wie die Latenzzeit (Kay, 1965). Wenn das Leuchten nach der Inhibierung wieder beginnt, erreicht es schnell die ehemalige Intensität, außerdem kann der Beginn des Leuchtens durch wiederholte Blitze innerhalb der Latenzzeit verhindert werden (Kay, 1966). Auf Tiere, die durch Serotoningabe zum Leuchten gebracht wurden, haben Blitze keine inhibierende Wirkung. Die wirkungsvollen Wellenlängen im verwendeten Licht liegen bei 480 nm, und fallen zu 400 und 600 nm hin ab (Kay, 1965). *Thysanoessa sp.* reagiert ebenfalls auf Serotoningabe und Stimulierung durch Blitzlicht, wenn auch stärker sensitiv für Serotonin, aber weniger sensitiv für Blitzlicht (Doyle & Kay, 1967).

Anscheinend leuchten die Tiere sehr schnell, wenn Serotonin in das Seewasser gegeben wird, und hören sofort wieder auf, wenn sie in anderes Wasser ohne Serotonin umgesetzt werden, es gibt dazu aber keine genauen Angaben ("ease of it's removal, simply by rinsing the animals in sea water" (Doyle & Kay, 1967)). Tett hat den Einfluss der Temperatur auf das durch Blitzlicht ausgelöste Leuchten ("flash-stimulated luminescent response FSLR") bei Thysanoessa raschi untersucht und gefunden, dass die Latenzzeit stark temperaturabhängig ist (Tett, 1969): bei 10,2 °C beträgt sie durchschnittlich 99 Sekunden, bei 5,3 °C 170 Sekunden. Im untersuchten Bereich von 0 bis 20°C liegt aber anscheinend kein linearer Zusammenhang zur Temperatur (Q₁₀-Regel) vor. Es wurde auch die Reaktion von Meganyctiphanes und Thysanoessa auf Lichtstimulierung zu verschiedenen Jahreszeiten gemessen und gefunden, dass die Tiere, ähnlich wie bei spontaner Biolumineszenz, zur Fortpflanzungszeit aktiver sind (Tett, 1972), was aber auch am Ernährungs- und Gesundheitszustand liegen könnte. So haben Männchen nach der Spermatophorenübertragung während der Fortpflanzungszeit trotz erhöhtem Nahrungsangebot zu der Jahreszeit eine erhöhte Mortalität (Mauchline, 1960). Es ist also möglich, dass die genannten Parameter eher vom generellen physiologischen Zustand abhängig sind, als von anderen, z. B. jahreszeitlichen Einflüssen, da die Tiere auch im Herbst und Frühwinter nach der Herbstplanktonblüte aktiver sind (Tett, 1972).

- 30 - Einleitung

Elektrische Ableitungen von den Augen von *M. norvegica* zur Erstellung eines Elektroretinogramms ERG zeigen, dass bei länger einwirkenden Lichtsignalen (5 Sekunden Dauerlicht) sowohl beim Einsetzen als auch beim Enden des Stimulus elektrische Antworten ("on-off-effect") gemessen werden können (Kampa et al., 1959).

1.6.1.2.4 Der "Ergriffeneffekt" (nach Vallentin und Cunningham) - mechanische Stimulierung

Krillgarnelen scheinen regelmäßig Licht zu produzieren, wenn sie mechanisch stark stimuliert werden, sei es durch Netzfang (Mauchline, 1960; Hardy, 1967) oder durch Quetschen mit Fingern/Pinzetten (Murray, 1885; Vallentin & Cunningham, 1888; Mauchline, 1960). Ob die Tiere beim Fang durch einen Fisch leuchten, ist unbekannt: in einem Experiment, wo 45 Garnelen mit einem Klippenbarsch (Ctenolabrus rupestris) zusammen in einem 36 Liter Aquarium schwammen, wurde bei Dunkelheit keine Biolumineszenz aufgezeichnet, aber auch kein Tier anscheinend gefressen, da der Fisch die Krebse im Dunkeln nicht sehen konnte (Hardy & Kay, 1964).

Krill, der in einem Aquarium mit starker Turbulenz durch Luftblasen schwimmt, leuchtet nicht (Hardy & Kay, 1964).

1.6.2 Schwimmverhalten von Euphausiaceen

Krill verbraucht 73% seines täglichen Metabolismus für das Dauerschwimmen, ohne welches er ständig absinken würde (Kils, 1981). Dabei zeigt er verschiedene Schwimmstile.

1.6.2.1 Visuelle Beobachtungen von Tauchern im Freiwasser

Bei der Konfrontation mit einer Störung kann man zwischen den Reaktionen eines Schwarms und einzelner Individuen unterscheiden (O'Brien, 1987a). Bei kleineren Störungen (z. B. ein stationärer Taucher) ändert der Schwarm seine Schwimmrichtung, und erhöht dabei oftmals seine Geschwindigkeit. Er versucht damit die Stelle der Störung zu vermeiden, behält aber die Schwarmformation aufrecht. Dies kann zu "stehenden Wellen" bzw. treppenförmigen Schwimmformen (Englisch "cascading") (Hamner et al., 1983) führen.

Einleitung - 31 -

Wenn die Störung stärker wird, z. B. bei einem Fisch, der an den Schwarm bis auf Angriffsnähe herankommt, können mehrere koordinierte Verhaltensweisen auftreten: der Schwarm teilt sich in schnell schwimmende Einzelindividuen auf ("flash expansion"), oder er teilt sich in mehrere kleine Schwärme auf, oder aber ein Teil des Schwarms führt koordiniertes Fluchtverhalten ("tail flips") aus. Einzelindividuen, die Opfer eines direkten Angriffs werden, führen (unkoordiniertes) Fluchtverhalten ("tail flips") aus. Ein solcher Angriff kann innerhalb von 10 Sekunden zu einer totalen Auflösung der Schule (kleiner Schwarm) führen (Hamner, 1984).

Wenn einzelne Individuen einen Bereich mit Nahrungspartikeln erreichen, schwimmen sie, den Filterkorb füllend, schnell und in engen Kreisen, sich um die eigene Längsachse wälzend. An der Wasseroberfläche können sie, mit den Antennen aus dem Wasser ragend, einzelne schwimmende Partikel von der Oberfläche abgrasen (Hamner et al., 1983).

1.6.2.2 Beobachtung mittels Sonar

Während bis vor kurzem mittels Sonar nur akkustisch zurückwerfende Schichten (Englisch: "acoustic scattering layers") gemessen werden konnten (Onsrud & Kaartvedt, 1998), sind moderne Sonargeräte (oft in Verbindung mit Kameras) mittlerweile in der Lage, die Schwimmtrajektorien nicht nur großer einzelner artbestimmter Organismen (Onsrud et al., 2005), sondern auch sehr kleiner Organismen wie der Euphausie *Euphausia pacifica* (De Robertis et al., 2003) oder der dem Sonar wenig Echosignal liefernden Scheibenqualle *Periphylla periphylla* (Kaartvedt et al., 2007) im Freiwasser zu beobachten.

Dabei sind die Meßgeräte allerdings noch nicht so weit entwickelt, dass man Individuen über längere Zeiträume verfolgen könnte: bei der Untersuchung mit Krill (De Robertis et al., 2003) konnten durchschnittlich pro Tier 7 bis 9 sequentielle Punkte aufgezeichnet werden (das Maximum betrug 107 Messpunkte). Durch die Messung von fast 7000 solcher kurzen Sequenzen zu verschiedenen Tages- und Nachtzeiten wurde festgestellt, dass die Tiere tagsüber relativ langsam (1,8 cm pro Sekunde) schwimmen. Den tageszeitlichen Vertikalwanderungsaufstieg bei Dämmerung beginnen sie sogar noch langsamer (ca. 1,3-1,4 cm pro Sekunde), erreichen dann zum Höhepunkt des Aufstiegs relativ höhere Geschwindigkeiten (zwischen 2,2 und 3,5 cm pro Sekunde), die dann langsam abnimmt (1,9-2,1 cm pro Sekunde). Ungefähr 50-68% der aufgezeichneten Trajektorien zeigten dabei einen Aufstiegswinkel, die meisten Tiere

- 32 - Einleitung

blieben dabei aber in einem relativ kleinen Winkel zur Horizontalen; nur ein sehr kleiner Teil der Tiere (3,6-10 %) bewegte sich in einem ± 15°-Winkel zur Vertikalen. Diese eher flachen Aufstiegswinkel bedeuten, dass die Krebse mehr Energie benötigen, als wenn sie relativ senkrecht schwimmen würden. Die Autoren vermuten, dass dies darauf zurückzuführen ist, dass sie andernfalls ihre Leuchtorgane nicht für Gegenlichterzeugung nutzen könnten. Fische, die sich bis auf 20-300 cm an die Krebse annäherten, veränderten deren Schwimmverhalten nicht.

1.6.2.3 Messung von Schwimmverhalten im Labor

Tiere, die im Labor festgelegt (an einen Bewegungssensor festgeklebt) schwimmen (Tarling & Johnson, 2006) zeigen drei verschiedene Schwimmweisen: der Krill schwimmt kontinuierlich, oder er wechselt starken und schwachen Pleopodenschlag ab, oder er lässt sich schweben (Englisch: "parachuting"), wobei dies vor allem vom Füllstand des Magens abhängig ist. Beim langsamen Schwimmen bzw. Schweben sinkt Krill 9 - 43 Meter pro Stunde ab.

Im Labor gehaltene Tiere zeigen oftmals auch abnormales Verhalten, wie z. B. an einer Stelle schweben bleiben und nicht auf externe Stimuli reagierend (Strand & Hamner, 1990). Erst ab einem bestimmten Wasservolumen pro Individuum (5 Liter pro Tier im 2,4 Kubikmeter Rundtank) und einer entsprechend gestalteten Umgebung und Helligkeit kommt es bei *E. superba* im Labor zur Schwarmbildung (Strand & Hamner, 1990).

Das Schwimmverhalten im Labor ist abhängig vom Umgebungslicht (Kay, 1965): unter schwachem roten Licht sind die Tiere ruhig ("quiescent"), wohingegen sie bei anderem Licht als rot energisch ("vigorously") in alle Richtungen schwimmen. Stimuliert man die Tiere mit einem Fotoapparatblitz unter schwachem roten Licht, stoppen sie entweder für einige Sekunden mit dem Schwimmen und sinken passiv zum Boden des Becherglases ab, oder aber sie zeigen eine normale Fluchtreaktion ("tail flip"). Danach schwimmen sie in beiden Fällen sehr energisch, und die Biolumineszenz setzt nach der normalen Latenzzeit ein. Nach einiger Zeit schwimmen die Tiere wieder ruhig durch den Wasserkörper, wie vor der Stimulierung und unabhängig davon, ob sie noch leuchten oder nicht mehr.

Untersucht man *M. norvegica* im Labor unter konstanten Dunkelbedingungen, zeigen sie einen anscheinend endogenen 23-Stunden-Aktivitätsrhythmus, unter natürlichen Hell-Dunkel-Bedingungen scheint dieser synchronisiert zu sein an die äußeren Lichtverhältnisse (Velsch &

Einleitung - 33 -

Champalbert, 1994). Dabei schwimmen die Tiere in den Dunkelphasen verstärkt an der Oberfläche der Laboraquarien, in den Hellphasen befinden sie sich am Boden.

Price untersuchte das Verhalten von 200 *Thysanoessa raschii* in einem 117 m³ großen Tank gegenüber einem künstlich erzeugten, ca. 2,5 m³ großen Bereich mit sehr hoher Phytoplanktondichte im Zentrum des Tanks (Price, 1989). Im Kontrollversuch befanden sich immer nur ca. 2 der Tiere im Zentralbereich, mit Phytoplankton befanden sich nur 11 Tiere nicht in diesem Bereich. Die Tiere suchten sehr schnell nach Bildung des Flecks diesen auf, und sie zeigten ein signifikant anderes Schwimmverhalten innerhalb des Planktonflecks. Die Schwimmgeschwindigkeit verdoppelte sich, und das Absinkverhalten, welches 25% der Kontrolltiere zeigten (dabei ließen sie sich 2-17 Sekunden lang einfach absinken), verschwand komplett. Die Tiere schwammen in viel graderen Linien, um am Übergang von hoher zu niedriger Phytoplanktonkonzentration eine starke Kehrtwendung zu schwimmen. Auch schwammen die Tiere im Fleck wesentlich horizontaler, es war aber keine Abhängigkeit dabei von anderen Individuen erkennbar, also kein z. B. paralleles Schwimmen. Die untersuchte Art *T. raschii* zeigt nicht das von *E. superba* berichtete Filterverhalten im Freiwasser mit Spiralen und Loopings (Hamner et al., 1983).

Vor dem Versuch wurden die Tiere ca. 6-8 Wochen unter relativ naturnahen Bedingungen in dem Tank gehältert (Price, 1989). Über Biolumineszenz oder Schwarmbildung während dieser Zeit teilt die Autorin nichts mit, und auch während des Versuchs wurden keine Parameter untersucht, welche auf eine Kommunikation der Tiere miteinander hinweisen könnten. Die Lichtintensität während des Versuchs (im Tagteil des Tag-Nacht-Beleuchtungszyklus) betrug $12~\mu Einst~m^{-2}~s^{-1}$, hell genug, um die Tiere zu filmen, und hell genug für die Tiere, um sich visuell zu orientieren.

Leider ist diese Veröffentlichung von Price die einzige Arbeit, in der das Verhalten von Krill unter kontrollierten Laborbedingungen in einem relativ großen Wasserkörper untersucht wurde.

Abschließend zum Schwimmverhalten noch einige Ergebnisse zur Ernährung. Mauchline beschreibt drei verschiedene Ernährungsweisen bei *M. norvegica*: Filtern des Wassers mit den einen Fangkorb bildenden Thorakalbeinen, das Herumschwimmen mit großen Nahrungspartikeln ("raptatorial method"), z. B. toten Artgenossen, die mit den Beinen gehalten

- 34 - Einleitung

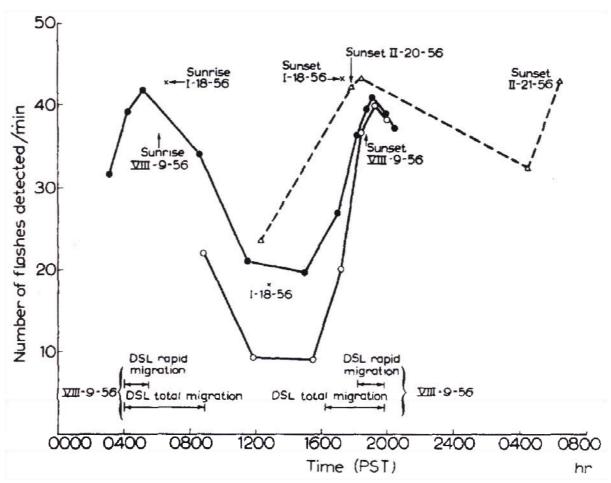


Abbildung 6. Tageszeitliche Variation an spontanen Blitzen im Freiwasser, aus Kampa & Boden (1956). Die Messungen fanden jeweils in den (unterschiedlich tiefen) reflektierenden Schichten statt. Zu den Zeiten, wo die Deep Scattering Layers DSL, die ein Sonarsignal stark reflektierenden Schichten, sich in der Wassersäule schnell bewegen, sind besonders viele Blitze zu registrieren. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von Elsevier Ltd.

werden, sowie einer räuberischen Methode, bei der z. B. Copepoden mittels einer durch Beinschlag erzeugten Saugströmung in den Fangkorb eingesogen werden (Mauchline, 1960). Mageninhaltsanalysen zeigen, dass *M. norvegica* auch selektiv karnivor jagt, und Phytoplankton dann nicht aufnimmt (Kaartvedt et al., 2002). Auch scheint dieser Krill tagsüber keine in tiefen Schichten lebenden Copepoden zu fangen (Lass et al., 2001), obwohl er aber bei entsprechender Helligkeit visuell Jagd auf Copepoden macht (Torgersen, 2001).

1.7 Zwischenfazit zum Stand der Biolumineszenzforschung bei Krill

Wofür verwenden die Euphausiaceen nun die Leuchtorgane? Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass von den bisher beobachteten Verhaltensweisen und biolumineszenten

Einleitung - 35 -

Ereignissen nicht auf die Verwendung der Leuchtorgane der Euphausiaceen geschlossen werden kann. Aus diesem Grunde muss untersucht werden, ob diese Tiergruppe eine oder mehrere der postulierten und beobachteten Verhaltensweisen im Zusammenhang mit ihrer Lichtproduktion zeigt. Dazu ist einerseits eine genaue morphologische und neurobiologische Kenntnis der Leuchtorgane und des visuellen Systems selbst nötig, denn generell sind Struktur und Funktion eng miteinander verknüpft. Des weiteren ist es aber auch nötig, in Verhaltensexperimenten die Hypothesen direkt an sich verhaltenden Tieren zu testen, sowie die Tiere in ihrer natürlichen und möglichst ungestörten Umgebung zu beobachten.

1.8 Messung von Biolumineszenz im Meer

1.8.1 Spontane Biolumineszenz

"Spontane Biolumineszenz" ist definiert als natürliche Hintergrundbiolumineszenz, die nicht durch den Beobachter stimuliert wurde, z. B. durch die Absenkung des Beobachtungsgerätes (Tett & Kelly, 1973).

Ungestörte natürliche, d.h. nicht durch das Beobachtungsgerät induzierte Biolumineszenz aufzuzeichnen ist nach Meinung einer Gruppe von Wissenschaftlern vermutlich nur durch Geräte möglich, die auftriebsneutral unverkabelt im Wasserkörper treiben (Widder et al., 1989). Bei dieser und zwei nachfolgenden Studien (zitiert nach Widder, 2002) wurde festgestellt, dass es im Wasserkörper fast keine spontane Biolumineszenz gibt, und daraus geschlossen, dass Biolumineszenz nur sehr konservativ und ausnahmsweise verwendet wird. Vergleiche mit einem Minenfeld wurden angestellt, wobei die einzelnen biolumineszenten Organismen die Minen darstellen (Widder & Johnsen, 2000).

Es gibt nur einige wenige Messungen von Biolumineszenz in situ an Orten, wo Euphausiaceen in großer Anzahl vorkommen. Schon seit langem ist bekannt, dass es im Meer Schichten gibt, die stark Sonarsignale reflektieren ("sound deep scattering layers") und dass in diesen Schichten viele Euphausiaceen anzutreffen sind (Moore, 1950). Diese Schichten ändern im Tagesverlauf ihre Tiefenlokalisation, außerdem sind während dieser Migrationsphasen (Abbildung 6) eine erhöhte Anzahl an Blitzen registrierbar (Kampa & Boden, 1956). In einer weiteren Untersuchung dieser Schichten (an der Westküste Kanadas) wurden nur einige sehr starke Blitze gemessen, die vermutlich durch die Bewegung des Messgeräts ausgelöst wurden (Boden

- 36 - Einleitung

et al., 1965; Boden & Kampa, 1965). In einer anderen Untersuchung (Westküste Schottlands) wurde beim Absenken bzw. Heraufholen des Messgeräts keine induzierte Biolumineszenz festgestellt (Hardy & Kay, 1964), wohl aber einzelne Blitze und auch Anhäufungen ("bursts of activity") von vielen Blitzen bei stationärem Aufenthalt des Messgeräts in Tiefen bis 63 Metern. Die Autoren vermuteten, dass eventuell vorbei schwimmende Schwärme bzw. Schulen von Meganyctiphanes oder Thysanoessa dafür verantwortlich sein könnten. Sie merkten aber auch an, dass es schwierig sei, solche Ergebnisse zu interpretieren, da die für die Biolumineszenz verantwortlichen Arten und ihre Individuenanzahl unbekannt sind.

1.8.2 Induzierte Biolumineszenz

Da diese frühen "unstimulierten" Biolumineszenzmessungen keine genauen Ergebnisse brachten, wurde das Hauptaugenmerk auf die induzierte bzw. stimulierte Biolumineszenz gelegt, die mittels Bathyphotometern gemessen wird. Dabei wird Wasser möglichst turbulent durch eine lichtdichte Kammer gepumpt, an die ein Lichtsensor, meist ein Photomultiplier angeschlossen ist. Für kleine Organismen wie Phytoplankton ist diese Methode gut geeignet (z. B. Seliger et al., 1969), größere Arten (Euphausiaceen, Fische) dürften eher ausnahmsweise dabei gemessen werden. Nichtsdestotrotz haben viele solche Messungen gezeigt, dass durch mechanische Wasserbewegung stimulierbare Biolumineszenz weit verbreitet ist, sowie saisonale und tageszeitliche Unterschiede zeigt. Diese sind abhängig vor allem von der Produktivität des Phytoplanktons, zirkadianen Rhythmen und der Photoinhibierung vieler Organismen durch starke Sonneneinstrahlung (Clarke & Wertheim, 1956; Swift et al., 1985; Webster et al., 1991; Neilson et al., 1995; Gillibrand et al., 2007). Mittlerweile wird stimulierte Biolumineszenz als gängiges Werkzeug zur Charakterisierung der Lebensgemeinschaften von Meeresgebieten verwendet (z.B. Moline et al., 2009).

Diese Messungen sagen aber wenig über die Verwendung von Biolumineszenz unter natürlichen, ungestörten Bedingungen aus. Es wurde z. B. bisher nicht gemessen, wieviel Biolumineszenz durch die tageszeitlichen Wanderungen vieler Tierarten durch den Wasserkörper ausgelöst wird, wenn sie beim Auf- und Absteigen nichtmigrierende Arten stimulieren. In tieferen Wasserschichten jagende Räuber, die sich auf den Fang migrierender Arten spezialisiert haben, sowie Räuber, die im Flachwasser oberflächennahe Organismen jagen, dürften wichtige Faktoren in der Evolution der tageszeitlichen Vertikalwanderung (diel vertical migration, DVM) sein. Auch Phytoplankton abgrasende Organismen dürften einer ständigen Lichtbildung ausgesetzt sein.

Einleitung - 37 -

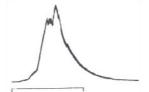


Abbildung 7. Ein Lichtblitz von E. superba. nach elektrischer Stimulierung. Aus Clarke et al. (1962). Zeitmaßstab: I Sekunde. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von Cambridge University Press.

Wenn man sich des Bildes des dreidimensionalen Minenfeldes bedient, stellt sich die Frage, wie oft "Minen" unter natürlichen Bedingungen ausgelöst werden, und was dies für Konsequenzen hat. Es scheint von der Meeresregion (z. B. Wasserströmungen) und der Artenzusammensetzung abzuhängen, ob und wieviel spontane Biolumineszenz gemessen werden kann. Auch sehr sensitive Messgeräte, die biolumineszente Ereignisse in größerer Entfernung noch registrieren können, dürften dabei helfen, spontane und induzierte Biolumineszenz voneinander zu unterscheiden. Auch sollten Messgeräte möglichst unbewegt im Wasser ruhen, also nicht an einem Seil von Bord eines Schiffes bei hohem Seegang aus betrieben werden.

1.8.3 Die Identifikation biolumineszenter Organismen im Freiwasser

Es gibt nur wenige Untersuchungen, bei denen die Identität die Quellen von spontaner Biolumineszenz festgestellt werden sollte beziehungsweise konnte.

Ein Versuch, die Verursacher von (spontaner) Biolumineszenz im Mittelmeer zu bestimmen, wurde mittels einer durch Lichtereignisse getriggerten Kamera durchgeführt (Breslau & Edgerton, 1958). Auf über 1300 Fotos waren aber nur wenige Tiere mit einer Körpergröße über 1 Zentimeter zu sehen, die zudem nicht bestimmbar waren. Die meisten Blitze dürften daher von Einzellern stammen.

Die meisten übrigen Studien, bei der spontane Biolumineszenz in unterschiedlichen Tiefen zu verschiedenen Tages- und Jahreszeiten gemessen wurde, können nur hypothetische Aussagen darüber machen, wer leuchtet (Clarke & Backus, 1956; Kampa & Boden, 1956; Boden &

- 38 - Einleitung

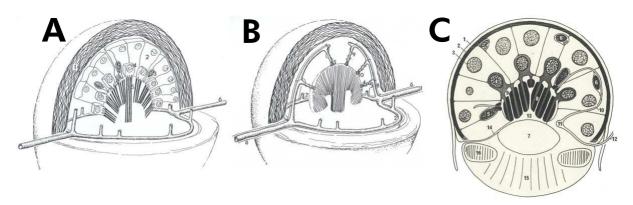


Abbildung 8. Schemazeichnungen der abdominalen Leuchtorgane. [A] und [B] aus Petersson (1968). Es ist die Blutversorgung zu sehen, die seitlich eintretend sich zu einem Ringgefäß um die Linse (nicht eingezeichnet) erweitert, von dem Seitengefäße durch die Posteriore Zellmasse PZM zum posterioren Pol des Leuchtorgans abgehen. Von diesen gehen wiederum Gefäße im 90°-Winkel ab, um am zentral gelegenen Streifenkörper (von Zellen der Posterioren Zellmasse gebildet) zu enden. Dort gibt es Verdickungen, die anscheinend Zielpunkte der in (B) eingezeichneten Nervenendigungen darstellen. [C] nach Herring und Locket (1978). Diese Autoren sehen die Blutversorgung nicht so symmetrisch angeordnet wie Petersson, unterscheiden sich sonst nur in einigen Punkten, die im Rahmen dieser Arbeit unerheblich sind (u. a. Anzahl von Zelltypen im Leuchtorgan). I, Pigmenthülle (im lebenden Zustand rot gefärbt); 2, Posteriore Zellmasse; 3-6, verhschiedene Zelltypen (A, B, C, D) der PZM; 7, Linse; 8, Laterne (=Streifenkörper); 9, Peripherer Blutsinus; 10, Kapillaren; 11, Ringgefäß; 12, die zwei afferenten Blutgefäße; 13, Zentraler Blutsinus; 14, zwei efferente Kanäle; 15, Anteriore Zellmasse AZP bzw. Zellen der Haube; 16, Lamellenring. Abbildungen reproduziert mit Genehmigung der Verlage Francis&Taylor (A, B) bzw. John Wiley & Sons (C). Kampa, 1957; Clarke & Hubbard, 1959; Clarke & Backus, 1964; Clarke & Kelly, 1964; Hardy & Kay, 1964; Boden et al., 1965; Neshyba, 1967).

Es gibt nur eine Arbeit, bei der die Autoren zunächst alle im Untersuchungsgebiet vorkommenden Arten im Labor untersucht haben und mittels z. B. spontaner Biolumineszenz oder aber auch elektrischer Stimulierung (Abbildung 7) die kinetischen und spektralen Parameter der zu erwartenden Lichtereignisse vermessen haben ("luminous signature"), und diese dann mittels Sonde im Freiwasser aufgenommener Biolumineszenz verglichen haben (Nealson et al., 1986). Dabei konnte eine starke Korrelation festgestellt werden zwischen den in vitro und in situ gemessenen Lichtsignalen. Leider liefern die Autoren nur die Parameter der im Labor gemessenen Signale (Dauer, Anstiegszeit, Abfallszeit), aber keine Abbildungen der gemessenen Signale. Die kinetischen Parameter scheinen aber möglicherweise ausreichend zu sein, hunderte Arten anhand ihres Leuchtens zu bestimmen (Evstigneev & Cheripanov, 1997). Bis auf einen dokumentierten Lichtblitz von Euphausia superba, ausgelöst durch elektrische Stimulierung (Abbildung 7), gibt es keine Informationen über die Form der Lichtblitze bei Euphausiaceen (Clarke et al., 1962a).

Einleitung - 39 -

1.9 Histologische Untersuchungen an Leuchtorganen

Der innere Aufbau sowie die Beziehungen der Leuchtorgane zu den umgebenden Geweben werden zunächst anhand einer Grafik, die alle bisherigen Untersuchungen zusammenfasst, erläutert. Anschließend wird die historische histologische Erforschung der Leuchtorgane wiedergegeben. Dabei wird besonderes Augenmerk auf die Beschreibungen der Verbindungen der Leuchtorgane zu ihrer Umgebung gelegt; der innere Aufbau wird nur sehr kurz behandelt.

Der innere Aufbau der Leuchtorgane der Euphausiaceen in Thorax und Abdomen ist in den Abbildungen 8 und 9 dargestellt. Im natürlichen Zustand sind sie kugel- bis eiförmig mit einem Durchmesser von 100-400 µm (abhängig von Art und Individuengröße). Ein Großteil der Oberfläche ist hell rot gefärbt, ein vorderer distaler Pol ist durchsichtig und liegt dem proximalen Pol gegenüber (durch beide Pole verläuft nach Herring und Locket (1978) die Längsachse des Leuchtorgans). Im histologischen Schnitt am auffälligsten sind die bikonvexe Linse, sowie der zentral in einem Blutsinus gelegene, von Endolymphe durchströmte

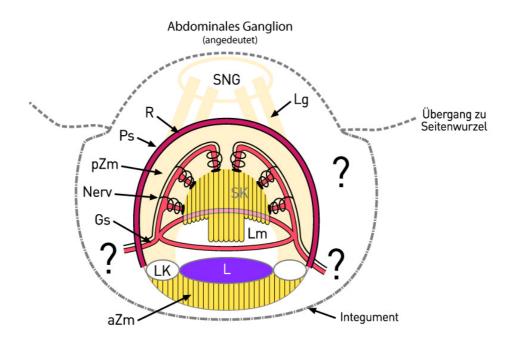


Abbildung 9. Schematische Zeichnung, welche die bisher bekannten Informationen der abdominalen Leuchtorgane zusammenfasst. Das Leuchtorgan ist mit seiner Leuchtachse dorsoventral ausgerichtet. Azm, anteriore Zellmasse. Gs, Gefäßsystem; L, Linse; Lg, Ligament(e); LK, Lamellarkörper; Lm, Lumen; Ps, Pigmentschicht; pZm, posteriore Zellmasse; R, Reflektor; Sk, Streifenkörper; SNG, Subneuralgefäß.

- 40 - Einleitung

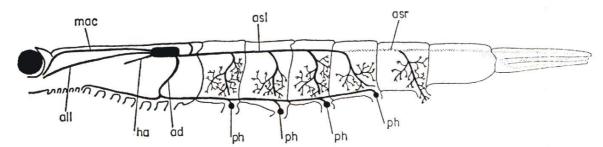


Abbildung 10. Blutkreislauf von M. norvegica nach Mauchline & Fisher (1969). ad aorta descendens; all linke arteria lateralis; asl linke arteria abdominalis superior; asr rechte arteria abdominalis superior; ha linke arteria hepatopancrea; mac mediane aorta cephalica; ph Photophore mit Ast von der aorta descendens. Die Blutversorgung der thorakalen Leuchtorgane und der Augen ist nicht eingezeichnet. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von Elsevier Ltd.

parakristalline Streifenkörper (bzw. die "Laterne", eine wie die Linse ebenfalls extrazellulär gebildete Struktur). Um den Streifenkörper herum proximal gelegen befindet sich die posteriore Zellmasse, die mindestens 4 verschiedene Zelltypen enthält (A, B, C- und D-Zellen nach (Herring & Locket, 1978)). Diese Zelltypen werden rein morphologisch unterschieden, da zellbiologische Eigenschaften nicht bekannt sind. Die A-Zellen liegen peripher unterhalb der Pigmenthülle (s.u.). Die B-Zellen bilden den Streifenkörper und bleiben mit ihm verbunden; sie liegen dem zentralen Sinus an. Die C-Zellen liegen zwischen den B-Zellen und umschließen die Endigungen der Kapillaren, welche in den Sinus münden. Sie enthalten vermutlich kontraktile Elemente und es wird postuliert, dass sie den Durchfluß durch die Kapillaren steuern (Herring und Locket 1978; Krönström et al. 2009). Die Zellkerne der D-Zellen liegen zwischen den A-Zellen, dieser Zelltyp scheint die Kapillaren zu bilden (Herring und Locket 1978).

Distal von der Linse liegt die anteriore Zellmasse. Anterior-lateral zur Linse ist ein irisartiger Lamellenring ausgebildet. Der gesamte posteriore Teil des Leuchtorgans ist von diesem Ring an von einem als Reflektor interpretierten Struktur umgeben. Außen darüber gibt eine dünne Pigmentschicht den Leuchtorganen ihre rote Farbe. Seitlich, zwischen Reflektor und Lamellenring, treten zwei Blutgefäße (von der *Aorta descendens* kommend (Abbildung 10)) und zwei Nerven ein. Letztere laufen parallel zu den Blutgefäßen, teilweise sollen sie sich spiralig um die Blutgefäße winden. Die Blutgefäße spalten sich dichotom und treffen, halbkreisförmig um die Linse verlaufend, mit ihren gegenüberliegenden Partnern zusammen, so dass sie ein Ringgefäß bilden. Von diesem Ringgefäß verlaufen ca. 30-40 Arteriolen durch die posteriore Zellmasse, knicken dann in einem rechten Winkel ab, und münden in den zentralen Sinus. Die

Einleitung - 41 -

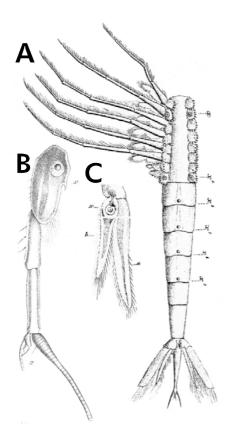


Abbildung II. Zeichnung von M. norvegica, aus Kröyer (1859). [A] Ventralseite mit den thorakalen und Abdominalen Leuchtorganen. [B] Lage des Leuchtorgans im zweiten Abdominalsegment. [C] Lage des Leuchtorgans im siebten Thorakalsegment. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von The Royal Danish Academy of Sciences and Letters.

Hämolymphe fließt dann durch den Streifenkörper und verlässt das Leuchtorgan durch zwei efferente Kanäle. Außen an den Leuchtorganen sollen für die Bewegung verantwortliche Muskeln und/oder Ligamente ansetzen, aber wie diese aussehen, und wo sie inserieren, ist unbekannt.

Im folgenden wird die historische Untersuchung der Leuchtorgane dargestellt, wobei der Schwerpunkt auf dem Verlauf der Blutgefäße, Nerven, und für die Beweglichkeit verantwortliche Strukturen außerhalb der Leuchtorgane ruht.

Eine der ersten Beschreibungen der Leuchtorgane der Euphausiaceen liefert J. V. Thompson: "The motions of this animal were observed to be lively and it gave out brilliant scintillations in the dark when disturbed" (S. 55 in (Thompson, 1828)). Er nannte die von ihm untersuchten Tiere "Noctiluca", bei denen es sich laut Chun (1896) um *Thysanopoda*. gehandelt haben dürfte (welche dann in *Nyctiphanes* (griechisch für "bei Nacht leuchtend") und anschließend in *Meganyctiphanes* umbenannt wurden).

- 42 - Einleitung

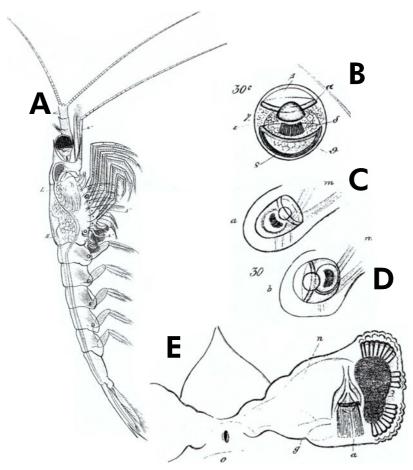


Abbildung 12. Zeichnungen der Lage und Form der Leuchtorgane von (vermutlich) Meganyctiphanes norvegica, aus Claus (1863); Anordnung der Bilder wie in Originalpublikation, (B)-(E) gegenüber (A) im Maßstab verdoppelt. [A] laterale Darstellung des gesamten Tieres. [B] Leuchtorgan, Schemazeichnung. [C] Leuchtorgan des Thorax, mit ansetzenden Bewegungsmuskeln. [D] Leuchtorgan des Abdomens, mit ansetzenden Bewegungsmuskeln. [E] Horizontalschnitt bzw. Frontalansicht der Stirn und der Augen mit Augenstiel und Lage des Augenleuchtorgans. Abbildung reproduziert mit Genehmigung der Elsevier GmbH.

Dana (1852) erwähnt bei *Euphausia sp.* "nahe der Basis der vier Abdominalfüsse, ferner am Grunde des zweiten und sechsten Brustfusses kleine rothe Kugeln, welche Augen ähnlich unter einer Linse lägen, deren Natur indess nicht erkannt werden konnte" (übersetzt von Chun 1896). Aufgrund des Leuchtens schuf Dana den Gattungsnamen "Euphausia" (griechisch "ho phaúsis" - der Glanz), auch wenn er anscheinend nicht wusste, wo das Licht entsteht. ["The Euphausiæ are brilliantly phosphorescent, and hence the name of the genus; the phosphorescence proceeds from a part of the cephalothorax. The species sometimes have a minute red globule near the base of four of the abdominal legs either side, and also two pairs in the cephalothorax near base

Einleitung - 43 -

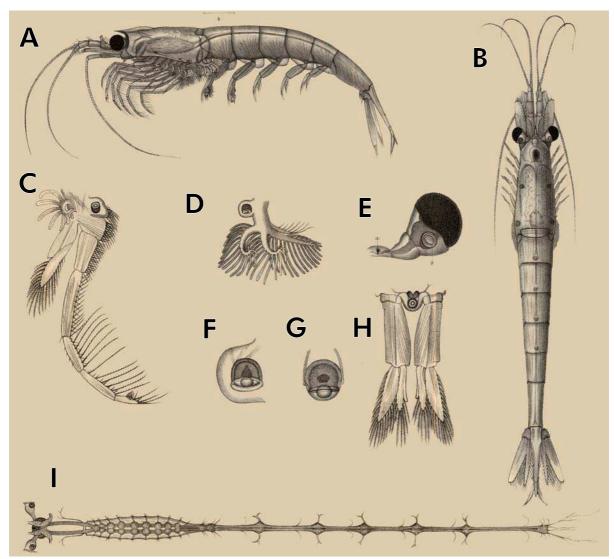


Abbildung 13. Zeichnungen von Euphausia pellucida, von G.O. Sars (1885). [A] Lateralansicht. Maßstab 0,5 cm. [B] Dorsalansicht. [C] Bein des zweiten Thoraxsegments. [D] Bein des siebten Thoraxsegments. [E] Ventralansicht eines Auges. [F] Leuchtorgan des Thorax. [G] Leuchtorgan des Abdomens. [H] Abdominales Beinpaar mit Leuchtorgan. [I] Nervensystem. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von Elsevier GmbH.

of second and sixth pairs of legs. They appear glassy under a lense, as if an eye; but we have been unable to assure ourselves of the true nature of the organ" (Dana (1852), Seiten 640-641).]

Kröyer wusste nicht, dass die Leuchtorgane leuchten, sondern hielt sie für Hörorgane (Kröyer, 1859). Er hat aber ihre Lage und Form beschrieben, und entsprechende Zeichnungen angefertigt (Abbildung 11).

- 44 - Einleitung

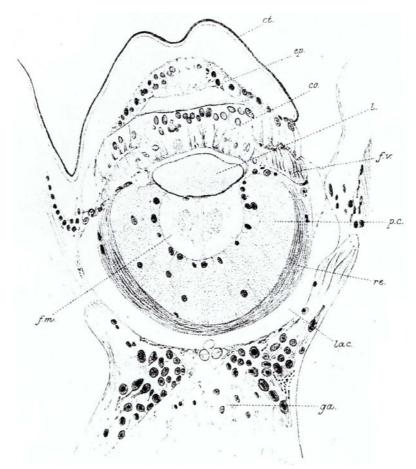


Abbildung 14. Zeichnung eines Horizontalschnitts durch ein abdominales Leuchtorgan, aus Vallentin & Cunningham (1888). Bei der Abbildung sind ventral oben und dorsal unten angeordnet. Ct., Kutikula; ep, Epidermis; f.r., Faserring ("fibrous ring"); f.m., fibrilliäre Masse; ga. Ventrales Ganglion; I., Linse; lac., Blutlakune; p.c., Posteriore Zellschicht; re., Reflektor. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von The Company of Biologists.

Claus (1863) bestätigt die von Kröyer beschriebene Lage der Organe; er selbst vermutet, dass es sich um "complicierte Sehwerkzeuge" handelt, und untersucht sie erstmals eingehend (Abbildung 12). Er beschreibt sie als rot pigmentierte, walzenförmige Körper, nahe an den Ganglien liegend. Die als acht akzessorische Augen betrachteten Leuchtorgane zeigen laut Claus keine erheblichen Unterschiede im allgemeinen Bau. Jeder Bulbus liegt in einer kuglig aufgetriebenen Erhebung der Körperbedeckung, mittels zarter Fäden befestigt und durch mehrere schräge Muskelbünde beweglich. Sie liegen am Basalglied des zweiten Brustfußes, des siebten rudimentären Fußes und zwischen den vier vorderen Schwimmfüßen des Abdomens. Sie besitzen Muskeln, welche die Organe hin- und herrollen können.

Einleitung - 45 -

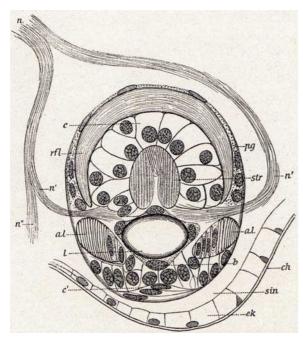
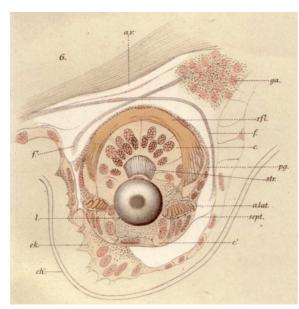


Abbildung 15. Schemazeichnung eines thorakalen Leuchtorgans von Nematoscelis mantis, aus Chun (1893). Diese Abbildung ist die am weitesten verbreitete Schemazeichnung in (deutschsprachigen) Lehrbüchern. a.l., Lamellenring; b., Bildungszellen der Linse; c., Zellkörper; c'., Abgeplattete Zellen der Aussenfläche; ch., Chitinskelett; ek., Matrix des Chitins; I., Linse; n., Leuchtnerv; n'., Gabeläste des Leuchtnerven; n'., Extremitätennerv; pg., Pigment; rfl., Reflektor; sin., Blutsinus; str., Streifenkörper. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von E.Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung OHG Science Publishers.

Die in den Augenstielen liegenden großen Leuchtorgane wurden von Claus nicht in die gleiche Kategorie eingeordnet, in der entsprechenden Zeichnung aber in ihrer richtigen Lage verzeichnet. Er beschreibt auch den inneren Aufbau mit einem halbkugeligen, nach vorn geöffneten, pigmentierten Becher mit Glaskörper, Streifenkörper ("gestreifter Körper") und Linse.

Semper studierte die Leuchtorgane auf einer Reise durch Südostasien bei Thysanopoda sp. und beschreibt sie als "einfache Augen (...) mit Glaskörper, Linse, Pigmenthaut und Nerv". Er erwähnt auch die Beweglichkeit der abdominalen Leuchtorgane (Semper, 1862). Er schrieb: "Ich würde dies Thier nicht erwähnt haben, wenn es nicht durch eine Anzahl von Organen sehr ausgezeichnet würde, die meines Wissens noch bei keinem Crustaceen gefunden wurden. Es sind dies sieben einfache Augen, welche alle wesentlichen Merkmale eines solchen Organes zeigen, Glaskörper, Linse, Pigmenthaut und Nerv. Das Auffallendste ist die Lage dieser Organe. Zwei Paar derselben liegen an der Bauchseite des Thorax, das erste an der Basis des zweiten wahren Brustfusses, das andere hinter der Basis des letzten Brustfusses. In der Mittellinie an der Bauchseite des Abdomens liegen die übrigen drei, die beiden ersten in den ersten beiden Hinterleibsgliedern, das dritte im vierten Gliede; alle drei zwischen der Basis der Beine in einer kleinen Auftreibung. Diese drei Augen des Hinterleibes sitzen direct den entsprechenden Ganglien desselben auf, während die zwei Paar Thoraxorgane seitlich vom

- 46 - Einleitung



16. Zeichnung Abbildung (Holzschnittdruck) eines abdominalen Leuchtorgans von Euphausia gracilis, Sagittalschnitt, aus Chun (1896). a.lat., Lamellenring der Linsenorgane; a.v., arteria ventralis; c., Zellkörper; c'., vor der Linse gelegener Zellkörper; ch., Chitinwand; ek., Ektodermzellen (Matrixzellen des Chitinpanzers); f. und f'., Faserstränge; ga., Ganglienzellhaufen; I., Linse; pg., rothes Pigment der Linsenaugen; rfl., Reflektor; sept., den Blutsinus durchziehendes Septum; str., Streifenkörper. Vergrößerung 400/I. Abbildung reproduziert mit Genehmigung der E.Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.

centralen Nervensystem liegen, und jedes auf einer kleinen ganglienartigen Anschwellung des Nerven sitzen. Ausserdem sind die letzteren vier Augen, freilich in geschränktem Grade, beweglich; den bewegenden Muskel habe ich freilich nicht auffinden können, die Bewegungen waren aber zu stark sichtbar, als dass eine Täuschung möglich gewesen wäre."

In der (offiziellen) Erstbeschreibung von 1857 geht M. Sars nicht weiter auf die Leuchtorgane ein. In einer weiteren (älteren) Arbeit beschreibt er *Meganyctiphanes norvegica* weitergehend und vermutet wie Semper, dass es sich bei den kugeligen Gebilden um akzessorische Augen handelt. Er beschreibt sie als "halbkugelige dunkel-blutrote Kapseln (...) Augen mit Sclera, Choroidea, Cornea, Iris, Linse" (Sars, 1864).

G. O. Sars (Sars, 1883; Sars, 1885) hingegen kennt die Biolumineszenz von lebenden Tieren aus eigener Beobachtung ("luminous globules"), und schließt daraus, dass es sich nicht um Augen, sondern dass es sich beim einzelnen Organ um ein "complicated and peculiarly developed luminous or phosphoescent apparatus" ["einen komplizierten und eigenartig entwickelten leuchtenden oder phosphorizierenden Apparat" Übersetzung T. Fregin] handelt. In den Abbildungen hat G.O. Sars die Leuchtorgane alle in ihren natürlichen Positionen in den Tieren dargestellt (Abbildung 13). Er beschreibt ihre knallrote Farbe, die perfekt runde Form, sowie erwähnt 2–3 in der Äquatorregion ansetzende Muskeln, die sie jeweils an Ort und Stelle halten bzw. für ihre Bewegung verantwortlich sind. Die 8 Organe des Thorax und Abdomens liegen alle in Ausbeulungen der Kutikula. Er beschreibt auch die zwei Leuchtorgane in den Augenstielen, die eine andere Form haben: der innere Aufbau entspreche den übrigen

Einleitung - 47 -

Leuchtorganen, ihnen fehle aber die vordere Hemisphäre (die Linse). Er stimmt darin überein, dass die Organe leicht für akzessorische Augen gehalten werden können, wenn man ihre Lumineszenz nicht kennt.

Für die Artenbeschreibung definiert G.O. Sars (1885): "Genus Euphausia: (...) Phosphorescent globules (ocelli) present in the adult, on all postabdominal segments, between the bases of the pleopoda, except on the two last; 2 pairs of similar organs on the anterior division of the body, at the base of the 2nd and 7th pair of legs, beside another pair of imperfectly developed luminous globules in the ocular pedicles."

Patten untersucht die Organe in einer Arbeit über die Augen von Muscheln und Krebsen (Patten, 1886). Er kommt zu dem Schluss, dass es sich doch um Augen, wenn zwar nicht zum Sehen von Gegenständen, sondern zur Absorption von Lichtenergie handelt, und widerspricht Sars vehement. Er überlegt, ob aus Augen evolutiv Leuchtorgane werden könnten, spricht sich aber dagegen aus, da die von ihm untersuchten Strukturen, die er als Stäbchen und Retina interpretiert hat, sowie die Sehnerven degeneriert sein müßten. Die von anderen beobachtete Lichtproduktion führt er eher auf Reflektion einfallenden Lichtes innerhalb der akzessorischen Augen zurück (ein Tapetum wie in vielen nachtaktiven Tieren zu finden). Zeichnungen der Leuchtorgane sind seiner Arbeit nicht beigefügt.

In einer Anmerkung der Redaktion am Ende des Artikels von Patten wird auf eine zwischenzeitliche Beobachtung von Meyer und Giesbrecht hingewiesen, die lebende Tiere untersuchen konnten und ein Leuchten bezeugen und damit die Aussagen von Sars bestätigen.

Eine histologische Untersuchung der Leuchtorgane von Nyctiphanes norvegica G.O. Sars wurde erstmals in Schottland von Vallentin und Cunningham durchgeführt (Vallentin & Cunningham, 1888). Die Zeichnung 1 dieser Publikation wird bis heute in vielen weiteren Artikeln nachgedruckt, weswegen sie auch hier abgebildet und erläutert ist (Abbildung 14). Einbettungsmittel sowie Schnittarten und eventuelle Färbungen sind unbekannt; es wird nur erwähnt, das Karmin einige Strukturen der Leuchtorgane besser färbt, v.a. Zellkerne. Die Organe selbst ("phospheria") werden als rote Halbovale mit Übergang zum durchsichtigem Vorderteil mit der Linse beschrieben. Am Übergang gäbe es zelluläre Verbindungen ("cellular strands") zur Epidermis, über die vermutete Nervenimpulse laufen könnten. Die Organe selbst lägen in Lakunen. Bei den thorakalen Leuchtorganen seien noch dünne Muskelbänder zu

- 48 - Einleitung

finden, die bei den abdominalen Leuchtorganen fehlten. Die subneurale abdominale Arterie zieht zwischen Ganglien und abdominalen Leuchtorganen hindurch.

Die Augenstielleuchtorgane unterscheiden sich laut Vallentin und Cunningham (1888) von den übrigen durch das Fehlen einer Linse, und auch eine Cornea sei nicht als separate Schicht erkennbar. Neben einer Abschirmung zu den lichtsensitiven Ommatiden sei der innere Aufbau der Leuchtorgane vergleichbar mit den übrigen. Desweiteren hypotetisieren die Autoren, wie die Organe embryonal entstehen könnten, was für Funktionen die Organe haben könnten, und an welcher Stelle im Organ das Licht gebildet wird. Außerdem vergleichen sie die Lichtbildung mit den in anderen Arten beobachteten Ergebnissen. Sie halten frisch gefangene Tiere im dunkeln in Gläsern mit Seewasser, und beobachten einzelne Blitze, aber nie kontinuierliches Leuchten. Tiere, die mit der Hand gegriffen wurden, gaben für 5-10 Sekunden Dauerlicht von sich, wobei die Tiere wilde Fluchtreaktionen ("tail flips") zeigten. An lebenden Tieren versuchen sie, mittels Quetschpräparaten der Leuchtorgane, den Ort der Lichtentstehung zu finden. Sie vermuten, dass das Licht in der Reflektorschicht entsteht, sind aber nicht überzeugt davon.

Chun untersucht 1893 und ausführlicher 1896 die Leuchtorgane von Nematoscelis (Abbildung 15), Stylocheiron sowie Euphausia gracilis (Abbildung 16). Er hat diese Arten selbst auf Forschungsreisen gefangen und kennt deren Biolumineszenz vom lebenden Tier. Die Publikation von Vallentin und Cunningham (1888) kennt er während der Erstellung des Artikels 1893 nicht, hat aber einen Nachtrag dazu dem Artikel beigefügt, in dem er u.a. die Beobachtungen zum Ort der Lichtentstehung sowie die Unterschiede zu seinen Funden beim Augenstielleuchtorgan kommentiert.

Welche Techniken Chun zum Studium der Leuchtorgane verwendet hat, beschreibt er nicht, außer dass er anmerkt, Glycerin- Chromosmiumpräparate verwendet zu haben. Patten zitiert er als den einzigen Beobachter, der die Leuchtorgane an Schnitten studiert hätte, stimmt mit diesem aber in keiner einzigen der Beobachtungen überein. Chun beschreibt den histologischen Aufbau der verschiedenen Leuchtorgane und dokumentiert diesen mit Zeichnungen, von denen eine (Abbildung 15) bis heute in Lehrbüchern der Speziellen Zoologie (z.B. Westheide, Rieger) regelmäßig verwendet wird.

Einleitung - 49 -

Bei den Leuchtorganen der Augenstiele beschreibt Chun einen Nerv, der am Pol des Reflektors durch eine trichterförmige Öffnung eintreten soll. Bei den thorakalen Leuchtorganen entdeckt er einen Nerv, der vom Bauchganglion abgehend sich in zwei Äste aufspaltet, die seitlich am Leuchtorgan inserieren. Der mediane Ast spalte sich abermals und versorgt noch die Extremität. Ein Nervennetz im Inneren der Leuchtorgane kann er nicht entdecken. Die Eintrittsstellen der zwei Nerven lägen auf der Drehachse der Leuchtorgane.

Die allseitig von einem Blutsinus umgebenen Leuchtorgane liegen in halbkugeligen Vortreibungen der Chitinwand, sind mit der proximalen Hälfte fast völlig im entsprechenden Ganglion eingebettet, und können durchweg von Muskeln entlang der Medianebene gedreht werden. Die Drehachse falle auf die lateralen Eintrittspunkte der zwei Nervenbündel. Bei den thorakalen Leuchtorganen sieht Chun Muskeln schräg herantretend, wie schon von Vallentin und Cunningham (1888) beschrieben. Bei den abdominalen Leuchtorganen waren diese schwerer zu finden: "Thatsächlich sind sie [die Muskeln] denn auch hier an Schnitten schwer nachweisbar und ich habe sie nur einmal auf Längsschnitten durch das Abdominalorgan von Stylocheiron mastigophorum deutlich zu Gesicht bekommen. Hier verliefen drei Fasern zum Reflektor, welche unterhalb der Baucharterie entsprangen und schräg den Blutsinus durchsetzend an den nach vorn gekehrten Rand des Reflektors herantraten. Sie zeigten keine Querstreifung, stimmten übrigens mit den Fasern der Abdominalmuskulatur (welche an dem betreffenden Präparat die sonst deutliche Querstreifung vermissen liessen) so völlig im Aussehen überein, dass ich keinen Anstand nehme, sie als Muskeln aufzufassen. Zweifelhaft ist es mir indessen, ob jene eigenartigen Faserstränge, die ich nur bei Euphausia gracilis beobachtete, ohne Weiteres als contraktile Fasern in Anspruch genommen werden können. Sie entspringen in den Winkeln, welche die nervöse Masse der Ganglienknoten mit dem Ektoderm bilden, und verlaufen sich kreuzend und das Leuchtorgan umgreifend durch den Blutsinus" (Chun 1896, S. 207; siehe Abbildung 16).

Auch beschreibt er die *Aorta descendens*: sie teilt sich in einen anterioren und posterioren Ast, die an verschiedenen Stellen durch die Ganglienkette durchtreten und in Thorax und Abdomen durchziehen.

Chun beschäftigt sich auch mit dem Ort der Lichtentstehung, allerdings untersucht er keine lebenden Tiere. Er kommt zum Schluss, dass das Licht im Streifenkörper gebildet wird.

- 50 - Einleitung

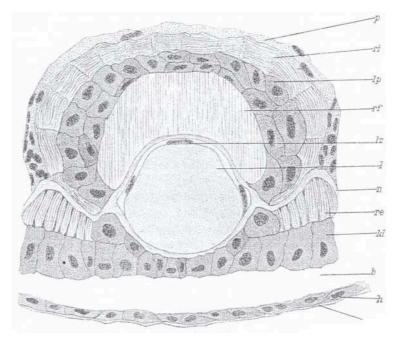
Giesbrecht untersucht die beiden Hypothesen zum Ort der Lichtentstehung an lebenden Tieren, an Larvalstadien von Euphausia spec. (Giesbrecht, 1896). Er schließt sich der Meinung von Chun an, da er in den Tieren die embryonalen Stäbchenbündel, aus denen sich der Streifenkörper bilden soll, zu einem Zeitpunkt leuchten sieht, wo noch kein Reflektor gebildet ist. Er kann aber nicht sagen, ob der Streifenkörper selbst, oder die ihn umgebenden Zellen das Licht produzieren. Da der Streifenkörper aber selbst ein totes Produkt, ein Sekret oder Kutikulargebilde darstelle und er in einer älteren Untersuchung festgestellt hat, dass die chemischen Prozesse, die bei Copepoden zur Lichtbildung führen, extrazellulär ablaufen (Giesbrecht, 1895), hält er diese Hypothese für sehr wahrscheinlich. Er erwähnt auch, dass durch die Quetschpräparate, die von den vorgenannten Autoren verwendet wurden, es möglich ist, dass auch innerzelluläre Substanzen, die normalerweise sekretiert werden, anfangen können zu leuchten.

Doflein berichtet 1906 in einem Vortrag (zusammengefasst in Doflein, 1906) von seinen Beobachtungen während einer Asienreise. Beobachtet wurden von ihm, dass die Lichtentwicklung im Streifenkörper stattfände, dass die Leuchtorgane nur sehr schwach innerviert seien, dass die bisher nachgewiesene Innervierung zum größten Teil den Muskeln, welche das Abdrehen und Einstellen der Organe übernehmen diene und dass bei abdominalen

Leuchtorganen einer untersuchten Art ein feiner Nervenstrang zu finden sei, welcher von einer ganz riesigen Ganglienzelle des nächstgelegenen Bauchmarkganglions ausging.

Trojan wendet sich ebenfalls der Frage nach dem Ort der Lichtentstehung zu (Trojan, 1907). Er hat lebende Tiere (*Nyctiphanes conchii*) in Neapel sowie konserviertes Material in Prag untersucht. Histologisch kommt er im Großen und Ganzen zu den gleichen Ergebnissen wie Chun (Abbildung 17). Zur Innervation der thorakalen und abdominalen Leuchtorgane schreibt er, dass zwei Äste im Bogen um ein Organ herumgreifen und seitlich in dieses eintreten. Anders als Chun findet er nicht, dass die Nerven zum Streifenkörper alleine zulaufen, sondern dass sie sich nach Eintritt in das Leuchtorgan dichotom teilen und die Linse umgreifen. An Quetschpräparaten versuchte er den Ort der Lichtentstehung zu finden. Seine Vorarbeiter waren an diesen Präparaten zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen: Vallentin und Cunningham sahen den Reflektor, Chun den Streifenkörper als Ort der Lichtentstehung an. Trojan kann keine der beiden Stellen leuchtend beobachten, sondern nur die sezernierenden Zellen zwischen Reflektor und Streifenkörper, die er daher "Leuchtzellen" nennt. Den

Einleitung - 51 -



A b b i I d u n g I 7. S c h e m a z e i c h n u n g (Holzschnittdruck) eines Leuchtorgans von Nyctiphanes conchii, aus Trojan (1907). b, Blutsinus; c, Cuticula; h, Hypodermis; Id, distale Leuchtzellen; Ip, proximale Leuchtzellen; Iz, Linsenzellen; n, Nerv; re, äusserer Reflektor; rf, Refraktor; ri, innerer Reflektor; p, Pigment; Vergrößerung 40 fach. Abbildung reproduziert mit Genehmigung von Springer Science and Business Media.

Streifenkörper wertet er als Refraktor; dieser, Linse und Reflektor sind für ihn optische Hilfsapparate (Abbildung 17).

Zimmer untersucht die inneren Organe von Euphausia superba. Er verwendet dabei mit Sublimat fixiertes Material, über welches er sagt: "Das Material war in Sublimat konserviert und sein Erhaltungszustand nicht schlecht, aber bei den einzelnen Exemplaren etwas ungleichmäßig. Freilich, für feinere histologische Untersuchungen reichte er nicht aus" (Zimmer, 1913).

Die Leuchtorgane selbst hat Zimmer nicht untersucht, auch die Betrachtungen über das Nervensystem sind sehr kurz geraten. In dem Abschnitt über das Gefäßsystem, wo er anschließend seine Beobachtungen mit denen von Chun und Claus vergleicht, schreibt er über die Blutversorgung der abdominalen Leuchtorgane: "Nach Abgabe der beiden Seitenäste verläuft die Arterie nach hinten, immer eng an das Mark angeschmiegt. Am ersten Leuchtorgan gibt sie von der Ventralseite zwei dünne Gefäße ab, die an das Leuchtorgan herantreten. Am zweiten Leuchtorgan wiederholt sich diese Anordnung, doch tritt hier aus der

- 52 - Einleitung

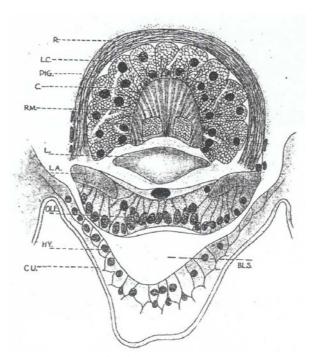


Abbildung 18. Schemazeichnung eines Leuchtorgans von Nyctiphanes norvegica (=Meganyctiphanes norvegica), aus Dahlgren (1916). Pig., Pigmentschicht; R, Reflektor; L.C., Lichtzellen; C., Kapillare; La, Lamellen; O.le., äußere Linse; R.M., Stäbchenmasse ("rod mass"); Hy, Hypodermis; Bl.S., Blutsinus; Cu, Kutikula. Abbildung reproduziert mit Genehmigung der Elsevier Ltd.

Ventralseite der Arterie noch ein drittes Gefäß, das eine ganz kurze Strecke, sich an die Arterie anschmiegend, nach hinten läuft und dann endet (ebenso am 3. abdominalen Leuchtorgan). Beim vierten teilt sich die Arterie, die jetzt infolge der Abgabe der verschiedenen Äste schon recht schwach geworden ist, in drei Gefäße, von denen zwei an das Leuchtorgan herantreten und das dritte nach einem ganz kurzen, nach hinten gerichteten Verlaufe verschwindet".

Desweiteren vermutet Zimmer, dass die in *E. superba* zu findende Verdopplung der Aorta posterior darauf zurückzuführen ist, dass die Abdominalarterie allein für die Versorgung der Leuchtorgane zuständig ist. Deswegen ist es in der von Chun untersuchten Art *Stylocheiron* auch nicht zu einer solchen Verdopplung gekommen, da dort nur 1 abdominales Leuchtorgan vorhanden ist, und die Abdominalarterie daher auch noch einen Teil der Blutversorgung des Abdomens übernehmen kann.

Einleitung - 53 -

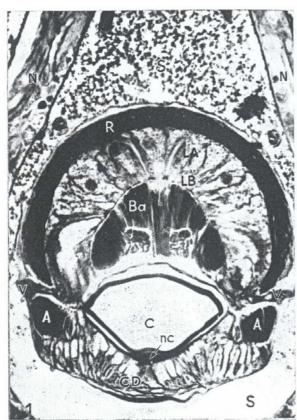


Abbildung 19. Erstes publiziertes Foto eines histologischen Schnitts durch ein abdominales Leuchtorgan, aus Bassot (1966). A, Lamellenring ("anneau lamellaire"); Ba, Zone mit Battonets ("zone des bâtonnets"); C, Linse ("cristallin"); nc, Zellkern der Linse ("noyau du cristallin); CD, Haube ("calotte distale de cellules lumineuses A et B"); LA, LB, Zellen des proximalen (=posterioren) Pols ("cellules lumineuses A et B de la cupule proximale"); N, Nervenwurzeln des Ganglions ("chaîne nerveuse"); R, Reflektor; S, Blutsinus; V, Brücken der Nerven zum Leuchtorgan ("vaisseaux et nerfs du photophore"). Abbildung reproduziert mit Genehmigung der Sociéte Zoologique de France.

Raab, der schon längere Zeit an einer Arbeit über die Anatomie von Meganyctiphanes norwegica gearbeitet hat, sieht sich zu einem kurzen Vergleich zwischen seinen Ergebnissen, die erst etwas später erscheinen konnten, und denen von C. Zimmer, der an Euphausia superba gearbeitet hatte, gezwungen (Raab, 1913). Generell bestätigt er die Funde von Zimmer, und legt die Unterschiede im Verdauungstrakt, Nervensystem, Gefäßsystem, männlichem und weiblichem Genitalapparat sowie Antennendrüse dar. Auf die Leuchtorgane geht er nicht ein. Wenig später erscheint seine umfangreiche Arbeit (Raab, 1915), in der er anhand von Paraffinschnitten sowie Zupfpräparaten den Darmkanal, die Mitteldarmanhänge, das Nervensystem, die Genitalapparate, das Gefäßsystem samt Herz, Ostien und Perikard, die Exkretionsorgane, sowie generelle Betrachtungen über die systematische Stellung der Euphausiaceen gegenüber den Mysidaceen und Dekapoda beschreibt. Er betrachtet zwar das Blutgefäßsystem und das Nervensystem, hat sich die Verbindungen zu den Leuchtorganen sowie diese selbst nicht weiter angesehen.

Interessant sind jedoch einige seiner Beobachtungen zum Blutgefäßsystem. Die Aorta descendens, dass größte Gefäß, geht von der Ventralseite des Herzens dicht an seinem Hinterende ab, verläuft bogig, die Gonaden seitlich umgreifend nach der Ventralseite. Sie teilt

- 54 - Einleitung

sich, und die beiden Äste durchbohren das Nervensystem im 5. bzw. an der Grenze zwischen 6. und 7. Thorakalsegment. Der vordere Ast (Arteria sternalis) entsendet im rechten Winkel Gefäße in die Beine des 5. Segments, und konnte bis ins zweite Thoraxsegment verfolgt werden, wobei sie in jedem Segment Seitenäste zu den Extremitäten entsendet. Außerdem entsendet es im 5. Segment ein unpaares Gefäß posterior ins 6. Thorakalsegment, welches sich dort teilt und die Beine versorgt. Der hintere Ast der Aorta descendens verläuft als Arteria abdominalis inferior durch die letzten Thorakalsegmente und durch das gesamte Abdomen. In den Segmenten 7 und 8 gehen Seitengefäße ab.

Dahlgren beschreibt die Lichtproduktion in diversen Stämmen des Tierreichs in einer zwölfteiligen Serie. Im Abschnitt über die Schizopoden zitiert er vor allem Chun; es wird nicht ganz klar, ob er auch selbst anatomische Untersuchungen durchgeführt hat (Dahlgren, 1916). Eine seiner Zeichnungen enthält die Information "drawn by E. Grace White from a preparation" (Abbildung 18). Er beschreibt daneben Lebendbeobachtungen: W.H. Dall berichtete ihm von leuchtenden Oberflächenschwärmen am Puget Sound im April. Dahlgren selbst hat leuchtende Oberflächenschwärme von *Nyctiphanes norvegica* in Passamaquoddy Bay, Maine, beobachtet. Ausserdem zitiert er M. Prince, die im Herbst an den Strand gespülte leuchtende Schwärme auf der Campobello Insel, Maine, gesehen hat.

Pierantoni untersucht die Entwicklung (v.a. des Streifenkörpers) der Augenstiel-Leuchtorgane in den Juvenilstadien von *Nyctiphanes norvegica* (Pierantoni, 1921).

Mauchline untersucht das Blutgefäßsystem von Meganyctiphanes norvegica (Mauchline, 1958a). Er bestätigt die Beobachtungen Raabs, allerdings wesentlich präziser v. a. die Versorgung der Organe und das Sinussystem. Die Arteria abdominalis inferior verlaufe nicht, wie von Raab beobachtet, durch das gesamte Abdomen, sondern endet im vierten abdominalen Leuchtorgan (wie von Zimmer (1913) an E. superba beobachtet). Weitere Beobachtungen bezüglich der Blutversorgung der Leuchtorgane werden nicht geschildert. In einer weiteren Publikation (Mauchline, 1958b) untersucht Mauchline die Blutversorgung der Komplexaugen von Krebsen, v.a. von Meganyctiphanes norvegica. Hier findet er, dass der erste Seitenarm der Augenarterie das Leuchtorgan im Augenstiel versorgt. Beim Erreichen des Leuchtorgans teilt sich die Leuchtorganarterie in drei Arme. Der mittlere Arm ist sehr fein, die zwei übrigen verteilen sich in vielen feinen Ästchen in der posterioren Zellschicht, sowie in den äußeren Schichten des Streifenkörpers, woraufhin das Blut das Leuchtorgan in den Leuchtorgan-Sinus verlasse.

Einleitung - 55 -

Hardy beschreibt die koordinierte Bewegung der Augen und Leuchtorgane in Meganyctiphanes norvegica in Abhängigkeit von einer äußeren Lichtquelle (Hardy, 1962). Außerdem hat er beobachtet, dass die vier abdominalen Leuchtorgane jeweils durch vier Bänder mit einem durch das Abdomen beidseits der Arterie verlaufenden Ligament verbunden sind, und das ähnlich wie Chun bei Stylocheiron beobachtet hat, auch bei dieser Art die Leuchtorgane innervierende Nerven vorhanden sind. Diesen "Rotationsmechanismus" und die Innervierung der abdominalen Leuchtorgane beschreibt er in einer weiteren Publikation etwas detaillierter (Hardy, 1964), allerdings ohne begleitende Abbildung. Die abdominalen Leuchtorgane sind seitlich an den Körperseiten befestigt; durch diese beiden seitlichen Befestigungen verläuft die Rotationsachse. An der gleichen Stelle inserieren auch die Blutgefäße und die Nerven. 4 Bänder inserieren an den Leuchtorganen, die zu einem Ligament verlaufen, welches längs der Subneuralarterie verläuft. Im Bereich der Leuchtorgane teilt sich das Ligament, in den übrigen Regionen ist es unpaar. Es verläuft vom ersten Abdominalsegment, wo es von zwei Muskeln, sowie elastischen Bindegewebsfäden, antagonistisch beweglich gehalten wird, bis hinter das vierte Abdominalleuchtorgan. Dort umschlingt das Ligament die Ganglienkette und endet anscheinend unbefestigt. Wenn die zwei kleinen Muskeln im ersten Abdominalsegment elektrisch stimuliert werden und kontrahieren, rotieren die vier Leuchtorgane gleichmäßig.

Bassot veröffentlicht in den 1960er Jahren mehrere Publikationen (Bassot, 1960a; Bassot, 1960b; Bassot, 1966), in denen er die innere Struktur der Leuchtorgane verschiedener Arten (vor allem *M. norvegica*, auch *N. megalops*, *Euphausia sp.*), genauer untersucht. Dabei verwendet er einerseits histologische Schnitte, die mit diversen klassischen Färbemethoden behandelt wurden (Abbildung 19), und des weiteren elektronenmikroskopische Aufnahmen. Seine Publikationen enthalten die ersten fotografischen Abbildungen von Leuchtorganen; seine Vorgänger waren allesamt auf Zeichnungen angewiesen, die oftmals mehr die Interpretation als die aktuelle Struktur zeigen. Bassot beschäftigt sich intensiv mit den einzelnen Zelltypen und der Innervation sowie der Blutversorgung innerhalb der Leuchtorgane, geht aber nicht auf den Verlauf der Blutgefäße, der Nerven und der für die Bewegung verantwortlichen Muskeln und Ligamente ein. Sie sind auch auf den Abbildungen nicht sichtbar.

Kurz nach der umfangreicheren Veröffentlichung von Bassot (Bassot, 1966) publiziert **Petersson** seine histologischen Studien (klassisch gefärbte Paraffinschnitte, 6-8 µm Dicke) an *M. norvegica (Petersson, 1968)*. Wie Bassot beschäftigt er sich vor allem mit der inneren Struktur

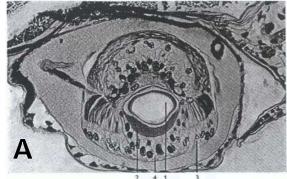
- 56 - Einleitung

der Leuchtorgane (Abbildung 20), kommt aber teilweise zu anderen Schlüssen: u. a. findet er im inneren der Leuchtorgane eine größere Anzahl von verschiedenen Zelltypen. Er arbeitet an juvenilen und adulten Stadien und analysiert die Entwicklung, und vergleicht seine Ergebnisse mit denen von Pierantoni (1921). Auf seinen Abbildungen sind die externen Strukturen der Leuchtorgane teilweise zu sehen, und er unterscheidet z. B. auch zwischen der sich aufspaltenden abdominalen Arterie und den von ihr zu den Leuchtorganen verlaufenden Photophoren-Arterien, die seitlich inserieren und sich im inneren dichotom aufteilen und einen Ring bilden. Von diesem gehen 30-40 kleine Arteriolen ab, die an der äußeren Peripherie verlaufen, und von denen Seitengefäße im 90°-Winkel in den Streifenkörper abzweigen und trichterförmig enden.

Dieses gilt nach Petersson sowohl für die thorakalen als auch die abdominalen Leuchtorgane. Bei den thorakalen Organen kommen die Photophoren-Arterien von der das jeweilige Bein versorgenden Arterie. Die thorakalen Organe werden von einem Seitenarm des Beinnerven innerviert, welcher als sehr dünner "Leuchtnerv" (mit 4-5 Axonen) durch den Blutsinus verläuft und lateral inseriert und dabei eng an dem lateralen Muskel der Photophore anliegt. Im Inneren verzweigt der Nerv dichotom und folgt im weiteren den Blutgefäßen. Um die endständigen Arteriolen ist er ca. 2-3 mal spiralförmig herumgewickelt und endet an den trichterförmigenbzw. manschettenartigen Arteriolenendigungen. Andere Nervenendigungen z. B. zu den einzelnen Zelltypen kann Petersson nicht entdecken.

Bei den abdominalen Leuchtorganen entdeckt er das gleiche Muster, nur das hier nicht nur einer, sondern zwei Leuchtnerven in die Leuchtorgane eintreten, die jeweils aus zwei Axonen bestehen. Ihre Herkunft ist unklar, sie verlaufen windend durch den Hämolymphraum, in dem die Leuchtorgane liegen. Das von Harvey beschriebene abdominale Ligament spricht Petersson als Muskelstruktur an. In der Beobachtung der Embryonalentwicklung geht er nicht detailliert auf die Bewegungs- und Versorgungsstrukturen der Leuchtorgane ein: er merkt an, dass im Furcilia-V-Stadium die abdominalen Leuchtorgane von den Muskeln bewegt werden können, und die Nervenverbindungen vorhanden sind, sowie die Leuchtorgane die adulte Form haben und der Blutsinus sie komplett umgibt. Er untersucht sowohl *M. norvegica, Nematoscelis microps, Stylocheiron abbreviatum, Euphausia gibboides* sowie *Thysanopoda sp.*, findet aber keine gravierenden Unterschiede. Aufgrund seiner Befunde schlägt Petersson vor, dass die Zellen die leuchtfähigen Substanzen abgeben, und diese wenn sie in Kontakt mit dem Sauerstoff aus dem Blut geraten, anfangen zu leuchten. Dafür spricht auch, dass die Nerven auf ringförmigen

Einleitung - 57 -



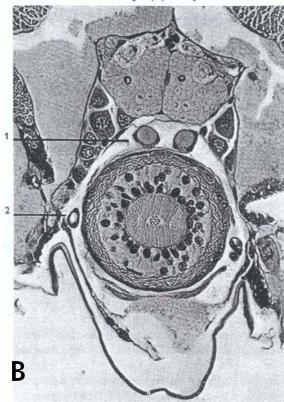


Abbildung 20. Paraffinschnitte (Bouin, µm) der Leuchtorgane von Meganyctiphanes norvegica, von Petersson (1968). [A] Thorakales Leuchtorgan. Sagittalschnitt. Links ist die (vermutlich) Blut- oder Nervenverbindung zu sehen, die in der Äquatorebene des Leuchtorgans inseriert. Rechts oben im Anschnitt die Photophoren-Arterie. I, Linse; 2, blasenartige Formation; 3, zylindrische Zelle; 4, polyedrische Zelle. 295x. [B] Abdominales Leuchtorgan, Schnitt horizontal zur Längsachse des LO. Gut zusehen die Kutikularausbuchtung sowie das segmentale Ganglion mit den am Leuchtorgan vorbeilaufenden Seitenwurzeln, sowie des geteilten Subneuralgefäßes. I, abdominale Arterie; 2, Photophoren-Arterie. 295x. Abbildungen reproduziert mit Genehmigung von Taylor & Francis.

Muskeln an den trichterförmigen Enden der Arteriolen enden. Seine Beobachtungen fasst er in Schemazeichnungen zusammen (Abbildung 8 [A], [B]).

Harvey untersucht den inneren Aufbau der abdominalen Leuchtorgane in *Euphausia pacifica* (Harvey, 1977) und konzentriert sich dabei vor allem auf den dioptrischen Apparat und den Weg des Lichts aus dem Leuchtorgan anhand von elektronenmikroskopischen Aufnahmen. Erwähnenswert ist die Beobachtung, dass es, anders als von älteren Beobachtern hypothetisiert wurde, wohl keine Muskeln zur Deformation der Linse und damit Änderungen ihrer Brechkraft gibt.

- 58 - Einleitung

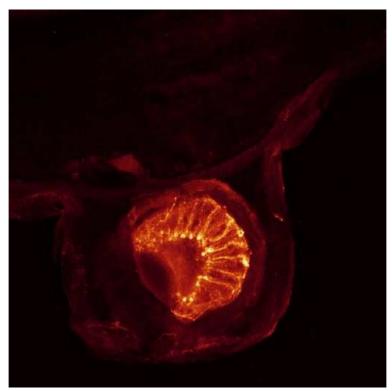


Abbildung 21. Abdominales Leuchtorgan von M. norvegica. Kryoschnitt, Sagittalebene, Fluoreszenzaufnahme (Cy3) mit Primärantikörper gegen Serotonin (5-HT). Durchmesser Leuchtorgan ca. 300 µm. Es ist ein feines Netzwerk zu sehen, welches den von Petersson beschriebenen Nervenfasern entsprechen könnte. Aus Fregin (2001).

Herring und Locket haben ebenfalls mittels klassischer Schnitttechniken und elektronenmikroskopischer Aufnahmen von Leuchtorganen der Art *Euphausia gibboides* den inneren
Aufbau analysiert (Herring & Locket, 1978). Sie bestätigen dabei vor allem die vorherigen
Ergebnisse und fassen ihre Beobachtungen in einer Schemazeichnung zusammen (Abbildung
8 [C]). Die abdominalen Leuchtnerven bestehen nach ihrer Beobachtung aus drei Axonen und
nicht aus zwei Axonen, wie von Petersson (1968) für *M. norvegica* beschrieben.

Land hat die Bewegung der Leuchtorgane der Art *Nematoscelis atlantica* in Abhängigkeit vom Einfallswinkel des Umgebungslichts untersucht (Land, 1980). Die Augenstiele festgelegter Tiere folgen dem Winkel in einem Bereich von 180°, und die thorakalen und abdominalen Leuchtorgane rotieren ungefähr synchron im gleichen Winkel. Genau konnte das nicht beobachtet werden, da die Leuchtorgane zu klein waren, um gefilmt zu werden, und nur unter dem Mikroskop beobachtet wurden. Vermutlich sind die Lichtaustrittsachsen aller 10 Leuchtorgane immer parallel zueinander. Die Tiere passen die Körperhaltung im Verhältnis

Einleitung - 59 -

zum Licht an, so dass die Ausrichtung zum Licht immer den gleichen Winkel hat. Grinnell und andere bestätigen diese Ergebnisse für *Euphausia superba* (Grinnell et al., 1988).

Latz und Case haben solch eine Ausrichtung der Augen und Leuchtorgane in Abhängigkeit von Umgebungslicht und Körperachsenlage bei dem dekapoden Krebs Sergestes similis beobachtet (Latz & Case, 1982). Anders als die Euphausiaceen verfügen diese Krebse über Statozysten, und haben daher bei der Bestimmung ihrer Position im Raum ein zusätzliches Hilfsmittel.

Land und andere haben die Augen von Euphausiaceen analysiert und sind vor allem auf die optischen Eigenschaften der Ommatidien eingegangen (Land et al., 1979). In ihrer Publikation gibt es die erste Abbildung mit einem Foto eines Vertikalschnitts durch ein Augenstielleuchtorgan.

Fregin zeigte eine erste Abbildung der für die Beweglichkeit der abdominalen Leuchtorgane verantwortlichen Muskeln, sowie eine serotonerge Immunreaktivität im Inneren der Leuchtorgane (Abbildung 21) sowie in der Innervierung der thorakalen Leuchtorgane (Fregin, 2001).

Krönström et al. zeigten neben der serotonergen Immunreaktivität in den Leuchtorganen auch eine für Stickstoffmonoxid NO (Krönström et al., 2007) sowie eine enge Verbindung der serotonergen Nervenendigungen mit den als "Sphinkter" benannten Strukturen an der Mündung der Blutkapillaren in die Lakune (Krönström et al., 2009).

- 60 - Einleitung

1.10 Neurobiologie und Pharmakologie des Leuchtens

Die Untersuchung der Biolumineszenz bei Euphausiaceen ist auch unter rein neurobiologischen Gesichtspunkten interessant (Clarac & Pearlstein, 2007). Der Neurotransmitter bzw. Neuromodulator Serotonin (5-Hydroxytryptamin, 5-HT) in der richtigen Konzentration im umgebenden Seewasser bringt Euphausiaceen reversibel zum Dauerleuchten (Kay, 1963). Die gleiche Wirkung hat in die Hämolymphe der Tiere injiziertes Serotonin (Fregin & Wiese, 2002), und in den Leuchtorganen wurden serotoninhaltige Strukturen mittels Immunhistochemie nachgewiesen (Fregin, 2001; Kronström et al., 2007). Der Serotoninagonist LSD (Lysergsäurediethylamid), ins umgebende Seewasser gegeben, löst irreversibles Leuchten der Leuchtkrebse aus (Kay, 1963; Herring & Locket, 1978). Wie und wo in den Tieren diese Substanzen genau wirken, ist unbekannt.

Serotonin kann in Nervenzellen verschiedene Eigenschaften haben. Entweder es dient als klassischer Neurotransmitter, und öffnet Ionenkanäle, oder aber es hat eher neuromodulatorische Eigenschaften, die über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren vermittelt werden. Bisher sind 7 verschiedene Serotoninrezeptorunterfamilien beschrieben worden (5-HT₁ - 5-HT₇). Die Familie 5-HT₃ besitzt als einzige einen Kationenkanal als Effektor, alle anderen beeinflussen vermutlich verschiedene Bestandteile der G-Protein-Kaskade (Einige Übersichtsarbeiten: Saudou & Hen, 1994; Barnes & Sharp, 1999; Raymond et al., 2001; Tierney, 2001; Filip & Bader, 2009).

So löst die 5-HT₁-Familie ihre Wirkungen über G_{i/o} (Erniedrigung der intrazellulären cAMP-Konzentration), 5-HT₂ über G_{q/11} (Erhöhung der intrazellulären DAG/IP₃-Konzentration), 5-HT₄, 5-HT₆ und 5-HT₇ über G_s aus (Erhöhung der intrazellulären cAMP-Konzentration). Der genaue Effektor der 5-HT₅-Familie ist bisher unbekannt, die Inhibierung der Adenylatzyklase weist auf eine Ähnlichkeit mit der 5-HT₁-Familie hin. Bis auf 5-HT₃ sind alle Serotonin-Rezeptoren relativ ähnlich gebaut: sie verfügen wie alle G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (Englisch "G-protein-coupled receptors, GPCRs") über 7 Transmembrandomänen; 5-HT₃ wird von einem Homopentamer gebildet (zusammengefaßt aus den weiter oben zitierten Übersichtsartikeln).

Einleitung - 61 -

Die zwei verschiedenen Rezeptortypen, auch ionotrope (bzw. ligandengesteuerte) und metabotrope (bzw. G-Protein-gesteuerte) Rezeptortypen genannt, beeinflussen die Reaktivität von Synapsen, die ihre Eigenschaften durch ihre Rezeptorausstattung erhalten. Der erstere Typ ist gekennzeichnet durch Ionenkanäle, die je nach ihren spezifischen Eigenschaften exzitatorische oder inhibitorische Wirkungen haben, und wo die Wirkungen von Neurotransmittern unmittelbar innerhalb weniger Millisekunden z. B. durch eine starke Depolarisation der Plasmamembran und einer damit verbundenen Auslösung eines Aktionspotentials sichtbar werden.

Der zweite Typ ist gekennzeichnet durch die Kopplung des Rezeptors an intrazelluläre sekundäre Botensysteme. Die G-Proteine bilden dabei die wichtigste Gruppe, bisher konnten alleine im Genom des Menschen über 800 G-Protein-Rezeptoren gefunden werden, wobei für über 140 davon der endogene Ligand noch nicht bekannt ist ("orphan-GPCRs") (Civelli et al., 2006). Bei diesem Typ sind die Wirkungen oftmals nicht direkt zu messen, und der zeitliche Rahmen kann von Sekunden bis zu Tagen reichen. Daneben gibt es noch die elektrischen Synapsen, bei denen es zu einer kontinuierlichen elektrischen Kopplung des Zytosols zweier unterschiedlicher Zellen kommt.

Aus dem postsynaptischen Spalt wird Serotonin durch einen Transporter (Serotonintransporter SERT) zurück in die Präsynapse transportiert. Dieser Transporter gehört zur Gruppe der Monoamintransporter, einer aus 12 Transmembrandomänen bestehenden Proteinfamilie, zu der auch die Transporter für Dopamin und Noradrenalin gehören (Gainetdinov & Caron, 2003).

Für die Wirkungen des zweiten Synapsentypus, bei dem es nicht zu einer sofortige Veränderung des Plasmamembranpotentials kommt, hat sich auch der Begriff "Neuromodulation" eingebürgert Dieser Begriff ist allerdings nicht einheitlich definiert, und wurde bzw. wird von verschiedenen Autoren unterschiedlich verwendet. Dies liegt zum Teil auch daran, dass die Wirkungen sehr unterschiedlich sein können, und eine Neuromodulation generell mehrere Funktionen haben kann (Kaczmarek & Levitan, 1987; Lopez & Brown, 1992; Birmingham & Tauck, 2003; Katz, 2007):

- 62 - Einleitung

- 1) rhythmische neuronale Aktivitäten initiieren und aufrechterhalten
- 2) einen anatomisch distinkten neuronalen Schaltkreis verschiedene Erregungmuster generieren lassen (auch komplett an- und abschalten)
- 3) einzelne Zellen aus einem Schaltkreis in einen anderen Schaltkreis umschalten
- 4) mehrere unterschiedliche Schaltkreise zu einem koordinierten Aktivitätsmuster verschalten.

Einige Autoren haben zwischen klassischen Neurotransmittern und Neuromodulatoren, abhängig von ihrer Wirkung auf die Synapsentypen unterschieden, aber diese Unterscheidung wurde nicht aufrechterhalten, da viele klassiche Neurotransmitter auch modulatorisch wirken können (Kupfermann, 1979). Es gibt allerdings unter den biogenen Aminen und den peptidergen Neurotransmittern sehr viele, die vor allem neuromodulatorische Funktionen übernehmen, daher bilden klassische Neurotransmitterfunktionen eher die Ausnahme.

Modulatorische Wirkungen wurden besonders an Krebsen studiert, z. B. die modulatorische Wirkung von Stickstoffmonoxid NO am Krebsherz (Goy, 2005), die Modulation des Stomatogastrischen Nervensystems (Katz, 1995), die Regulierung des Glukosespiegels in der Hämolymphe (Lee et al., 2000; Santos et al., 2001), die elektrische Aktivität neurosekretorischer Zellen (Saenz et al., 1997), die Wirkung auf Krebsmuskelpräparate (Kravitz et al., 1981; Glusman & Kravitz, 1982). Die Morphologie und elektrophysiologischen Eigenschaften neuromodulatorischer Nervenzellen wurde in Krebsen (Konishi & Kravitz, 1978; Heinrich et al., 2000) und bei Mäusen (Kirby et al., 2003; Kupfermann, 1979; Lechin et al., 2006; Yasufuku-Takano et al., 2008) gut untersucht. Aber auch in zahlreichen anderen Systemen bei Vertebraten und Invertebraten gibt es modulatorische Wirkungen: bei zentralen Mustergeneratoren (Dickinson, 2006), bei membranständigen Serotonintransportern (Gainetdinov & Caron, 2003), modulatorischen Wirkungen im Vertebraten-Rückenmark (Li et al., 2000; Garraway & Hochman, 2001), bei der Steuerung der Pharynxkontraktionsstärke von *Caenorhabditis elegans* durch Serotonin (Niacaris & Avery, 2003).

Die Besonderheit neuromodulatorischer Systeme ist, dass sie sehr eng mit ihren Zielstrukturen verwoben sind, und sich daher oftmals nicht leicht beobachten lassen. Besonders gilt dieses für Untersuchungen an intakten Tieren. Die meisten bisherigen (u.a. oben zitierten) Untersuchungen arbeiteten mit Organpräparaten oder semiintakten Tieren. Dabei sind viele Wirkungen nicht sofort sichtbar, bzw. nicht im Zeitrahmen solcher Präparationen messbar. Es sei z. B. an die Wirkung von Serotonin in den Raphe-Kernen bei der Schlafrhythmus-

Einleitung - 63 -

Steuerung erinnert (Yasufuku-Takano et al., 2008), oder an die Wirkungen von Antidepressiva, die über die Hemmung der Serotoninwiederaufnahme ("selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs") funktionieren, und deren Wirkungen im Menschen oftmals erst nach einigen Monaten messbar sind. Daher sind Modellsysteme, in denen die Wirkung von Neuromodulatoren über längere Zeiträume (Stunden und Tage anstatt von Minuten und wenigen Stunden) leicht zu messen und manipulieren sind, sehr wichtig für die neurobiologische Forschung.

Eines der wenigen Modellsysteme, für welches diese Ansprüche gelten können, ist das durch Serotonin und Octopamin gesteuerte Aggressionsverhalten bei Krebsen (Kravitz & Huber, 2003). Hierbei wird die Rangordnungsbildung durch die alternative Ausschüttung dieser beiden Neuromodulatoren gesteuert. Diese Untersuchungen beruhen auf der Beobachtung, dass Serotonin und Octopamin bei Krebsen entgegengesetzte Körperhaltungen bewirkt (Livingstone et al., 1980).

Eine weitergehende Untersuchung der Wirkung des Serotonins im Leuchtsystem der Euphausiaceen wäre daher wünschenswert um zu überprüfen, ob es als weiteres Modellsystem genutzt werden könnte. Die Aufzeichnung der Biolumineszenz kann leicht mittels Photomultipliern erfolgen, ohne dass die Tiere dafür präpariert werden müßten. Sie sollte auch ohne Problem bei frei schwimmenden Tieren im Aquarium oder im Freiwasser gemessen werden können, was wichtig wäre, um die Tiere unter möglichst ungestörten natürlichen Verhältnissen beobachten zu können.

Vor kurzem wurde ein erster Serotoninrezeptor in Krebsen kloniert, 5-HTR1_{crust}) (Sosa et al., 2004), und ein Antikörper gegen den Rezeptor hergestellt. Da bisher nur Serotonin in den Leuchtorganen nachgewiesen werden konnte, die Zielstrukturen des Serotonins aber noch nicht bekannt sind, ist eine diesbezügliche Untersuchung naheliegend. Auch eine genauere Untersuchung der Innervierung bzw. des Verlaufs des "Leuchtnervs" zu den Leuchtorganen mittels modernerer Methoden (Konfokalmikroskopie, Rasterelektronenmikroskopie, 3D-Rekonstruktion aus Semidünnschnitten) wäre in diesem Rahmen wünschenswert, da die bisherigen Arbeiten mittels klassischer Paraffinschnitte kein eindeutiges Bild ergeben haben.

- 64 - Einleitung

1.11 Das geographische Untersuchungsgebiet am Gullmarfjord

Euphausiaceen kommen in vielen Meeren vor, die meisten Untersuchungen wurden aber in küstennahen Meeresgebieten durchgeführt. Wenn man mit den Tieren ethologische Experimente durchführen möchte, ist es nötig, dass einerseits der Fang der Tiere selbst möglichst unkompliziert und für die Tiere beschädigungsfrei verläuft, und dass die Experimente anschließend möglichst bald durchgeführt werden können. Um eine größere Anzahl der Krebse zu fangen, sind Flachwassergebiete von Vorteil, da sich die Tiere dort tagsüber in einem dünnen Band dicht über dem Meeresboden konzentrieren und nicht über die gesamte Wassersäule verteilen (bedingt durch die tageszeitliche Vertikalwanderung). Dadurch dürften sehr viele Tiere mit einem sehr kurzen Schleppnetzeinsatz zu fangen sein.

Der Gullmarfjord an der Westküste Schwedens beherbergt eine große Population des Nordischen Krill, Meganyctiphanes norvegica. Der Fjord ist seit über 150 Jahren ein marinbiologisches Forschungsgebiet, und verfügt mit der hydrographischen Station Bornö, sowie der marinbiologischen Station "Sven Lovén" (ehemals Kristineberg Marina Forskningsstation) über eine gute Forschungsinfrastruktur. Außerdem besteht dort eine lange Tradition mit Krillfang und Krillforschung (z. B. (Bergström & Strömberg, 1997; Strömberg & Spicer, 2000; Strömberg et al., 2002; Spicer & Strömberg, 2003)). Seine Geographie und Hydrographie sind gut bekannt, und viele verschiedene Studien wurden an und in ihm durchgeführt (z. B. (Everson et al., 2007; Erlandsson et al., 2006; Erlandsson & Stigebrandt, 2006; Harland et al., 2006; Arneborg et al., 2004a; Arneborg et al., 2004b; Arneborg, 2004; Björk & Nordberg, 2003; Croot, 2003; Eriksson et al., 2002; Rosenberg et al., 2002; Vargas et al., 2002; Arneborg & Liljebladh, 2001a; Arneborg & Liljebladh, 2001b; Buhl-Jensen & Fosså, 1991; Lindahl & Hernroth, 1988; Lindahl & Perissinotto, 1987; Svansson, 1984; Hernroth, 1983)). Außerdem sind Fjorde gut geeignet als Modellsysteme für Ozeane (Buchholz, Buchholz et al., 2010), da sie die Bedingungen der ihnen angrenzenden Seegebiete wiederspiegeln, deren Bedingungen aber länger als diese beibehalten.

Der Fjord ist gut vergleichbar mit Flachwassergebieten mit ähnlicher Hydrogeographie, in denen an Euphausiaceen geforscht wurde, wie z. B. dem Oslo-Fjord (Norwegen), dem Firth of Clyde (Schottland), dem St. Lawrence Estuary und der Bay of Fundy (Kanada, Ostküste), und dem Saanich Inlet (Kanada, Westküste). Bei den meisten Untersuchungen wurde Krill gefangen, und die Versuche an Bord der Forschungsschiffe oder aber an Land in

Einleitung - 65 -

marinbiologischen Stationen durchgeführt. Langfristige Untersuchungen gibt es fast nur über Euphausia superba in der Antarktis, aber dort ist durch die geographische Lage bedingte jahreszeitliche Schwierigkeiten im allgemeinen nur mittels Netzfang und Sonar die Biomasse bestimmt worden. Allerdings wird seit ungefähr 1981 von der "Australian Antarctic Division" auf der zu Australien gehörigen Insel Tasmanien eine Population von Euphausia superba in großen Becken gehältert (King et al., 2003). Die Tiere bilden dort Schwärme und pflanzen sich fort, die Biolumineszenz wurde allerdings bisher nicht untersucht (So Kawaguchi, persönliche Mitteilung).

Der Gullmarfjord hat den Vorteil, dass dort Messgeräte leicht über sehr lange Zeiträume stationär im Wasserkörper eingesetzt werden können, und über eine Kabelverbindung mit dem Ufer verbunden bleiben können. Die Station Kristineberg/Sven Lovén hat gute Erfahrungskenntnisse über den Fang von Krill, und kann fast das gesamte Jahr über regelmäßig frisch gefangenen Krill in großer Anzahl liefern (einige hundert Tiere pro 20-Minuten-Trawl), da der Fjord im allgemeinen nur für einige Wochen im Spätwinter komplett zufriert. An der Station sind gute Hälterungsmöglichkeiten gegeben durch große Wasserbecken, die mit frischem Tiefenwasser aus dem Fjord versorgt werden können. Daher bietet dieser Ort eine hervorragende Möglichkeit, sowohl Biolumineszenz im Freiwasser aufzuzeichnen, als auch gleichzeitig Krill unter kontrollierten Laborbedingungen zu beobachten.

- 66 - Einleitung

1.12 Zielsetzung dieser Arbeit

Es ist nicht bekannt, wofür die Euphausiaceen ihre Leuchtorgane verwenden. Die Form von morphologischen Strukturen ist aber immer eng an deren ethologische Verwendung und physiologische Grundlagen gebunden. Daher sollen in der vorliegenden Arbeit die folgenden Fragestellungen untersucht werden, um einer Beantwortung der eingangs genannten Frage näher zu kommen:

- 1. Es ist nicht bekannt, wie die Bewegung der Leuchtorgane im Körper gesteuert wird. Bisher wurden die Leuchtorgane allerdings nicht rasterelektronenmikroskopisch analysiert. Daher soll in einer morphologischen Untersuchung überprüft werden, wie die Lage der Leuchtorgane im Verhältnis zu den sie umgebenden Strukturen ist.
- 2. Die Wirkung von Serotonin und anderer Pharmaka auf das Leuchten ist bestätigt, es ist aber nur wenig über den zeitlichen Verlauf des Leuchtens und die Latenz bei dessen Auslösung bekannt. Daher soll in einer pharmakologischen Untersuchung der Einfluss des Serotonins und anderer Substanzen untersucht werden. Ebenfalls soll der Einfluss anderer Stimuli wie mechanischer Stimulation und Helligkeitsveränderungen im Umgebungslicht überprüft werden.
- 3. Die Biolumineszenz von Krill sowie anderer vorkommender biolumineszenter Organismen soll sowohl im Labor als auch im Freiwasser aufgezeichnet werden, um überprüfen zu können, wie häufig die Tiere leuchten, ob es tageszeitliche Unterschiede gibt, und wieviel das Leuchten des Krill in seinem Lebensraum von der vorhandenen Gesamtbiolumineszenz prozentual ausmacht.
- 4. Die Schwimmtrajektorien, die Krill bei spontaner Biolumineszenz vollzieht, sollen dreidimensional bestimmt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Tierfang

Krill Meganyctiphanes norvegica (M. Sars) wurde auf verschiedenen Forschungsreisen zwischen 1997 und 2006 tagsüber im tieferen Teil (-100 m) des Gullmarfjord an der schwedischen Westküste (58° 19.00' N, 11° 33.00' O) gefangen (Abbildung 22). Dabei wurde ein Isaacs-Kidd-Netz (Öffnungsgröße 0,6 m², Maschenweite 1500 μm) für ungefähr 20 Minuten bei 3 Knoten in ca. 80 Meter Tiefe durch das Wasser gezogen. Die Tiere wurden sofort nach Fang in mit gekühltem Meerwasser (ca. 4°C) gefüllte isolierte Kunststofffässer (ca. 20-30 Liter Volumen) überführt, und nach ca. 1 Stunde in einem Kühlraum der Marinbiologischen Station Kristineberg (jetzt Sven Lovén Zentrum für marine Wissenschaften) in 200 Liter Durchflusswassertanks umgesetzt. Die Wassertemperatur in den Tanks entsprach dabei immer der aktuellen Temperatur des Tiefenwassers des Fjords. Der Kühlraum war nach Ausschalten des Raumlichts komplett dunkel. Die Letalität betrug ca. 5-10% pro Tag. Nur Tiere, die 5 Stunden nach dem Fang ein normales Schwimmverhalten zeigten, wurden verwendet. Verendete Tiere wurden zweimal am Tag aus den Becken entfernt. Das den Tanks zugeleitete frische Fjordwasser wurde mit einem 10 μM-Sieb gefiltert.

2.2 Morphologische Arbeiten

2.2.1 Fixierung Tiere

Für morphologische Arbeiten wurden *Meganyctiphanes norvegica* direkt nach dem Fang für 24 Stunden in 4 % Paraformaldehyd in Sörensen Phosphatpuffer (SPB; 48,8 mM KH₂PO₄, 150 mM Na₂HPO₄, pH 7.4; alle Substanzen Merck, Darmstadt, Deutschland, falls nicht anders angemerkt) fixiert und anschließend in SPB mit 0,1% Natriumazid aufbewahrt. *Euphausia superba* wurde 2004 in der Antarktis gefangen, in 70% Ethanol konserviert, und freundlicherweise von Volker Siegel, Bundesamt für Fischereiwissenschaften, Hamburg, zur Verfügung gestellt.

- 68 - Material und Methoden

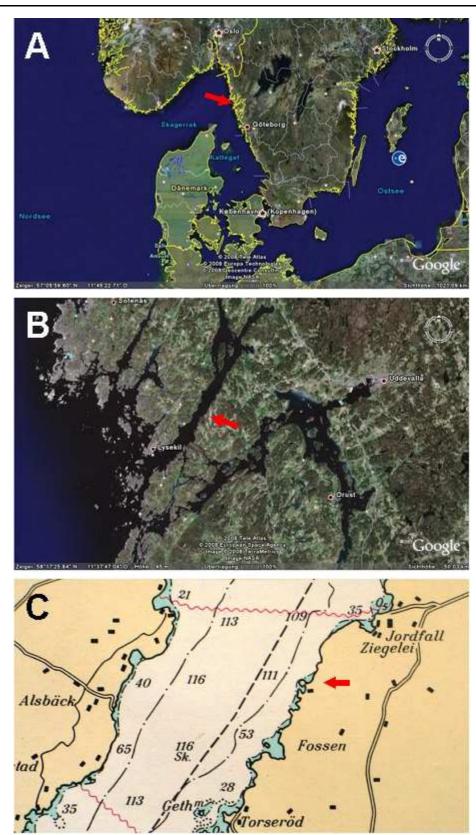


Abbildung 22. Lage des Messgebietes. Der Gullmarfjord liegt nördlich von Göteborg an Schwedens Westküste (**A**, roter Pfeil). Er zieht sich über 20 km nordöstlich in das Landesinnere, und ist in seinem mittleren Teil bis zu 120 m tief (**B**, roter Pfeil). Die Halbinsel, von der aus die Messungen durchgeführt wurden, liegt zwischen den Ortschaften Jordfall und Torseröd auf der östlichen Fjordseite (**C**, roter Pfeil). A & B © Google Inc., USA., C © Bundesamt für Seeschiffahrt und Hydrographie, Hamburg, Deutschland.

Material und Methoden - 69 -

2.2.2 Präparation der Tiere für die Rasterelektronenmikroskopie

Alle Exemplare wurden in einer Alkoholreihe von 30% bis 100% Ethanol für jeweils 30 Minuten in 10%-Schritten dehydriert, anschließend jeweils 15 Minuten in 1:3, 1:1 und 3:1 Amylacetat: 100% Ethanol, inkubiert. Nach Überführung in reines Amylacetat (15 Minuten) wurden die Präparate mit einem Balzers CPD Trockner (Bal-Tec, Liechtenstein) Kritisch-Punkt-getrocknet, anschließend präpariert und die zu dokumentierenden Objekte mittels doppelseitigem Klebeband auf entsprechende REM-Objekttische aufgeklebt. Diese wurden dann unter Vakuum mit Kohle bedampft (PD170AZ, Leybold-Heraeus), und mit einem LEO 1525 Rasterelektronenmikroskop (Zeiss, Oberkochen, Deutschland) digital fotografiert.

2.2.3 Semidünnschnitte und Ultradünnschnitte

Für die Herstellung von Semidünn- und Ultradünnschnitten für die Licht- und Elektronenmikroskopie wurden fixierte Exemplare in 10%-Schritten bis 100% Ethanol dehydriert, dann für 1 Stunde bei 4° C in ein 1:1-Gemisch von Ethanol und LR White (Sigma-Aldrich) gegeben, und im Anschluß zweimal für 12 Stunden in 100% LR White inkubiert. Danach wurden die Exemplare luftblasenfrei in Kunststoffreagenzgläser gegeben und luftdicht versiegelt. Es folgte eine Polymerisation bei 50°C für 4 Tage. Die ausgehärteten Kunststoffblöcke (ca. 2-3 Kubikzentimeter) wurden aus den Reagenzgläsern entnommen, und die interessierenden Bereiche der Tiere aus den Blöcken gesägt, so dass kleine Blöcke mit ungefähr 4-5 mm Kantenlänge entstanden. Diese wurden auf einem Reichert-Jung Ultracut E-Mikrotom mit Glasmessern in 0,5 μM dicke Schnitte geschnitten. An Stellen im Präparat, wo lichtmikroskopische Auflösungen nicht genau genug waren, wurde das Glasmesser gegen ein Diamantmesser ausgetauscht und für Elektronenmikroskopie geeignete Schnitte hergestellt. Die Semidünnschnitte wurden in Wasser aufgenommen, für einige Sekunden in eine erhitzte (ca. 60°C.) Färbelösung (eine 4:1 Mischung aus 1% Toluidinblau in 1% Boraxlösung mit 1% Pyroninlösung; Sigma-Aldrich) gegeben, in Aqua dest. gewaschen und anschließend auf Glasobjektträger aufgetrocknet und einige in DPX-Eindeckmittel (Fluka) eingebettet. Dokumentiert wurden die Schnitte im Hellfeld auf einen Axioskop2-Mikroskop mit AxioCam-Kamera (Zeiss).

Für die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurden die Ultradünnschnitte auf geeignete Kupfernetze ("grids") aufgenommen, mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert,

und mit einem TEM-902 Elektronenmikroskop (Zeiss) begutachtet. Dokumentiert wurde mittels einer am TEM angeschlossenen Kamera (Megaview III, Soft Imaging Systems, Münster, Deutschland).

2.2.4 3D-Darstellungen der Leuchtorgane aus Semidünnschnittserien

Zur 3D-Rekonstruktion wurden die digitalisierten seriellen Semidünnschnitte in die Software Amira 4.1 (Mercury Computer Systems, Chelmsford, Massachusetts, USA) in einen virtuellen Bilderstapel eingelesen, zueinander korrekt orientiert, und die gewünschten Strukturen manuell markiert. Aus diesen Markierungen wurde mit Hilfe der in die Software integrierten Funktionen ein Gittermodell erstellt. Dieses Gittermodell wurde im "Virtual Reality Modeling Language" (VRML)-Format abgespeichert, und für die weitere Verwendung mit der Software Adobe Acrobat 3D Version 8 in das PDF-Format konvertiert. Wenn in einem Gittermodell zu große Artefakte ("Treppenstufen") sichtbar waren, wurde der Datensatz in die Modell-Rendering-Software Modo (Version 3.1, Luxology, San Mateo, Kalifornien, USA) eingelesen und eine zusätzliche Oberflächenglättung durchgeführt.

2.2.5 Immunfärbungen an Blockpräparaten ("Whole Mounts")

Zur Untersuchung der nervösen Verbindungen zwischen Leuchtorganen und Zentralnervensystem wurden komplette *Meganyctiphanes* für 12 Stunden in 4% Paraformaldehydlösung in 0,1 M Sörensen Phosphatpuffer (Eng. Sörensen phosphate buffer SPB) (in mM: 48,8 KH₂PO₄, 150 Na₂HPO₄, pH 7,4) (alle Chemikalien Merck, Darmstadt, Deutschland, falls nicht anders vermerkt) fixiert, zweimal für 4 h in 0,1 M SPB gewaschen und in natriumazidhaltigem (0,05%) Ringer im Kühlschrank gelagert.

Zur Färbung der Nervenzellen wurden die Tiere teilpräpariert, d.h. die dorsalen Bestandteile wurden soweit entfernt, dass die Ganglienkette *in situ* frei zugänglich war, und die Lage der Leuchtorgane innerhalb der Kutikula nicht verändert wurde. Anschließend wurde mit einem primären Antikörper gegen Serotonin (polyklonaler Kaninchen Anti-Serotonin-Antikörper, Incstar, Stillwater, Minnessota, USA), Verdünnung 1:1000 in 0,1 M SPB mit 0,3% Triton-X-100 (Serva, Heidelberg, Deutschland) (TSPB) für 48 Stunden inkubiert. Es folgten 3 Waschungen für jeweils mindestens 8 Stunden in TSPB. Als sekundärer Antikörper wurde ein CY3-gekoppelter Antikörper (Ziege-gegen-Kaninchen, Jackson, West Grove, PA, USA)

Material und Methoden - 71 -

1:200 verdünnt in TSPB für 48 Stunden inkubiert und anschließend viermal 8 Stunden in SPB gewaschen. Dem letzten Waschgang war der Zellkernmarkierer Hoechst (33258, Molecular Probes, Eugene, OR, USA) 1:100 verdünnt hinzugefügt. Alle Inkubationen und Waschschritte wurden bei 8°C durchgeführt. Anschließend wurden die semiintakten Tiere in 1:1 SPB/Glycerol aufbewahrt. Zur Begutachtung der Färbung unter Fluoreszenzbeleuchtung wurden die Tiere in oval-längliche Öffnungen in Aluminiumblechen (76 mm x 26 mm, variable Dicken bis 5 mm) gelegt, auf die von einer Seite ein Deckglas mittels ungefärbtem Nagellacks geklebt worden war. Das Aufkleben eines zweiten Deckglases führte zu einer Zusammenpressung des mehrere Millimeter dicken, dorsoventral ausgerichteten gefärbten Tieres und damit zu einer Verhinderung von horizontalen oder vertikalen Bewegungen.

Eine weitere Färbung wurde mit einem anderen sekundären Antikörper, der mit einer alkalinen Phosphatase (aus Ziege, gegen Kaninchen, Dianova, Hamburg, Deutschland) gekoppelt ist, durchgeführt. Die Inkubationszeiten waren wie vorher, nur dass nach der Inkubation mit dem sekundären Antikörper und den nachfolgenden Waschungen eine bis zu zehnminütige Inkubation mit einer Lösung von 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl-Phosphat (BCIP) / Nitroblau Tetrazolium (NBT) (BCIP/NBT Liquid Substrate System, Sigma-Aldrich) folgte. Die Farbreaktion wurde durch Waschung in Aqua dest. gestoppt, und die Präparate dokumentiert.

2.2.6 Dokumentation der Färbungen: Hellfeld, Fluoreszenzmikroskopie, Konfokalmikroskopie

Unter Fluoreszenzanregung wurden die Präparate begutachtet und die geeigneten Färbungen mit einem Konfokalmikroskop (Leica TCS NT) als Tif-Bilderdatenstapel dokumentiert. Anschließend wurden die relativ dicken (teilweise mehrere Millimeter) Bilderstapel in Amira eingelesen, einer Dekonvolution unterzogen, und die serotonerge Färbung in ein 3D-Modell umgewandelt. Unter visueller Begutachtung war zwar oftmals eine Färbung erkennbar, aber wegen der hervorgerufenen Tiefenunschärfe durch die Dicke der Präparate war sie nicht gut dokumentierbar.

2.2.7 Immunfärbungen an Gefrierschnitten

Zur Herstellung von Schnittserien durch komplette Leuchtorgane wurden fixierte Tiere (s.o.) zunächst jeweils 12 Stunden in 10, 20 und 30 % Saccharose in 0,1 M SPB gegen Schädigungen

- 72 - Material und Methoden

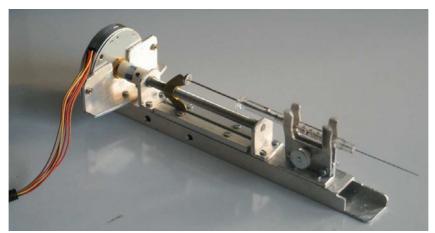


Abbildung 23. Automatisiertes Injektionssystem für die pharmakologischen Untersuchungen. Ein Schrittmotor treibt über eine Gewindestange eine Flügelschraube an, die den Kolben einer Hamilton-Glasspritze vor- und zurückbewegen kann. An die Spritze kann ein feiner Schlauch angeschlossen werden, der entweder an einem Elektrodenhalter endet, oder aber in den am Ende eine Metallhohlnadel eingeklebt wurde. Diese konnte dann unter Wasser direkt in den Körper festgelegter Tiere eingestochen werden.

beim Tieffrieren geschützt und unschließend in 10 % Gelatine (75-100 Bloom, Typ A, Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland) in 0,1 M SPB und 20% Saccharose eingebettet. Zur Vermeidung einer Schädigung der Zellstrukturen ist es neben der Kryoprotektion durch Saccharose (die eine Eiskristallbildung vermeiden soll) nötig, dass der Gefriervorgang möglichst schnell vor sich geht (Rosene et al., 1986). Dazu wurden die in Gelatine eingebetteten Tiere auf kleine, mit den nötigen Daten beschriftete Papierzettel gelegt, auf denen ein Tropfen Tissue-Tek (Sakura Finetek Europe, Zoeterwoude, Niederlande) aufgetragen worden war, und auf einen kleinen Edelstahltisch überführt. Dieser stand mit seinen Beinen in flüssigem Stickstoff und war komplett durchgefroren. Der Gefriervorgang war beendet, wenn die anfangs durchsichtige Gelatine mit einer einheitlich weißen Frostschicht überdeckt war. Die Präparate wurden in Aluminiumfolie eingewickelt und bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert.

Vor dem Schneiden der Präparate wurden sie für mehrere Stunden bei -20°C gelagert, getrimmt und mit Tissue-Tek auf Objekthalter aufgefroren. Mit einem Kryostat (HM50 OH, Microm, Walldorf, Deutschland) wurden 30 μm oder 100 μm dicke Schnitte entlang der Körperlängsachse geschnitten, und auf dreifach gelatinebeschichtete Objektträger (2,5 g Gelatine, 250 mg Chromalaun CrK(SO₄)₂ in 500 ml A. dest bei 50°C, dreifaches Tauchbad mit

Material und Methoden - 73 -

jeweils nachfolgender Trocknung bei 40°C im Trockenschrank) aufgetragen. Anschließend wurden die Schnitte mehrere Tage bei Raumtemperatur getrocknet.

Immunfärbungen wurden durchgeführt mit primären Antikörpern gegen Serotonin (5HT; aus Kaninchen, Dianova, Hamburg, Deutschland), Serotoninrezeptor (5HTR; aus Kaninchen, freundlicher Weise zur Verfügung gestellt von Maria A. Sosa, San Juan, Puerto Rico, USA), Octopamin (aus Maus, Jena Bioscience, Jena, Deutschland), acetyliertes-α-Tubulin (aus Maus, Sigma-Aldrich), Synapsin (aus Maus, freundlicher Weise zur Verfügung gestellt von Erich Buchner, Würzburg), Na⁺-K⁺-ATPase (gegen Alpha-Untereinheit, aus Maus, Developmental Studies Hybridoma Bank, Iowa, USA), desweiteren wurde eine Färbung mit TRITC-markiertem Phalloidin (Fluka/Sigma-Aldrich) durchgeführt.

Als sekundäre Antikörper wurden ausschließlich aus Ziege stammende Antikörper verwendet, die gekoppelt waren mit Peroxidase (gegen Kaninchen, Sigma-Aldrich), CY3 (gegen Maus (Dianova) und Kaninchen (Sigma-Aldrich)), CY5 (gegen Kaninchen (Dianova) und Maus (Dianova)), sowie TRITC (gegen Kaninchen, Sigma-Aldrich) und Alkaline Phosphatase (gegen Kaninchen, Dianova). Vorversuche zeigten, dass eine Blockierung unspezifischer Bindungsstellen mit entsprechenden Seren nicht nötig war, da kein Unterschied in der Hintergrundfärbung oder der Strukturfärbung feststellbar war. Zur Antigenmarkierung wurden die Objektträger zunächst für 10 min. in 0,1 M SPB gewaschen, der primäre Antikörper 1:1000 verdünnt in 0,1 M SPB mit 0,3 % Triton-X-100 für 14 h inkubiert (bei 8°C), viermal für 2 Stunden in 0,1 M SPB mit 0,3 % Triton-X-100 gewaschen und für 8 Stunden in sekundärem Antikörper 1:200 verdünnt in 0,1 M SPB mit 0,3 % Triton-X-100 inkubiert (jeweils bei 8°C). Anschließend folgten vier Waschungen mit 0,1 M SPB bei Raumtemperatur für jeweils ca. 30-60 min. Danach wurden die Objektträger mit Glycerol/SPB 1:1 (enthielt Hoechst Zellkernmarkierer 1:100) eingedeckelt und mit durchsichtigem Nagellack versiegelt.

2.2.8 Trichromatische Färbung an Kryoschnitten

Es wurde eine klassische Färbung an Kryoschnitten durchgeführt. Dazu wurden die Objektträger für 8 min in Anilinalkohol (0,5 ml Anilinöl in 500 ml 90% Ethanol) gebadet, für 15 min bei 60° in Azokarmin (0,4 g Azokarmin G in 400 ml Aqua dest gelöst, aufgekocht, abgekühlt, filtriert, Filtrat mit 4 ml Eisessig versetzt) gefärbt, 8 min in Anilinalkohol gebadet, dreimal kurz in Aqua dest gebadet, für 1 min in Essigsauren Alkohol (4 ml Eisessig in 400 ml

- 74 - Material und Methoden

96 % Ethanol) getaucht, dreimal kurz in Aqua dest gewaschen, und für 1 Stunde in 5 % Phosphorwolframsäure (5 % in Aqua dest) gebadet. Es folgten drei kurze Waschungen in Aqua dest; anschließend wurden die Objektträger für 60 min in Anilinblau-Orange-Essigsäure (0,5 g Anilinblau + 2 g Orange G in 100 ml Aqua dest gelöst, mit 8 ml Eisessig versetzt, aufgekocht, abgekühlt filtriert, Filtrat mit Aqua dest 1:3 verdünnt) gebadet. Nach 3 kurzen Waschungen in Aqua dest wurde für 1 min in 96% Ethanol, zweimal für 4 min in 100% Isopropanol und 5 min in reinem Xylol entwässert. Anschließend wurden die Objektträger mit DPX (Fluka) eingedeckelt und im Hellfeld mit einem Mikroskop (Zeiss Axiovert mit AxioCam) dokumentiert.

Material und Methoden - 75 -

2.3 Pharmakologische und visuelle Stimuli als Auslöser für das Leuchten

2.3.1 Injektionssystem für pharmakologische Untersuchungen

Um mehreren Tieren zeitgleich definierte Volumina injizieren zu können, wurden 4 identische Mikroinjektionssysteme gebaut (Abbildung 23). Dazu wurde jeweils die Achse eines Schrittmotors (1,8° pro Schritt, Modell MASF200A91, Sankyo, Japan) mit einer 15 cm langen Gewindestange (M6) verbunden, auf welcher eine Flügelmutter saß. Schrittmotor und Gewindestangenführung waren auf einer Metallschiene montiert, auf der auch zwei seitliche Führungen für den einen Flügel der Flügelmutter befestigt waren. Durch Drehung des Schrittmotors konnte daher die Flügelschraube auf der Gewindestange vor- und zurückgefahren werden. Zusätzlich wurde an der Metallschiene eine Halterung für Hamilton-Glaskanülen (Bonaduz, Schweiz) so angebracht, dass eine Bewegung der Flügelschraube den Kolben der Spritze synchron bewegen konnte.

Auf die Spitze der Hamilton-Kanüle wurde ein Silikonschlauch (1 mm Durchmesser, Hartenstein, Würzburg, Deutschland) aufgezogen, in dessen anderem Ende eine feine Hohlnadel (0,3 mm Außendurchmesser, Sterican Z, Braun Petzold, Melsungen, Deutschland) mittels Sekundenkleber (Pattex Blitzkleber, Henkel, Düsseldorf, Deutschland) eingeklebt worden war.

Der Schrittmotor wurde von einer Schrittmotorsteuerung (mit IC SAA1027, Conrad Elektronik, Hierschau, Deutschland) angesteuert und mit dem nötigen Strom versorgt.

Die Schrittmotorsteuerung wurde über einen externen Taktgeber (Grass SD9 Funktionsgenerator) mit Rechteckpulsen gesteuert. Der Funktionsgenerator selbst wurde durch einen weiteren Signalgenerator (Eigenbau) auf Knopfdruck für 5,0 Sekunden gestartet. Durch Feineinstellung der Frequenz des Funktionsgenerators konnte die injizierte Volumenmenge feinjustiert werden. Sie wurde auf 1,0 µl pro Sekunde geeicht, so dass einem Tier per Knopfdruck in 5 Sekunden 5 µl Testlösung injiziert werden konnten. Die vier Injektionssysteme waren alle an den gleichen Funktionsgenerator angeschlossen, so dass 4 Tiere gleichzeitig untersucht werden konnten.

- 76 - Material und Methoden

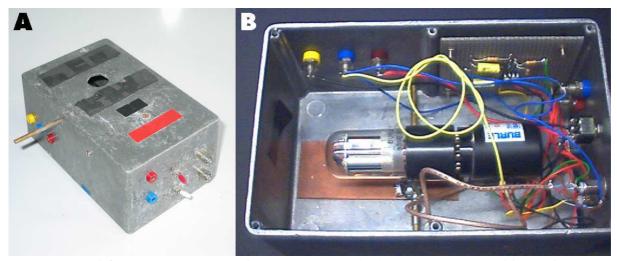


Abbildung 24. Laborgehäuse für Photomultiplierröhren Typ 93 IA (seitliche Fensterung), Eigenkonstruktion. In das Aluminiumgehäuse (I I cm x I 8 cm x 8 cm, Conrad) wurde auf der Oberseite mittig im oberen Drittel eine runde Öffnung (Durchmesser 25 mm) gebohrt, welche über einen Schieber geöffnet und geschlossen werden kann. Der Photomultiplier (PMT) mit Sockel und integriertem Hochspannungsnetzteil wurde so montiert, dass das Fenster des PMT direkt unter der Öffnung liegt. Seitlich an der Gehäusewand liegt die Platine des Strom-zu-Spannung-Wandlers mit integriertem Nachverstärker. Ein symmetrisches Netzteil (+15V/Erdung/-15V) für den Nachverstärker kann über drei Stecker in der Gehäuseseite angeschlossen werden. Die Spannungsversorgung (0-9 V) des Hochspannungsnetzteils wird ebenfalls über ein externes Netzteil realisiert. Zwei Kippschalter dienen zum Anschalten des Nachverstärkers und des Hochspannungsnetzteils. Das Ausgangssignal des PMT und das verstärkte Signal des Nachverstärkers können über zwei BNC-Buchsen abgenommen werden.

2.3.2 Versuchsaufbau und Durchführung

Tiere ungefähr gleicher Körpergröße und mit gutem Gesundheitszustand (visuelle Begutachtung: normales Schwimmverhalten, Körper normal durchsichtig, keine Eintrübungen, keine besonderen Verletzungen) beiderlei Geschlechts wurden für die pharmakologischen Versuche verwendet. Dazu wurden sie einzeln in kleinen Aquarien (250 ml) Wasservolumen (Wassertemperatur 8°C) festgelegt, indem ihnen ein Plexiglaswürfel (ca. 4x4x4 mm) mit Mittenbohrung auf den Carapax geklebt (Pattex Blitzgel, Henkel, Düsseldorf, Deutschland) wurde. In die Mittenbohrung wurde ein dünner (2 mm), konisch zulaufender Holzstift (halbierter Zahnstocher) gedrückt, welcher selbst mit einem vertikalen Holzstab verklebt war. Der vertikale Holzstab wurde von einem neben dem Aquarium stehenden Stativsystem gehalten. Die Aquarienseiten wurden durch schwarzen Karton umgeben, um seitliche Reflexionen zu verringern.

Material und Methoden - 77 -



Abbildung 25. Vierkantglasflasche als Gehäuse für Unterwasserphotomultiplier für den Einsatz in Labortanks. Das Versorgungskabel ist wasserdicht durch den Deckel der Vierkantflasche geführt. Auf der Innenseite des Deckels ist ein Halter für den Photomultiplier, seine Hochspannungsversorgung sowie den Nachverstärker angeschraubt. Um die Flasche auf dem Boden des Beckens zu halten, wurde sie mit Draht auf einem Ziegelstein festgezurrt.

Das Aquarium stand auf einem in einem Aluminiumgehäuse untergebrachten Photomultiplier Typ 931A (Burle, Lancaster, USA), welcher durch eine kreisrunde Öffnung (2,5 cm) den mittleren Bereich des Aquariums analysieren konnte (Abbildungen 24, 29), in welchen die Ventralseite der Versuchstiere angeordnet wurde. Gegebenenfalls konnte die Öffnung mit Filtern versehen werden, um den Photomultiplier z.B. vor zu hohen Lichtintensitäten oder Infrarotbeleuchtung zu schützen. Die Schaltung des Photomultipliers wird weiter unten erläutert und entsprach der Beschreibung von Fregin (2001).

An dem selben Stativsystem war das Injektionssystem befestigt. Wenn ein Tier im Aquarium angebracht und über dem Photomultiplier ausgerichtet war, wurde ihm seitlich ventral oberhalb der Beinansätze im Übergang zwischen den ersten beiden Abdominalsegmenten die Injektionskanüle so eingeführt, dass die Spitze anterior am Übergang von Thorax und Abdomen zu liegen kam. An dieser Stelle ist die Gefahr einer Verletzung wichtiger innerer Organe sehr gering. Die Kanüle hält sich von alleine sehr gut an Ort und Stelle und mußte nicht verklebt oder in anderer Form befestigt werden. Umgebendes Medium dringt höchstens kurzzeitig marginal durch die Verletzung in das Körperinnere ein, und nur sehr wenig

- 78 - Material und Methoden

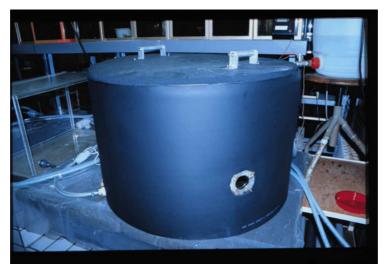


Abbildung 26. Rundtank zur Hälterung von Krill in Hamburg. Der Tank ist mit einem Strömungsgenerator ausgestattet, der für eine Rotation des Wassers im inneren sorgt. Ein Kühlaggregat kann die Temperatur des Wasses von -5°C bis 20°C regulieren. (Genauere Informationen in Fregin (2001)).

Hämolymphe tritt einige Sekunden aus. In einem Vortest hatten Tiere in diesem Versuchsaufbau mehr als 2 Tage überlebt, ohne dass eine Verschlechterung des Gesundheitszustands festgestellt werden konnte.

2.3.3 Verteilung injizierter Substanzen im Körper - Visualisierung mit Fast Green

Zur Bestimmung der Verteilungsgeschwindigkeit von Substanzen in der Hämolymphe wurde 10 Tieren jeweils 5 µl von in Ringer gelöstem Fast Green (Merck), einem ungiftigen Vitalfarbstoff, injiziert. Während der Injektion wurden die Tiere mit einem digitalen Camcorder (Canon MVX100i) in einem Abstand von 20 cm lateral gefilmt, mit Studio 8 (Pinnacle Systems, Mountainview, CA, USA) die Videoaufzeichnungen über Firewire auf einen PC heruntergeladen und anschließend mit VirtualDub (OpenSource, www.virtualdub.org) in Einzelbildern abgespeichert. Die einzelnen Halbbilder hatten einen Abstand von 20 Millisekunden, da der Camcorder mit 50 Hz aufzeichnete (PAL-System: gerade und ungerade Zeilen werden abwechselnd ausgelesen und mit den vorher ausgelesenen alten Zeilen in einem Vollbild abgespeichert). Mit dem Beginn der Injektion wurde die Zeit bestimmt, bis der Farbstoff in den verschiedenen Segmenten mittels eines Anstiegs des

Grünfarbanteils des Bildes im zu untersuchenden Bereich (Englisch "Region of Interest ROI") mit der Software ImageJ (Open Source, National Institute of Health, Bethesda, USA) messbar wurde. Die Zeiten für die einzelnen Tiere wurden anschließend gemittelt.

2.3.4 Getestete Substanzen

Als Lösungsmittel wurde Sörensen Phosphate Buffer (SPB) verwendet, gegebenenfalls mit Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Essigsäure versetzt, wenn die Substanzen schwer wasserlöslich waren. Es wurde davon ausgegangen, dass die Abschätzungen zum Hämolymphgehalt in Abhängigkeit von Körpergewicht und Körpervolumen bei Dekapoden und anderen Krebsen (Gleeson & Zubkoff, 1977) auch für Euphausiaceen näherungsweise gelten. Daher wurden die Konzentrationen der zu prüfenden Substanzen in den 5 μ l Injektionsvolumen so gewählt, dass die gewünschte Endkonzentration in der Hämolymphe bei Vermischung der 5 μ l mit der Gesamthämolymphe erreicht wurde. Allerdings waren so nicht alle Substanzen in hohen Konzentrationen messbar, da einige besonders niedrige Lösungskonstanten in Wasser besitzen und die Konzentrationen von DMSO oder Essigsäure nicht stark erhöht werden konnten, um



Abbildung 27. Labor-filtersystem für verbrauchtes Meerwasser. Mehrere Schichten Sand, Kies, Fließ und Aktivkohle bereiten das Wasser so auf, dass es wiederverwendet werden kann.

- 80 - Material und Methoden

negative, möglicherweise letale Nebenwirkungen der Lösungsmittel zu vermeiden. In Kontrollversuchen wurde festgestellt, dass 10%ige DMSO-Lösungen anscheinend keine negativen Wirkungen haben, und 0,1N Essigsäure ebenfalls gut toleriert wird. Getestet wurden verschiedenste Substanzen (Tabelle siehe Anhang).

2.3.5 Messung des Leuchtens im Labor

2.3.5.1 Meßgeräte - Photomultiplier

Leuchtvorgänge wurden mit Hilfe von Photomultiplierröhren (Eng. Photomultiplier Tube, PMT) aufgezeichnet (Fregin 2001). Verwendet wurden drei verschiedene Modelle: einerseits die Röhren 1P28 bzw. 931A (Ersatzmodell, da die Herstellung der 1P28 eingestellt wurde) mit Seitenfenster (Burle, Lancaster, PA, USA) mit der Hochspannungsversorgung PF1041N (Burle) mit integriertem Spannungsteiler im Sockel, andererseits Röhren XP3230 mit Stirnfenster (Photonis France SAS, Brive Cedex, Frankreich). Für letztere wurde ein vom Hersteller gelieferter Sockel FE2019 ohne Spannungsteiler mit elf 1 M Ω -Widerständen zwischen den Dynoden sowie einem 100 k Ω -Widerstand an der Kathodenseite ausgestattet

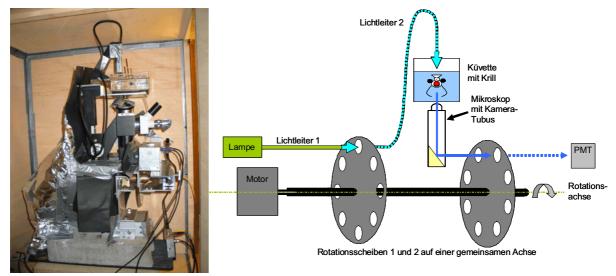


Abbildung 28. Mikroskop mit Shuttersystem (aus zwei versetzten Lochscheiben) und Photomultiplier sowie Wasserkühlung für die Küvette mit dem Versuchsstier. Links Foto, rechts Schemazeichnung. Das Mikroskop steht in einem Holzkasten, der mit lichtdichten Türen ausgestattet ist. Zunächst wird das von einer Kaltlichtlampe (mit Monochromator) kommende Licht von der ersten Lochscheibe stroboskopartig zerhackt und hinter der Scheibe mit einem Lichtleiter zur Küvette mit dem Versuchstier geleitet. Das vom Tier emittierte Licht wird vom Objektiv eines Inversmikrokops aufgefangen und über den Phototubus zum Photomultiplier geführt. Zwischen Ausgang Phototubus und Eingang Photomultiplier verläuft die zweite Lochscheibe; da sie zur ersten versetzt ist, wechseln sich Beleuchtung des Tieres und Öffnung des PMT nacheinander ab.

Material und Methoden - 81 -

und mit einer Hochspannung (PF1042, Burle) versorgt. Die Photomultiplier mit Stirn- und Seitenfenster unterscheiden sich hinsichtlich der Größe der sensitiven Oberfläche als auch in der generellen Sensitivität; insgesamt gleichen sich die Werte aber aus. Die Hochspannungsversorgungen wurden so eingestellt, dass alle verwendeten Photomultiplier bei der Kalibrierung auf ein Eichlicht (blinkende blaue Leuchtdiode LED; λ_{max} =470 nm, 14 mcd, Durchmesser 5mm, Conrad, geeicht auf einen Strahlungsfluß von 4x10-9 W, Nuclear Physics Institut, St. Petersburg, Russland) die gleiche Sensitivität aufwiesen.

Das Ausgangssignal der PMT wurde nach Strom-zu-Spannungswandlung (IC741) mit eingestellter 50facher Verstärkung mit einer analog-digital-Wandlerkarte DAQ700 (National Instruments NI, Austin, Texas, USA) und der Software Labview 6i (National Instruments) unter dem Betriebssystem Windows XP (Microsoft, Seattle, USA) mit einem Notebook (Travelmate 800, Acer, Taiwan) aufgezeichnet. Als Digitalisierungsrate wurde bei kurzzeitigen Messungen 1000 Hz verwendet, bei Daueraufzeichnungen über Stunden oder Tage wurde mit 100 Hz aufgezeichnet. Die Daten wurden als ASCII-Text-Dateien in Tabellenform abgespeichert und nachfolgend mit der Software Microcal Origin 8 (OriginLab Corporation, Northhampton, MA, USA) ausgewertet.

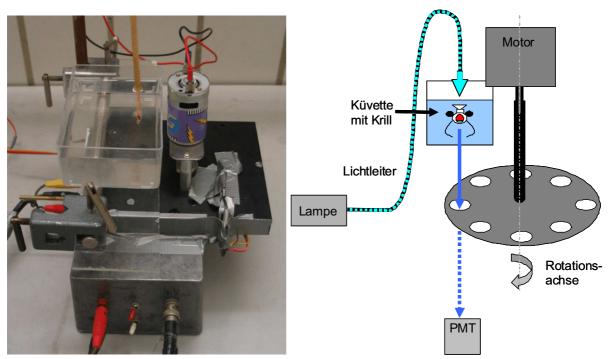


Abbildung 29. Shuttersystem mit nur einer Rotationsscheibe oberhalb des Photomultipliers im Versuchsaufbau mit Küvette. Links Foto, rechts Schemazeichnung. Eine Gabellichtschranke misst die Umdrehungen der Lochscheibe und steuert versetzt zu den Öffnungen eine blaue Leuchtdiode an, die entweder oberhalb des Versuchtstieres angebracht wird oder über einen Lichtleiter das Tier beleuchtet.

- 82 - Material und Methoden



Abbildung 30. Portabler Elektrophysiologiearbeitsplatz an der Marinbiologischen Station Kristineberg. Ein Stereomikroskop steht in einem Faradaykäfig. In einer temperierten Küvette befindet sich das Versuchstier in Rückenlage. Mittels Mikroelektroden werden Signale des Bauchmarks an einen Verstärker WPI Duo geleitet und mit Axon Digidata I200-Analog-Digital-Wandlersystem mit einem Computer aufgezeichnet. Ein Oszilloskop und ein Mithörverstärker helfen bei der Auffindung von Signalen im Bauchmark.

Die Photomultiplier wurden für den Laborbetrieb in Aluminiumgehäuse (12x19x7cm) (Conrad, Hierschau, Deutschland) eingebaut (Abbildung 24). Für Experimente in Wassertanks wurden sie in 1 Liter Vierkantglasflaschen mit Weithals eingebaut (Abbildung 25). Für Versuche im Fjord wurden sie in entweder Glasröhren oder in Metallrohre mit Glasfrontscheibe bzw. Plexiglasfrontschreibe eingebaut (s.u.).

2.3.5.2 Künstliche Lichtereignisse als Auslöser für Biolumineszenz und andere Verhaltensweisen

Zur Stimulierung von Tieren in Aquarien wurde eine Glühlampe (60 Watt, Osram, Deutschland) in einem fotographischen Vergrößerer bzw. Belichter (Ferdinand Homrich und Sohn, Hamburg, Deutschland), die durch ein 50 mm Normalobjektiv (Jena T, Carl Zeiss Jena,

Material und Methoden - 83 -

Jena, Deutschland) mit Blendeneinstellungen von 2,8 bis 32 reguliert werden konnte, verwendet. Für stärkere Abschwächungen konnten im Lichtgang Neutralgraufilter (Schott, Mainz, Deutschland) in den Stärken 1/2, 1/4, 1/10, 1/20, 1/40, 1/100, 1/200, 1/1000, 1/10000 angebracht werden. Ein Blaufilter (BG7, Schott) konnte verwendet werden, um die Lichtqualität der Lampe an den im tieferen Wasser vorherrschenden Blaubereich anzupassen.

In den Experimenten wurden die Tiere nach einer zwanzigminütigen Ruhephase in totaler Dunkelheit für entweder 1, 3, 9, 27 oder 81 Minuten mit der jeweils zufällig ausgewählten Lichtstärke bestrahlt und ihr Antwortverhalten (eventuell ausgelöste Lichtproduktion) für mindestens 20 Minuten nach Beendigung der Beleuchtung aufgezeichnet. Zur Vermessung der Antworten von Einzeltieren wurde diesen ein Plexiglaswürfel mit Mittenbohrung (4x4x4 mm Kantenlänge, Bohrung 1,5 mm) mittig auf den Carapax geklebt (Pattex Blitzgel, Henkel, Düsseldorf, Deutschland). Über einen konisch zulaufenden Holzstift wurden die Tiere mit einer galgenähnlichen Halterung verbunden, die in ein kleines Becken mit 150 ml Wasservolumen eintauchte. Dieses Becken stand oberhalb der Öffnung des Photomultiplier im Aluminiumgehäuse, und die Tiere wurden so orientiert, dass die ventral ausgerichteten Leuchtorgane genau über der Längsrichtung der Photomultiplierröhre mit Seitenfenster lagen. Schwarzer Karton um den Versuchsaufbau diente zur Verhinderung des Einfalls seitlicher Lichtreflexe.

Die Meßergebnisse wurden ausgewertet in Hinsicht auf die Latenzzeit (Ende Beleuchtung-Beginn Biolumineszenz) und Dauer des Leuchtvorgangs.

2.3.5.3 Kühlsystem für Experimente außerhalb des Kühlraums

Für Laborversuche, die nicht im Kühlraum durchgeführt werden konnten, wurde eine lichtdichte Apparatur konstruiert. Ein Holzgehäuse (H 100 cm, B 80 cm, T 65 cm) mit 2 beweglichen Seitenwänden (Tür nach vorne und rechts zur Seite) ermöglichte den Zugang von zwei Seiten. Kabel und Schläuche wurden über lichtdichte Bohrungen auf der linken Seite herausgeführt. Zur Kühlung des Wassers in der Versuchsküvette lief eine Glaswendel seitlich an den Innenseiten der Küvette. Eine Tauchpumpe in einer Kühltasche, welche mit Süßwasser und Krümmeleis (Wassertemperatur: ca. 0°C) gefüllt war, pumpte kaltes Wasser in die Wendel, ein weiterer Schlauch führte das Wasser zurück zur Kühltasche. Durch Einstellung der Pumpleistung konnte die Wassertemperatur in der Küvette auf 1 Grad Celsius genau im

- 84 - Material und Methoden

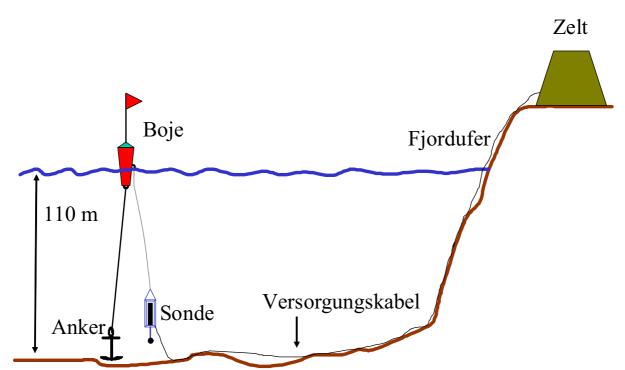


Abbildung 31. Schemazeichnung des Versuchaufbaus zur Messung der Biolumineszenz im Freiwasser des Gullmarfjords. Eine Sonde, d.h. ein druckfestes Gehäuse mit eingebautem Photomultiplier, hängt an einer Boje, die mit einem Ankerseil über einem tieferen Punkt des Fjords in Position gehalten wird. Von der Sonde geht ein Versorgungskabel auf den Fjordboden und von dort an das Ufer, wo es in einem Zelt endet. In dem Zelt befinden sich der Aufzeichnungscomputer und die Akkumulatoren für die Stromversorgung.

Temperaturbereich 1-15 Grad Celsius eingestellt werden. Diese Kühlapparatur wurde auch im Elektrophysiologieaufbau verwendet (siehe dort).

2.3.6 Hälterung von Krill in Hamburg

Für Experimente in Hamburg wurden vormittags frisch an der Station Kristineberg gefangene Tiere zu dritt in 1-Liter-Schott-Glasflaschen gesetzt, die mit einem Liter kaltem Meerwasser gefüllt waren. Die Glasflaschen wurden dann ohne Verschluss in Kühltaschen oder Styroporboxen (mit Deckel) gesetzt, und mit Krümmeleis soweit bedeckt, so dass nur noch der Flaschenhals mit Öffnung ca. 2 cm aus dem Eis herausragte. Die Tiere wurden dann in den Kühltaschen in ein Auto verladen und innerhalb von 24 Stunden nach Hamburg transportiert. Die Letalität während der Fahrt bis Hamburg betrug fast 0%, vermutlich, da das Meerwasser in den Flaschen eine Temperatur von 0°C hatte. In Hamburg wurden die Tiere zunächst gemeinsam in einem gekühlten Rundbecken (Abbildung 26), später vereinzelt in Bechergläsern in Kühlschränken bei ca. 6°C für bis zu zwei Wochen gehältert. Dabei wurden sie nicht

Material und Methoden - 85 -

gefüttert, da sich Fütterungsversuche als ineffektiv erwiesen hatten: in Gefangenschaft hat *Meganyctiphanes norvegica* eine Letalitätsrate von ca. 5% pro Tag (eigene und andere Beobachtungen, z.B. Fritz Buchholz, Alfred-Wegener-Institut AWI, Bremerhaven, persönliche Mitteilung), unabhängig von der Art der Haltung.

Da in Hamburg kein frisches Meerwasser vorhanden ist, wurde das verbrauchte Wasser wiederaufbereitet. Dazu wurde es durch ein ca. 60 cm langes, senkrecht stehendes Plexiglasrohr (Innendurchmesser: 6 cm) mit regulierbarem Ablaßhahn geleitet (Filtrierrate ca. 150 ml pro Minute), welches mit mehreren Schichten Filterwatte, Grobkies, Feinkies und Aktivkohle gefüllt war (Abbildung 27). Das gefilterte Wasser war vom in Kanistern mitgebrachten Fjordwasser im pH-Wert, in der Salinität, im Trübungsgrad und im Geruch (subjektive Bewertung) nicht zu unterscheiden.

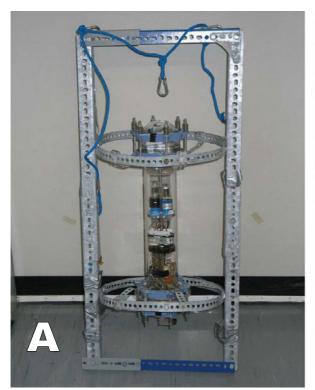
2.3.7 Auswirkung eines Lichtgradient auf das Leuchtverhalten

Um festzustellen, ob die Tiere die Helligkeit ihrer Leuchtorgane in Abhängigkeit von der Umgebungshelligkeit regulieren, ist es nötig, sowohl die Umgebungshelligkeit als auch die Helligkeit der Leuchtorgane möglichst gleichzeitig zu messen. Biolumineszenz und Umgebungslicht sind aber für normale Sensoren, wie Photomultiplier, nicht zu trennen. Erste Versuche, ein kontinuierliches Umgebungslicht zu verwenden, und durch geschickte Abdeckungen einen Photomultiplier davor zu schützen, so dass er nur biolumineszente Signale detektiert, erwiesen sich als nicht praktikabel (Fregin 2001). Daher wurden zwei Verschluss-Systeme entwickelt, bei denen das Umgebungslicht stroboskopartig, mit möglichst hoher Frequenz jenseits der (mutmaßlichen) Verschmelzungsfrequenz der Rezeptoren der Augen, anund ausgeschaltet wurde, und damit alternierend die Öffnung des Photomultipliers geschlossen- bzw. geöffnet wurde. Damit konnte zwar nicht gleichzeitig, aber nahezu gleichzeitig gemessen werden.

2.3.7.1 Apparatur mit zwei rotierenden Lochscheiben

Zwei Edelstahllochscheiben (Durchmesser 20 cm, Dicke 4 mm, 8 Löcher mit 20 mm Durchmesser, 8,5 cm (Zentrum) vom Mittelpunkt der Scheibe entfernt) wurden fast endständig aufgeschraubt (jeweils 1,8 cm vom Ende entfernt) auf eine 28 mm dicke und 30 cm lange Achse (Hersteller unbekannt), welche von zwei Kugellagern (P52, SKF, Göteburg, Schweden)

- 86 - Material und Methoden



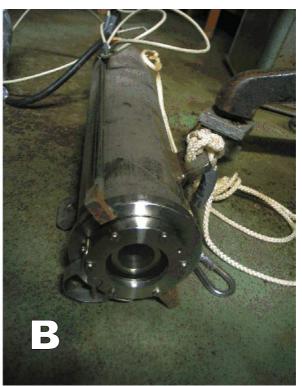




Abbildung 32. Die verschiedenen Sondentypen. [A] Sonde in Glasbauweise mit umgebendem Schutzgestell aus Dixon-Winkelschienen und Lochband (Sondentyp I). Gewicht der gesamten Sonde ca. 6,5 kg. Durch die Glasbauweise können zwei verschiedene Photomultiplierbautypen (seitliche bzw. endständige Fensterung) verwendet werden. [B] Unterwassergehäuse für Photomultiplier aus Edelstahl, Eigenbau, leichte Ausführung (Sondentyp 2). Das frontal sichtbare Beobachtungsfenster hat einen Durchmesser von 27 mm; daher eignet sich die Sonde nur für Photomultiplier mit endständiger Fensterung. [C] Unterwassergehäuse für Photomultiplier, Eigenbau, schwere Ausführung (Sondentyp 3). Die Sonde wiegt ca. 40 kg. Das Beobachtungsfenster auf der rechten Seite hat einen Durchmesser von 12,5 cm. Auf der linken Seite ist ein Schutz für den Stecker aus Lochband. 3 seitlich aufgeschweißte Griffe erleichtern die Handhabung der Sonde und dienen gleichzeitig als Halter für das Drahtseil, an dem die Sonde im Wasser hängt.

Material und Methoden - 87 -



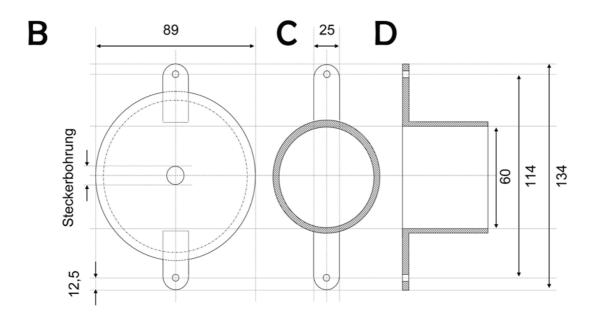


Abbildung 33. Bauteile des Sondentyp 2 (Teil I). [A] Längsschnitt durch das Sondenrohr. Material: Edelstahl V2A. Das Rohr besitzt am Boden zwei seitliche Ohren mit Bohrungen, durch welche Hakenstangen (Abb. 34) für den Andruck des Deckels auf die Sondenrohröffnung geführt werden (Sicherung durch Edelstahlmuttern). Das Sondenrohr kann zusätzlich mit seitlichen Ösen ausgestattet werden, die zum Anschluss des Ankerseils dienen können (nicht eingezeichnet). [B] Aufsicht auf die Bodenplatte des Sondenrohrs mit den zwei seitlichen Ohren sowie der mittigen Bohrung für die Buchse des Versorgungskabelsteckers. [C] Aufsicht auf den Abknickschutz des Anschlusskabels. [D] Querschnitt des Abknickschutzes des Versorgungskabels. Der Abknickschutz wird auf den Boden des Sondenrohrs aufgelegt, so dass die Bohrungen übereinander liegen und das Gewinde der Hakenstange durchgeführt werden kann.

- 88 - Material und Methoden

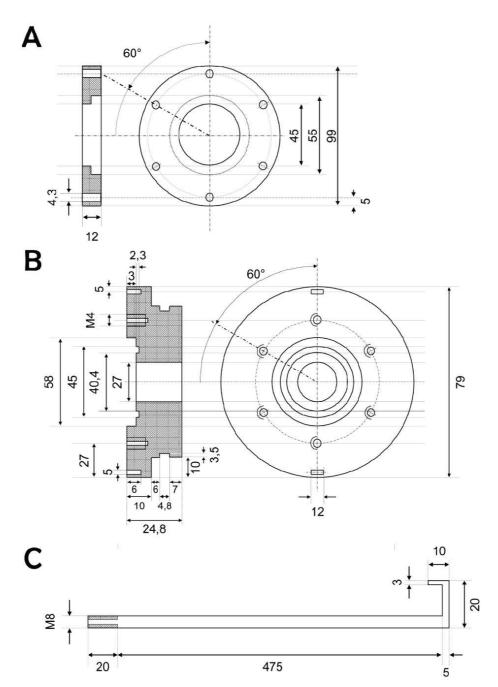


Abbildung 34. Bauteile des Sondentyp 2 (Teil 2). [A] Haltering für das Fensterglas, aus Edelstahl V2A. Wird mit Edelstahlschrauben M4 auf den Deckel aufgeschraubt. [B] Deckel, Edelstahl V2A. Besitzt auf der Oberseite eine umlaufende Nut, in die ein O-Ring (Durchmesser 45 mm, Querschnitt 4 mm) eingelegt und auf den die Glasscheibe aufgelegt wird. Zur Abdichtung des Sondenrohrs verfügt der Deckel über eine seitliche Nut für einen O-Ring (Durchmesser 80 mm, Querschnitt 5 mm). Zusätzlich wird noch eine Runddichtung auf die Kontaktfläche zwischen Sondenrohr und Deckel gelegt. [C] Haken- bzw. Haltestange, die (in doppelter Ausführung) zur Befestigung des Deckels auf dem Rohr dient. Eine Edelstahlstange (Durchmesser 8 mm) besitzt an einem Ende ein Gewinde (M8), welches durch die Bohrungen der Ohren im Sondenrohrboden und des Abknickschutzes durchgeführt und mit einer Mutter gesichert wird. Am anderen Ende ist ein Haken aufgeschweißt, welcher in die seitlichen Aussparungen auf der Deckeloberseite greift und den Deckel beim Anziehen der Sicherungsmuttern auf die Sondenrohröffnung drückt.

Material und Methoden - 89 -

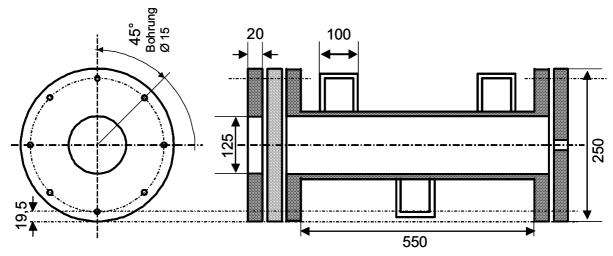


Abbildung 35. Sondentyp 3, Bauplan. Dieser Sondentyp ist größer als der Typ 2 (Innenvolumen 6,7 Liter), und besteht nicht aus Edelstahl, sondern aus normalem Gussstahl. Das Sondenrohr ist von beiden Seiten zugänglich: auf der einen Seite befindet sich eine angeflanschte Metallscheibe, welche mit einer Bohrung für die Kabelbuchse versehen ist. Auf der anderen Seite befindet sich eine gleich große Scheibe mit Öffnung in der Mitte, die den gleichen Durchmesser besitzt wie der Innendurchmesser des Rohrs (125 mm). Zwischen Rohr und Flansch sitzt eine Plexiglasscheibe (Dicke 3 cm, leichtere Streifung). Zwischen dem Rohr und den aufsitzenden Abdeckungen sitzen Dichtungen.

gehalten wurde. Die zwei Scheiben waren um 22,5° zueinander versetzt, so dass die Löcher nicht übereinander lagen, sondern soweit versetzt zueinander waren, dass - von einem Fixpunkt eine gedachte Linie entlang betrachtet, immer abwechselnd eine Öffnung von Scheibe 1 einer Öffnung von Scheibe 2 folgte. Am Ende der Achse saß eine Nut, die mittels O-Ring mit der Achse eines Motors verbunden war.

Dieses Rotationsscheibensystem wurde zunächst horizontal zusammen mit einem Inversmikroskop (Modell 269444, Meopta, Slowakei) mit vier Dämpfern auf eine Plattform gesetzt (Abbildung 28). Die gekühlte Küvette mit dem festgeklebten Versuchstier stand auf einer in der Höhe verstellbaren Platte, in deren Mitte ein Loch die Beobachtung einzelner Leuchtorgane mit einem 4fach Objektiv ermöglichte. Dazu mußte das Tier in der Küvette entsprechend ausgerichtet werden. Die untere Rotationsscheibe war dem frontalenPhototubusausgang des Mikroskops direkt vorgelagert; hinter der Scheibe war ein Metallgehäuse mit 1 cm großer Öffnung, in dem ein Photomultiplier (Bautyp wie oben) untergebracht war. Licht wurde von einer Kaltlichtquelle (KL1500, Leica) mittels Lichtleiter bis zur anderen Scheibe geführt, wo dem Lichtleiter gegenüberliegend ein zweiter Lichtleiter das "zerhackte" Licht wieder aufnahm und in einem Bogen zu einem Punkt oberhalb des Tieres

brachte, so dass das Licht senkrecht auf die Augen ausgerichtet werden konnte. Ein durch einen Schrittmotor (STH-39D, 1,8° pro Schritt, Shinano Kenshilo LTD, Nagano-ken, Japan) angetriebener Neutralgraukeil (Göttinger Farbfilter, Göttingen, Deutschland), der zwischen die Kaltlichtquelle und den ersten Lichtleiter gebaut werden konnte, diente zur Veränderung der relativen Helligkeit von 5%-100%. Desweiteren konnte die Lichtqualität (die Wellenlänge) durch einen Monochromator (Model 1350, Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA) auf ca. 10 nm genau (von 350 bis 800 nm) eingestellt werden. Zusätzlich verfügte die Kaltlichtquelle über 10 verschiedene Helligkeitsstufen. Ein Sensor zur Kalibrierung der besonders niedrigen Lichtintensitäten war nicht verfügbar.

Um die gesamte Lichtproduktion eines Versuchstieres ohne die Abschwächung durch die Mikroskopoptik zu messen, wurde das Rotationssystem ohne das Mikroskop in eine Vertikallage umgebaut, bei der die Küvette direkt über der unteren Rotationsscheibe angebracht wurde. Die Beleuchtung wurde beibehalten.

2.3.7.2 Apparatur mit einer rotierenden Lochscheibe

Eine Edelstahlscheibe (Durchmesser 128 mm, Dicke 2 mm) wurde mit 4 Bohrlöchern (Durchmesser 10 mm, Abstand zum Mittelpunkt der Scheibe 41 mm), die alle im Winkel von 90° Abstand zueinander angeordnet sind, versehen (Abbildung 29). Die Scheibe sitzt auf einer Achse, welche durch zwei Rillenkugellager (6000 2Z, UBC, Shanghai, China) gehalten wird. Das eine Ende der Achse ist über eine Kupplung (Rotex 5 mm Kupplung, KTR Kupplungstechnik, Rheine, Deutschland) mit einem Gleichstrommotor (GZ 600 BB SP, CG IGARASHI Motors, Chennai, Indien) verbunden. Der Motor läuft unter Last mit bis zu 18.000 Umdrehungen pro Minute bei einer Leistung von bis zu 75 Watt. Theoretisch sind damit 72000 Hell-Dunkel-Wechsel pro Minute bzw. 1200 Wechsel pro Sekunde (= 1200 Hz) erreichbar.

Zur Ansteuerung der Beleuchtung wurden die Sender- und Empfängereinheiten einer Gabellichtschranke (CNY 37/TCST2103, Vishay Semiconductor, Heilbronn, Deutschland) aus ihrem Gehäuse ausgebaut und in zwei sich gegenüberliegende Bohrungen der Halterung der Rotationsscheibe eingebaut. Dabei wurde auf die Lage der Bohrungen in der Art geachtet, dass die Löcher in der Rotationsscheibe mittig an den Bohrungen vorbeilaufen, und dass die

Material und Methoden - 91 -

Bohrungen gegenüber der Rotationsachse der Scheibe um 180 Grad, also bei maximal möglicher Entfernung, von der Öffnung für den Lichtgang des Photomultipliers lagen.

Das Signal der Gabellichtschranke diente dazu, über einen Transistor BC547B eine blaue Leuchtdiode mit Strom zu versorgen. Die LED wurde dadurch im Takt der Öffnungen in der Rotationsscheibe so an- und ausgeschaltet, dass sie immer Licht aussendete, wenn der Photomultiplier abgedeckt war, und umgekehrt.

2.4 Elektrophysiologische Messungen

Um auf der Forschungsreise nach Kristineberg selbst erste Versuche zur Ableitung von den die Leuchtorgane innervierenden Nerven durchführen zu können, wurde ein leicht transportabler Messplatz aufgebaut. Mikroelektroden (Widerstand > 3 $M\Omega$) wurden aus feinen Glaskapillaren (GB150T-8P, Science Products, Hofheim, Deutschland) mit einem Elektrodenziehgerät (P97, Sutter Instruments, USA) kurz vor der Forschungsreise hergestellt, und in Petrischalen auf dünnen Knetgummirollen gelagert. Der Elektrodenhalter eines Duo773-Mikroelektrodenintrazellulärverstärkers (World Precision Instruments, Sarasota, Florida, USA) oder eines Extrazellulärverstärkers (Grass P16, Astro-Med, West Warwick, IR, USA) wurde durch einen manuellen Mikromanipulator (Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA) bewegt. Das Ausgangssignal des Verstärkers wurde mit einem Digidata1200 (Axon Instruments, USA) und der Software WinEDR (Prof. Dempster, Strathclyde University, Glasgow, Großbritannien) digitalisiert. Die untersuchten Tiere wurden in einer gekühlten Küvette dorsoventral fixiert, und in Meerwasser oder Ringer vom Bauchmark oder in der Nähe der Leuchtorgane unter visueller Kontrolle durch ein Wild M5A-Mikroskop und einem Oszilloskop (COS5020, Kikusui, Yokohama, Japan) sowie auditorisch durch einem Mithörverstärker (Eigenbau) abgeleitet. Als Stimuli wurden Helligkeitsänderungen in der Umgebung oder die Injektion von Serotonin verwendet. Der gesamte Aufbau wurde von einem Faradaykäfig umgeben. Dieser bestand aus einem mit Maschendraht bedeckten Holzgerüst, welches auf Aluminiumfolie stand (Abbildung 30).

2.5 Messungen im Freiwasser

Die Messungen im Freiwasser des Gullmarfjord (Abbildung 22) wurden entweder von einem Forschungsschiff der Marinbiologischen Station Sven Lovén (ehemals Kristineberg Marina Forskningsstation) der Universität Göteborg (Schweden), einem privaten Ruderboot mit Außenbordmotor, oder vom Ufer aus durchgeführt. Bei den Messungen vom Ufer aus wurde zunächst eine Boje (50 Liter Kanister) im Fjord verankert, ca. 150 m vom Ufer entfernt. An diese Boje wurden dann die Messsonden angehängt (Abbildung 31); das Versorgungskabel lief von der Sonde zum Fjordboden und ans Ufer, wo es in einem kleinen Zelt endete. In diesem Zelt waren der Aufzeichnungscomputer mit Digitalisierungskarte, sowie die Batterien für die Stromversorgung untergebracht (weitere Details s.u.). Das Zelt stand auf einer kleinen Halbinsel, die in den Fjord hinausragt und relativ dicht an den tieferen Bereichen des Fjords liegt.

2.5.1 Meßgeräte - Sonden

Die Photomultiplier (PMT) der Freilandsonden waren im Prinzip aufgebaut wie die der Laborgeräte, mit dem Unterschied, dass das Kabel zwischen Nachverstärker und Digitalisierungskarte länger war (maximal 250 m). Dieses wirkte sich auf die Amplitude des Signals, nicht aber auf den zeitlichen Verlauf der gemessenen Lichtereignisse aus, wie eine Kalibrierung ergab.

Die Photomultiplier waren in drei verschiedenen Gehäusetypen untergebracht. Der erste Gehäusetyp (Abbildung 32 [A]), der in doppelter Ausführung vorhanden war, wurde von der Firma Nautilus Marine Service GmbH (Bremen, Deutschland) angefertigt, und bestand aus einem zylindrischen Instrumentengehäuse aus 3.3 Borosilikatglas (Durchmesser: 90 mm, Wandstärke: 5 mm, Länge 450 mm), auf dessen Endstücke per Flächenschliff Endkappen aus gleichem Glas aufgesetzt waren. Diese wurden durch Flanschverbinder gesichert, und besaßen Bohrungen mit Flächenschliff, an welche ein Vakuumventil sowie die Unterwasserbuchse (WetCon, achtpolig, Nautilus) der Strom- und Datenleitung eingepasst waren. Durch die Glasbauweise war es mit diesem Bautyp möglich, sowohl seitlich als auch in Längsrichtung ausgerichtete Photomultiplier (Fensterung seitlich bzw. Stirnseite) zu verwenden. Die zwei weiteren Gehäusetypen bestanden aus zylindrischem Stahlrohr, an dessen einem Ende ein Fenster aus Glas bzw. Plexiglas aufgesetzt war.

Material und Methoden - 93 -



Abbildung 36. Gerät zur Messung des Trübungsgrades und der Wassertemperatur in den verschiedenen Wasserschichten des Gullmarfjords. Im Inneren des Rohrs misst ein Licht-Frequenz-Wandler die Leuchtstärke einer blauen Leuchtdiode bLED. Schwebeteilchen im Wasser absorbieren Anteile des Lichts und führen damit zu einer Abnahme der Amplitude, die relativ zur Strahlungsstärke in destilliertem Wasser gemessen wird. In dem kleinen Metallgehäuse befindet sich ein integrierter Druck-Temperatur-Fühler.

Der kleinere Bautyp 2 (Eigenkonstruktion Universität Hamburg, Abbildung 32 [B], 33, 34) konnte nur mit Photomultipliern mit Kopffensterung (in Längsrichtung) betrieben werden, wohingegen beim größeren Bautyp 3 (Eigenkonstruktion Universität Hamburg, Abbildung 35) auch PMTs mit seitlicher Fensterung durch Quereinbau verwendet werden konnten, wenn sie eine Maximallänge von ca. 12 cm nicht überschritten. Alle drei Bautypen waren mit gleichen Unterwasserbuchsen-Stecker-Versorgungskabelsystemen ausgestattet. Dieses bestand aus einem passenden Unterwasserstecker (WetCon, Nautilus) und ca. 250 m Kabel (mindestens achtpolig, JYSTY, Conrad). Zusätzlich war eines der Glasgehäuse mit einem kombinierten Druck- und Temperaturfühler ausgestattet (Typ KPY45R, Bürklin, Düsseldorf, Deutschland). Ein vierter Bautyp (Eigenkonstruktion Universität Hamburg, wie Bautyp 3, nur größer dimensioniert) mit einem Innendurchmesser von 26 cm und einer Innenhöhe von 60 cm, der auch zur Nutzung mit einem 3D-Kamerasystem samt Beleuchtung genutzt werden sollte, konnte aus finanziellen Gründen nicht verwendet werden, da er aufgrund der Größe und des Eigengewichts nur mit Seilwinde von einem Forschungsschiff aus nutzbar ist.

- 94 - Material und Methoden



Abbildung 37. Unterwasser-kamerasystem mit 10 roten Leuchtdioden zur Beleuchtung des Wasserkörpers vor der Kameralinse. Die Kamera selbst ist im wasser- und druckdichten Metallgehäuse untergebracht, durch dessen Deckel die Versorgungskabel zur Wasseroberfläche bzw. Stromversorgung für die LEDs geführt werden.

Die Sonden wurden untereinander an Edelstahlseile (3 mm Nirosta, Hering-Walter Drahtseile und Tauwerk, Hamburg, Deutschland) gehängt, die zur Veränderung der Messtiefe in 5-Meter-Abschnitte unterteilt waren, die mittels Karabinerhaken und Kauschen (Hering-Walter)

hintereinander gehängt werden konnten. Das Ende des Edelstahlseils wurde an einen 20-Liter-Kanister gehängt, welcher mittels 120 m Seil und einem Zementanker im Fjord verankert war. Das Verbindungskabel ging von den Sonden direkt auf den Grund des Fjords und von dort zum Ufer, wo es an einer Stahlöse, die in einen Felsen eingebaut war, mit Zugentlastung befestigt war, um dann in einem Igluzelt zu enden. Dort wurde mit 44-Ampere 12-V-Akkumulatoren die nötige Stromversorgung bereitgestellt, indem zwei der Akkumulatoren mit den Plus- und Minuspolen miteinander verbunden wurden, und diese Verbindung als Erdungsreferenz verwendet wurde, von der aus -12 Volt und +12 Volt für die symmetrischen Nachverstärker in den Sonden bereitgestellt wurden. Die Messwerte wurden über eine Analog-Digital-Wandlerkarte DAQ700 (National Instruments, Austin, Texas, USA) mit der Software Labview 6i (National Instruments) aufgezeichnet. Ein 65-Ampere-12V-Akkumulator diente zur Stromversorgung des verwendeten Computers (Travelmate 221, Acer), wobei ein KFZ-Notebook-Spannungskonverter (SMP-70, Conrad) die nötige Betriebsspannung lieferte.

Als Standort für das Zelt wurde eine felsige Halbinsel ungefähr auf der Hälfte des Fjords ausgewählt (Abbildung 22 [C]). An dieser Stelle kommt die Tiefenzone des Fjords dicht ans Ufer heran. Ausserdem sind an einigen der wasserseitigen Felsen große Metallösen in das

Material und Methoden - 95 -

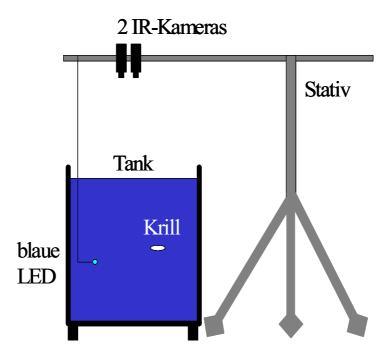


Abbildung 38. Schemazeichnung des 3-D-Tracking-Aufbaus. Zwei IR-sensitive Kameras sind an einem Stativ stereoskopisch über einem Wassertank angeordnet, in dem Krill schwimmt. Eine blaue Leuchtdiode (LED) kann zur Stimulierung der Tiere dienen. Die im Tank angebrachten Infrarotscheinwerfer sind nicht dargestellt.

Gestein eingelassen, die für die Zugentlastungen der Versorgungskabel genutzt werden konnten.

Zur Messung der Oberflächenhelligkeit wurden zunächst einer, dann zwei Licht-Spannungs-Wandler (TSL250R, Conrad) so neben dem Zelt platziert, dass sie dem Gang der Sonne möglichst ungehindert (keine Abschattung durch Bäume o.ä.) folgen konnten. Die Stromversorgung erfolgte durch einen 12-Volt-Akkumulator, dessen Versorgungsspannung mittels eines zwischengeschalteten Spannungsregler (L7805, Conrad) genau auf 5,0 Volt eingestellt war. Einer der zwei Licht-Spannungs-Wandler war mit einem Neutralgraufilter (1/1000, Schott) bedeckt, so dass er auch während der Mittagszeit mit senkrecht stehender Sonne nicht in Sättigung ging. Die Signale dieser zwei Sensoren wurden ebenfalls, parallel zu den Signalen der Sonden im Fjordwasser, mit Labview aufgezeichnet.

Material und Methoden



Abbildung 39. Versuchsaufbau des 3-D-Kamerasystems an der Marinbiologischen Station Kristineberg. Zu sehen sind die Doppelkameras über dem Becken, vier Infrarotstrahler seitlich im Wasserbecken sowie ein Unterwasserphotomultiplier auf dem Beckenboden.

2.5.2 Temperatur und Absorption von Blaulicht in der Wassersäule

Zur Messung der Temperatur in der Wassersäule des Fjords wurde ein Druckfühler, der über einen eingebauten Temperaturfühler verfügt, in ein wasserdichtes Metallgehäuse eingebaut und an ein 110 m langes mehradriges Kabel (JYSTY, Conrad) angeschlossen. Um auch gleichzeitig messen zu können, wie die relative Reichweite von (blauem) Licht in den verschiedenen Schichten des Fjords ist, wurde eine blaue Leuchtdiode (Conrad) in 25 cm Abstand von einem Licht-Frequenz-Wandler (TSL235R, Conrad) auf einem 3 cm breiten Kunststoffbrett angebracht, und diese Anordnung im Inneren eines grauen Kunststoffregenrohrs mit 7 cm Innendurchmesser angebracht (Abbildung 36). An den beiden Enden des Regenrohrs waren jeweils Krümmer in Doppel-S-Kurvenform angebracht, um den Lichteinfall zu minimieren. Ein Trichter an einem Ende sollte für einen optimalen Wasserdurchfluss sorgen. Die

Material und Methoden - 97 -

Verbindungen der Rohrstücke wurden mit Klebeband (extraPower Universal silber, Tesa, Hamburg) fixiert. Eine Veränderung des Trübungsgrades des durchfließenden Fjordwassers wird durch eine Änderung der angezeigten Frequenz angezeigt, und relativ gegenüber destilliertem Wasser angegeben. Druckfühlerspannungsversorung und Ausgangssignal, Temperaturfühlersignal (Widerstandsänderung), Stromversorgung der LED und des Licht-Frequenz-Wandlers sowie das Ausgangssignals des Wandlers wurden alle durch ein zwölfadriges Kabel (Conrad) an die Oberfläche geführt. Die Parameter wurden mit einem Multimeter gemessen und handschriftlich notiert.

2.5.3 Unterwasser-Kamera

Zur Kontrolle, ob Lebewesen im Wasserkörper des Fjords mittels Videokamera auch in größeren Tiefen oder am Grunde beobachtet werden können, wurde eine einfache, besonders schmale Schwarzweiß-Videokamera ("Fingerkamera", 1/3 Zoll Sony CCD-Chip, Lichtempfindlichkeit 0,1 Lux, Auflösung 510x492 Pixel, Conrad) in ein kleines Metallgehäuse eingebaut, welches mit einem runden Glasfenster ausgestattet war (Abbildung 37). Zur Beleuchtung des Wasserkörpers wurden um das Fenster herum 10 Hochleistungsdioden (Wellenlänge 632 nm, Lichtstärke 3600 MCd, Conrad) angeordnet. Ein 110 m langes mehradriges Litzenkabel (Conrad) diente einerseits zur Stromversorgung und andererseits für die Leitung des Videosignals zur Wasseroberfläche. Dort wurde das Videosignal mit einem Schwarzweißmonitor (DTV-560, Denver Electronics, Aarhus, Dänemark) begutachtet und mit einem Videorekorder (VHS, VR510, Philips) aufgezeichnet. Zur Stromversorgung diente eine 12-Volt-Autobatterie, an die ein 12V/220V-Spannungswandler (iC400, iFonix, Tsuen Wan, Hong Kong) angeschlossen war. Die Messung auf dem Fjord erfolgte von Bord eines kleinen Ruderboots (Modell 440, Terhi, Rymättylä, Finnland) mit Außenbordmotor.

2.6 Messung des Schwimmverhaltens in Gefangenschaft (3D-Trajektorien)

2.6.1 Kamerasystem

Ein stereoskopisches, analoges Kamerasystem wurde von Prof. A. G. Fleischer, Universität Hamburg, ausgeliehen. Zwei synchronisierte 30 Hz-CCIR-Zeilensprung-Kameras (CS8320C, TELI) mit 752×582 Pixel Auflösung wurden auf einer optischen Bank in einem Abstand von 20 cm zueinander so angeordnet, dass sich die optischen Achsen der Sensoren in 2 Meter

- 98 - Material und Methoden



Abbildung 40. Infrarotscheinwerfer für die Unterwasserbeleuchtung. 14 einzelne Scheinwerfer (mit jeweils 20 Infrarotleuchtdioden) wurden in einer wasserdichten Plexiglasröhre auf eine Leiste geschraubt. Die Stromversorgung erfolgt über eine seitliche Zufuhr, ein Gummistopfen sorgt für den wasserdichten Verschluss. Gegen den Auftrieb im Wasser wurde zusätzliches Gewicht in Form von Bleistreifen in die Röhre gesteckt.

Entfernung kreuzten (Abbildungen 38 und 39). Die Signale beider Kameras wurden durch einen Videomischer (Eigenbau) so gemixt, dass die jeweils geraden und ungeraden Zeilen beider Kameras abwechselnd in einen einzelnen Frame gespeichert wurden. Das AV-Signal des Videomixers wurde mit einem VHS-Videorekorder (VR510, Philips) aufgezeichnet, und anschließend mit einer Videodigitalisierungskarte (DC10+, Pinnacle Systems, Mountain View, Kalifornien, USA) und der dazugehörigen Software (Studio 7) als AVI-Videodatei auf einem Rechner abgespeichert. Diese Videodateien wurden visuell ausgewertet. Ausgewählte Abschnitte wurden mit der freien Software VirtualDub Version 1.4.10 (www.virtualdub.org) als Tiff-Einzelbilder abgespeichert, in Matlab (Version 6, Mathworks, Natick, Massachusetts, USA) eingelesen, die Halbbilder separiert, die jeweilige Position von Tieren als X-Y-Koordinaten manuell ausgelesen, und mittels eines Algorithmus (siehe Anhang; basierend auf (Fleischer & Pflugradt, 1977) sowie persönlicher Mitteilungen von Herrn Fleischer) aus den XY-Koordinaten beider Kameras die Z-Position der Tiere bestimmt. Die XYZ-Koordinaten wurden als Tabelle abgespeichert und mit einer geeigneten Software (Origin 8, Microcal) visuell dargestellt.

Da die untersuchten Tiere in Dunkelheit beobachtet werden mußten, wurde das Versuchsbecken mittels Infrarotbeleuchtung ausgeleuchtet. Dazu wurden jeweils 14 kleine Infrarotscheinwerfer, die jeweils aus 15 Infrarotleuchtdioden bestanden (Wellenlänge 880 nm, Conrad) auf einen 2 cm schmalen, 50 cm langen Träger versetzt aufgeschraubt und in eine durchsichtige, 65 cm lange Plexiglasröhre (Innendurchmesser 6 cm) geschoben, die mit einem großen Gummipfropfen wasserdicht verschlossen werden konnte (Abbildung 40). Zusätzlich wurden Bleistreifen seitlich neben die Scheinwerfer geschoben, um den Auftrieb der senkrecht im Becken stehenden Beleuchtungen abzusenken. Die Stromversorgung erfolgte über eine

Material und Methoden - 99 -

seitlich durchgeführte Bohrung, die mittels aufgeklebtem dünnen Kunststoffrohr und darüber gezogenen Kunststoffschlauch das Stromkabel trocken aus dem Becken führte.

Die vier Beleuchtungen wurden in den Ecken des Versuchsbeckens positioniert, die zwei Kameras senkrecht 50 cm über der Mitte des Beckens (Abbildung 39). Das Videokabel des Videomixers wurde aus dem Versuchsraum in den Nebenraum geführt, wo es aufgezeichnet wurde. Ein an den Videorekorder angeschlossener Fernseher diente zur visuellen Kontrolle des durchgeschliffenen Signals. Es wurden zwei unterschiedliche Versuchstanks verwendet, zunächst ein kleinerer (ca. 250 Liter Inhalt), dann ein wesentlich größerer (ca. 1,5 m³ Inhalt).

- 100 - Ergebnisse

3. Ergebnisse

3.1 Morphologische und histologische Untersuchung der Leuchtorgane

Meganyctiphanes norvegica verfügt über 10 Leuchtorgane. Diese lassen sich in drei Untergruppen einteilen. In den beiden Augenstielen sitzt median der Photorezeptoren gelegen jeweils ein Leuchtorgan (Abbildung 41 [A]); sie sind fest in die Augenkapsel integriert. Diese Leuchtorgane sind unbeweglich und werden über die Bewegung der Augenstiele bzw. der Augen bewegt. Die vier Leuchtorgane der Thoraxsegmente zwei und sieben (jeweils zwei) sind lateral in Ausbuchtungen der Coxen untergebracht (Abbildung 41 [B], [C]). Sie sind individuell beweglich. Die vier Leuchtorgane des Abdomens schließlich liegen in median auf der Körperlängsachse gelegenen Ausbuchtungen der Pleosternite (Abbildung 41 [D]). Sie sind ebenfalls beweglich. Alle 10 Leuchtorgane sind nach ventral ausgerichtet.

Die Leuchtorgane der Augenstiele wurden bevorzugt für histochemische Untersuchungen verwendet. Sie sind zwar ein wenig größer als die Leuchtorgane des Thorax und Abdomens, aber der innere Aufbau aller Leuchtorgane entspricht sich strukturell. Da die Augenstielleuchtorgane aber fest mit dem umgebenden Gewebe verbunden sind, die Bearbeitung von Schnitten an ihnen leichter; die thorakalen und abdominalen Leuchtorgane haften oftmals nicht besonders gut an Objektträgern und lösen sich bei den Waschschritten oftmals ab. Daher wurden die meisten immunhistochemischen Färbungen an Gefrierschnitten der Augenstielleuchtorgane durchgeführt.

3.1.1 Leuchtorgane der Thoraxsegmente

Die Leuchtorgane des zweiten Thoraxsegments liegen in ventralen kutikulären Ausbuchtungen der zweiten Thoracopoden (Abbildung 42 [A]-[C]). Diese Ausbuchtungen tragen wie der gesamte übrige Thoracopod auf der Medianseite einen Borstenbesatz, der zum Filterapparat des Tieres gehört. Im lebenden Zustand sind die Leuchtorgane als kugelige, knallrot gefärbte Gebilde visuell leicht im fast durchsichtigen Tier erkennbar. Bei rasterelektonenmikroskopischen Aufnahmen sind die Leuchtorgane am intakten Tier nicht erkennbar. Bei Konfokalmikroskopaufnahmen der Thoracopoden hingegen sind die Leuchtorgane in ihrer in situ Lage gut erkennbar (vergleiche Abbildung 42 [A] und [C]).

Ergebnisse - 101 -

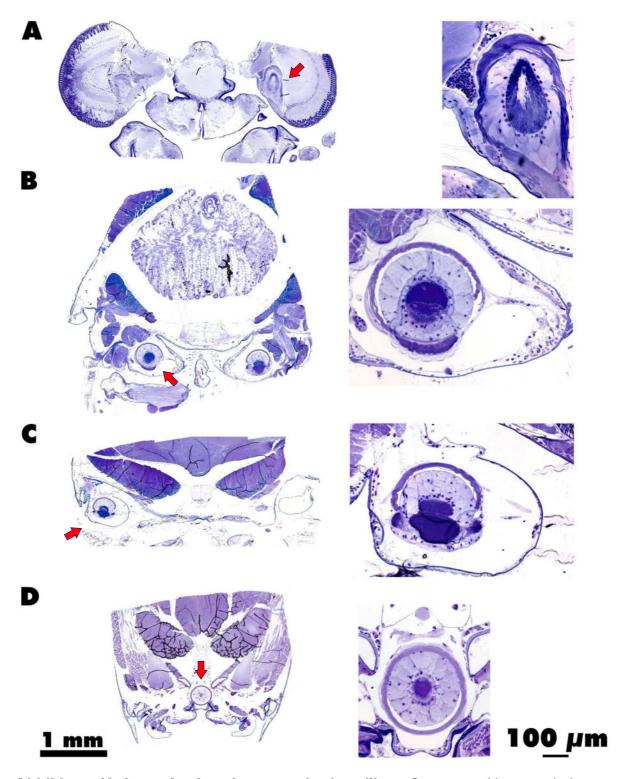


Abbildung 41. Lage der Leuchtorgane im jeweiligen Segment. Horizontalschnitte. Auf der linken Seite eine Übersicht über das jeweilige Segment, rechts eine Detailvergrößerung eines Leuchtorgans. Die Schnittebene entspricht nicht genau der Horizontalebene, so dass die beiden Körperseiten nicht spiegelbildlich sind. Die Abbildungen wurden gegebenenfalls aus mehreren Einzelbildern zusammengesetzt. [A] Augenstiel: Das länglichovale Leuchtorgan sitzt unbeweglich im Augenstiel median der Lichtrezeptoren des Komplexauges. Es ist unbeweglich fest in der Augenkapsel untergebracht und wird von den verschiedenen umgebenden Geweben begrenzt (v.a. Muskel- und Nervengewebe).

(Fortsetzung der Legende auf der folgenden Seite)

- 102 - Ergebnisse

Die Leuchtorgane des siebten Thoraxsegments (Abbildung 43 [A], [B]) liegen ebenfalls in ventralen kutikulären Ausbuchtungen der Coxa. Allerdings sind sie weiter lateral angeordnet und liegen direkt über den Kiemenansätzen.

Präpariert man die Leuchtorgane des Thorax für die Rasterelektronenmikroskopie frei, stellt man zwei Schwierigkeiten fest: einerseits sind die Leuchtorgane und ihre Begleitstrukturen in den meisten Präparationen (ca. 95%) von einer Schicht (ähnlich einer Staubabdeckung bei Möbeln) bedeckt, die sie komplett umhüllt und keine Analyse der Oberflächenbeschaffenheit erlaubt. Desweiteren wird bei der Entfernung der Kutikula oftmals das Leuchtorgan mit herausgerissen und die Integrität der es umgebenden Strukturen zerstört. Aussagekräftige rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen sind daher eher die Ausnahme als die Regel.

Beim Blick in die geöffnete Coxaausbuchtung des siebten Thoraxsegments (Abbildung 44 [A]) fallen drei Strukturen besonders ins Auge:

- 1. Auf den Medianachsen der Leuchtorgane sehr zentral gelegen findet sich bei allen Leuchtorganen (auch denen des Abdomens) eine kleine Öffnung.
- 2. Lateral in der Coxenausbuchtung laufen zwei kräftigere Stränge parallel zueinander dorsoventral am Leuchtorgan vorbei (Abbildung 44 [A], [C]). Die zur Körpermitte gerichtete Seite des Leuchtorgans zeigt eine dreieckige Struktur auf der Oberfläche, die in den einen der Stränge übergeht, welcher dann abknickend aus dem sichtbaren Bereich hinter das Leuchtorgan zieht. Präpariert man das Leuchtorgan komplett heraus, zerreißen diese Strukturen; es bleibt meist ein y-förmiger Überrest mit zwei relativ kurzen und einem relativ langen Arm übrig (Abbildung 44 [B]).
- 3. Auf der Medianseite des Leuchtorgans sind zwei Strukturen erkennbar (Abbildung 44 [D]):

Fortsetzung Abbildung 41. [B] Zweites Thoraxsegment und [C] siebtes Thoraxsegment: Die kugelförmigen Leuchtorgane liegen in Ausbuchtungen der Coxen in Hämolymphräumen und werden durch laterale Ligamente in Position gehalten. Dazu kommen Stellmuskel, welche die Leuchtorgane um eine einzelne Rotationsachse drehen können. Die Leuchtorgane des siebten Segments liegen lateraler als die mehr median angeordneten Leuchtorgane des zweiten Thoraxsegmentes. [D] Zweites Abdominalsegment (stellvertretend für die vier abdominalen Segmente): Die Leuchtorgane sind in einer Ausbuchtung des vorderen Pleosterniten untergebracht (vergleiche mit der rasterelektronischen Aufnahme, Abbildung 50), liegen ebenfalls frei im Raum und sind von Hämolymphe umgeben. Anders als bei den Leuchtorganen des Thorax haben sie keine individuellen Bewegungsmuskel, sondern werden über ein Ligament-/Muskelsystem, welches durch die vorderen fünf Abdominalsegmente verläuft, synchron gedreht. Größenmarker: I mm (5fache Vergrößerung) bzw. 100 μm (20fache Vergrößerung).

Ergebnisse - 103 -

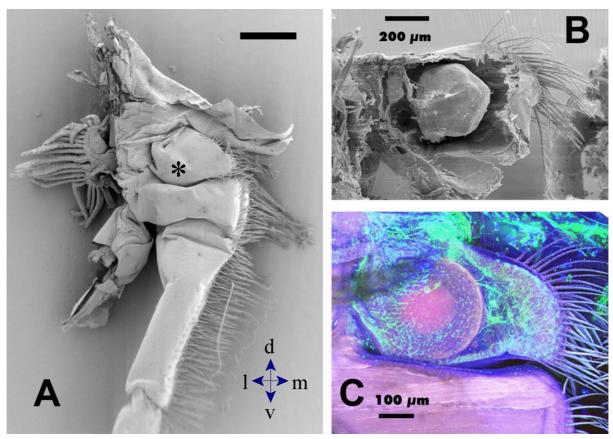


Abbildung 42. Gliedmaßen und Leuchtorgan des zweiten thorakalen Segments. [A] Medianansicht von ventral auf den zweiten Thoracopoden. Das Leuchtorgan sitzt in einer kutikulären Ausbuchtung der Coxa (*). **[B]** Coxa von dorsal betrachtet, ein Teil der Kutikula wurde entfernt. **[C]** Konfokale Aufnahme mit Autofluoreszenz, Phalloidin (Cy3-gekoppelt, Muskelgewebe, rot), Zellkernmarker (Hoechst, blau) und Färbung gegen Aktin (Antikörper, Cy2, grün). Größenmarker: A 500 μm, B 200 μm, C 100 μm.

ventral geht ein röhrenförmiger Schlauch (ein Blutgefäß und ein Nerv in einem einzelnen Strang zusammen gefasst, siehe unten) an das Leuchtorgan heran und tritt in es ein. Dorsal davon liegt ein dreieckiges (Abbildung 44 [E]) Velum, welches sich vom Leuchtorgan zur Kutikula hin verjüngt und an dieser fest befestigt ist.

Semidünnschnittserien durch die Coxen des zweiten und siebten Thoracopoden liefern weitere Informationen über den inneren Aufbau und die an das Leuchtorgan herantretenden Strukturen (Abbildungen 45, 46). Sie sind sehr ähnlich aufgebaut, bis auf dass die lateral gelegenen Strukturen spiegelbildlich zueinander sind. Was damit gemeint ist, wird im folgenden geschildert.

Eine Kutikulaeinbuchtung (Apodem bzw. Entapophyse) bildet sich (Abbildung 45 [A]-[C], Abbildung 46 [A]-[D]) und läuft schräg von posterior ventral (zweites Segment) bzw. posterior

- 104 - Ergebnisse

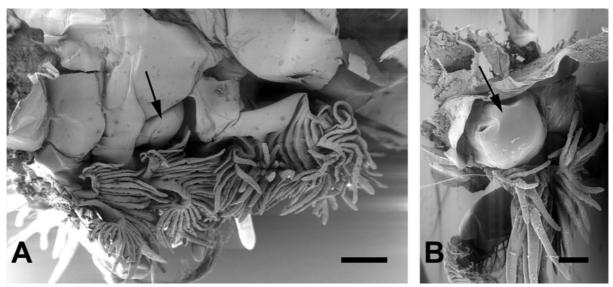


Abbildung 43. Das Leuchtorgan des siebten thorakalen Segments. [A] Lateralansicht der Körperoberfläche des hinteren Teils des Thorax. Der Pfeil weist auf die Ausbuchtung der Coxa des siebten Segments hin, in welcher das Leuchtorgan untergebracht ist (dorsal der Kiemen). Größenmarker: 500 µm [B] Gleiche Ansicht wie in [A], nur das Teile der Kutikula entfernt wurden. Größenmarker: 250 µm.

dorsal kommend (siebtes Segment) lateral in das Innere der Ausbuchtung der Coxa; das Leuchtorgan liegt median davon. Dieses Apodem führt ungefähr bis zu dem Punkt im Innenvolumen der Coxa, wo die laterale Rotationsachse des Leuchtorgans verläuft (Abbildung 45 [I], 46 [K]). Bevor es an diesen Punkt gelangt, trifft ein Muskel mit ihm zusammen. Dieser kommt im zweiten Segment von posterior dorsal, im siebten Segment von posterior ventral - die Verhältnisse in beiden Segmenten sind also in der Y-Achse vertauscht.

Im Bereich der Rotationsachse befindet sich ein Ligament, ein vermutlich gummi- oder bindegewebsartiges Material, welches im Semidünnschnitt amorph wirkt und bis auf einige randständige Zellkerne keine innere Struktur erkennen läßt. Es zieht halbkreisförmig um das Leuchtorgan herum und ist fest mit dessen Oberfläche verbunden. Es verläuft dorsal (zweites Segment) bzw. ventral (siebtes Segment) gelegen um den Muskel-Apodem-Komplex herum und scheint mit diesem fest verbunden zu sein (Abbildung 45 [F]-[K], 46 [E]-[K]). Lateral davon scheint es indirekt (zweites Segment: Abbildung 45 [G]-[K]) bzw. direkt (siebtes Segment: 46 [G]-[I]) mit der Kutikula verbunden zu sein.

Der Muskel-Apodem-Komplex zieht weiter anterior, wobei im Inneren die vermutlich chitinhaltige Matrix des Apodem nicht mehr erkennbar ist; im siebten scheint die Matrix aber

Ergebnisse - 105 -

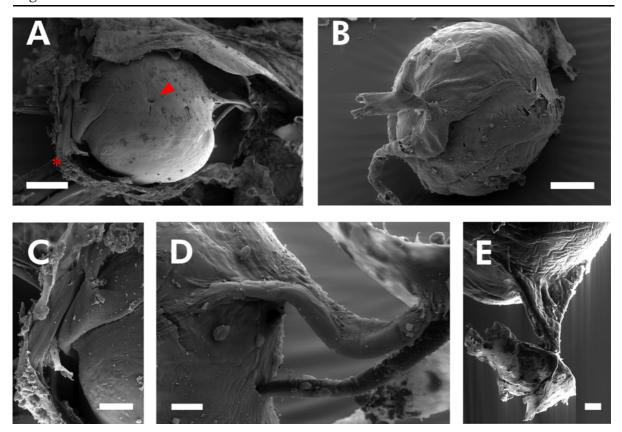


Abbildung 44. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Morphologie der thorakalen Leuchtorgane. [A] Übersicht (siebtes thorakales Segment), Ventralansicht, Kutikula teilweise entfernt, Leuchtorgan in natürlicher Lage (Linse bzw. Achse des Leuchtorgans im Bild unten). Links (lateral) sind breite Verbindungen (Muskeln) vom Leuchtorgan zum angrenzenden Integument sichtbar, die eine annähernde Y-Form besitzen. Pfeilkopf: anteriore Öffnung des Leuchtorgans. Asterisk: Anheftungspunkt des Muskels am Integument. [B] Leuchtorgan samt Muskel für die Rotation freipräpariert. (Gegenüber [A] um ca. 45° in der horizontalen gegen den Uhrzeigersinn gedreht.) [C] Die laterale Muskel-Ligament-Anordnung; Vergrößerung aus [A]. [D] Median ist das Leuchtorgan über zwei Strukturen mit dem Integument verbunden: einem Ligament und einem Blutgefäß. [E] Das mediane Ligament hat die Form eines flachen Dreiecks und verdünnt sich vom Leuchtorgan Richtung Kutikula. Größenmarker: A 100 μm, B 100 μm, C 50 μm, D 20 μm, E 20 μm.

länger erhalten zu sein als im zweiten Segment. Schließlich zieht ein reiner Muskel (ohne innere Verstärkung) weiter nach dorsal, bis er in einigen hundert Mikrometern Entfernung auf eine weitere Kutilularstruktur stößt und an ihr endet (Abbildung 45 [L]-[Q], 46 [K]-[O).

Blutgefäß und Innervation erfolgen auf der lateralen Seite des zweiten Segments, indem ein einzelnes Gefäß und ein einzelner Nerv zunächst vom Hauptgefäß (Abbildung 45 [F], [G]) und vom Hauptnervenstrang (Abbildung 45 [H]) durch den Hämolymphraum von dorsal posterior zum Leuchtorgan laufen. Nahe dem Leuchtorgan treffen sie sich und treten als vereinigter Strang in das Ligament ein (Abbildung 45 [H]-[K]).

- 106 - Ergebnisse

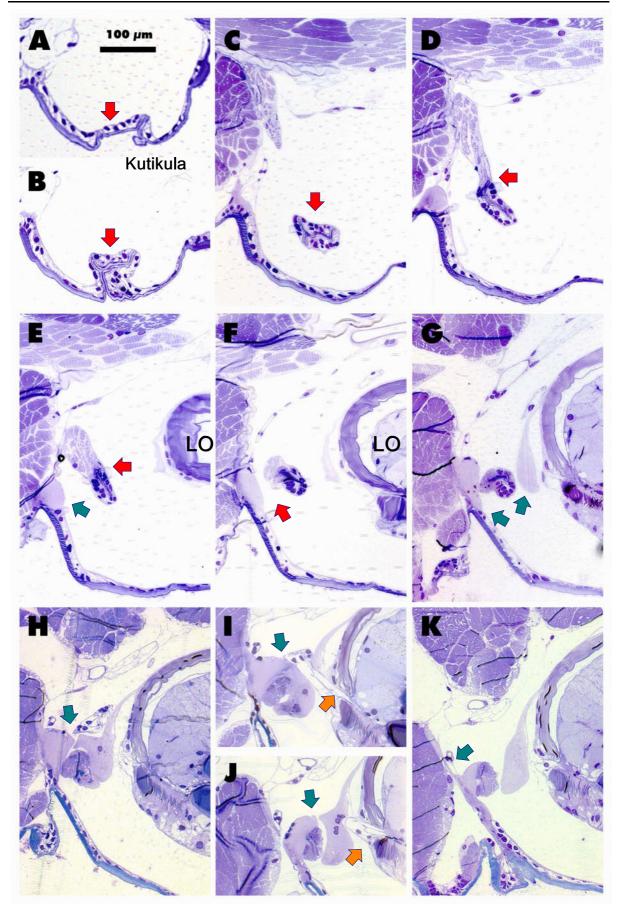


Abbildung 45 (Tafel I). Semidünnschnittserie durch das Leuchtorgan des zweiten thorakales Segments. (Legende siehe folgende Seite)

Ergebnisse - 107 -

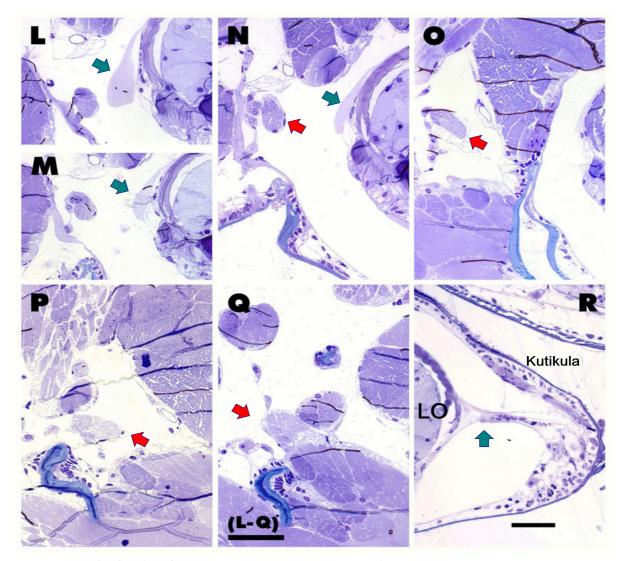


Abbildung 45 (Tafel 2). Detailansichten aus einer Semidünnschnittserie durch das zweite thorakale Segment (von posterior nach anterior verlaufend) im Bereich des Leuchtorgans (vergleiche Abbildung 41[B]). [A], [B], [C]: Ein Apodem (Entapophyse) beginnt, sich von ventral in das Innere der Coxa nach anterior einzustülpen (Pfeil). [D] Ein von dorsal kommender Muskel trifft das Apodem, [E] beide verlieren an Durchmesser. An der Coxawand ist ein sehnenartiges Bindegewebe (im folgenden "Ligament" genannt) gebildet (grüner Pfeil), [F] an welches sie sich annähern. Ligamentmaterial findet sich ebenfalls an der Oberfläche des ab jetzt im Anschnitt sichtbaren Leuchtorgans (LO). [G] Die beiden Ligamente (grüne Pfeile) nähern sich dem Apodem und beginnen, [H] es zu umgreifen (Pfeil), [I][J] wobei sie fusionieren (dunkelgrüner Pfeil). Das Apodem endet hier, aber der Muskel gewinnt wieder an Durchmesser. An dieser Stelle tritt auch das (laterale) Blutgefäß (oranger Pfeil) zusammen mit dem Leuchtnerv in das Leuchtorgan ein, welche sich vorher von dorsal kommend angenähert hatten. [K] Das ursprünglich an der Kutikula befestigte Ligament hat mittlerweile den Kontakt zur Kutikula verloren und ist mit dieser nur noch über Gewebestränge (Bindegewebe?) verbunden (Pfeil). [L] Das Ligament verkleinert sich zunehmend und verliert den Kontakt zum Bewegungsmuskel (Pfeil). [M] Das am Leuchtorgan befestigte Ligament verkleinert sich zunehmend (Pfeil). [N], [O], [P] und [Q] Der Bewegungsmuskel (roter Pfeil) wandert weiter nach dorsal, wo er schließlich mit anderen Muskeln verbunden an einem weiteren Apodem endet. [R] Median wird das Leuchtorgan über ein einzelnes, zwischen Leuchtorgan und Kutikula straff gespanntes Ligament (Pfeil) gehalten. Ventral von diesem tritt das Blutgefäß ins Leuchtorgan ein (im Schnitt nicht sichtbar).

- 108 - Ergebnisse

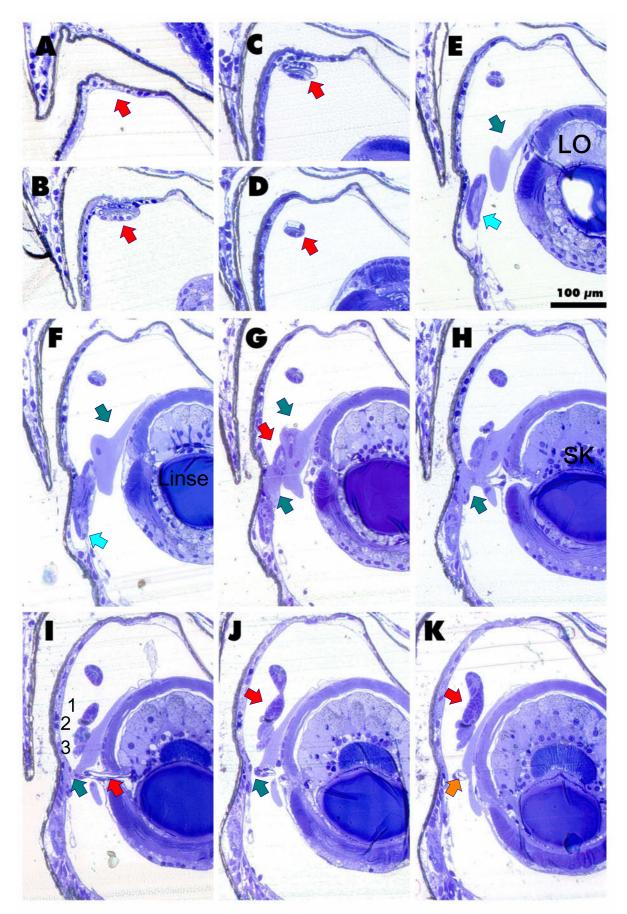


Abbildung 46 (Tafel I). Siebtes thorakales Segment. Semidünnschnittserie durch das Leuchtorgan. (Legende siehe Tafel 2 auf der folgenden Seite)

Ergebnisse - 109 -

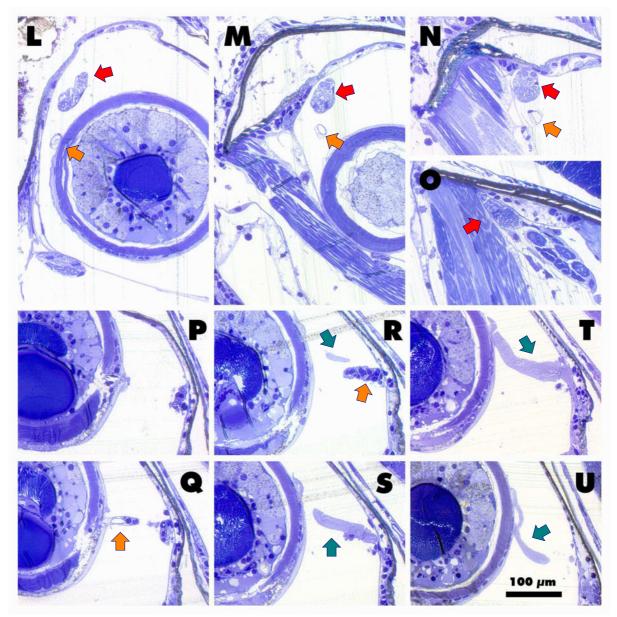


Abbildung 46 (Tafel 2). Detailansichten aus einer Semidünnschnittserie (von posterior nach anterior verlaufend) durch das siebte thorakale Segment im Bereich des Leuchtorgans (vergleiche Abbildung 41 [C]). [A]-[O] mediane Seite (relativ zum Leuchtorgan), [P]-[U] laterale Seite des Leuchtorgans. [A], [B], [C], [D]: Ein Apodem (Entapophyse) beginnt, sich von dorsal in das Innere der Coxa nach anterior einzustülpen (Pfeil). Dabei verjüngt er sich zusehends. [E] Das im Anschnitt sichtbare Leuchtorgan (LO) besitzt ein Ligament, welches sich der Kutikula annähert (grüner Pfeil). Hellblauer Pfeil (auch in [F]: Muskelansatz an der Kutikula, leicht abgelöst. [F], [G] An der Kutikula sitzt ebenfalls ein Ligament, welches sich dem Ligament des Leuchtorgans annähert (grüner Pfeil). Dabei wird ein Muskel sichtbar, der zunehmend an Masse gewinnt (roter Pfeil). [H] Die Ligamente fusionieren, der neue Muskel liegt dorsal von der Fusionsstelle (grüner Pfeil) dem Ligament auf und scheint mit diesem zunächst fest verbunden zu sein, um sich dann von ihm zu lösen. [I] Der Muskel scheint sich in zwei, eventuell drei Teile (I-3) zu teilen. An dieser Stelle tritt das Blutgefäß und der Leuchtnerv auf der lateralen Seite in das Leuchtorgan ein (roter Pfeil).

(Fortsetzung der Legende auf der folgenden Seite)

- 110 - Ergebnisse

Im siebten Segment ist die Situation für die Blutversorgung ähnlich, nur dass das Gefäß frei neben dem Muskel von anterior dorsal zum Leuchtorgan verläuft (Abbildung 46 [L]-[O]). Der Nerv liegt ventral an der Epidermis an oder läuft dicht an ihr entlang (Abbildung 46 I); er tritt unabhängig vom Blutgefäß in das Ligament ein. Generell lassen sich die sehr feinen Nerven bei der verwendeten Einbettungsmethode nicht gut verfolgen; anscheinend kollabieren sie leicht oder verkleben mit der Epidermis während der Fixierung.

Auf den zur Medianlinie des Tieres gelegenen Seiten der Leuchtorgane des zweiten und siebten Throraxsegments ist die Situation wesentlich übersichtlicher, da hier keine Strukturen vorhanden sind, die zur aktiven Bewegung der Leuchtorgane beitragen. Ein Blutgefäß und ein Nerv, in einem Strang zusammengefasst, treten ventral von einem segelartigen Ligament in das Leuchtorgan ein (Abbildung 45 [R], 46 [P]-[U]). Sie lassen sich nicht gut verfolgen, da sie in der Epidermis zu verlaufen scheinen und kaum vom umgebenden Gewebe unterscheidbar sind.

Um die einzelnen Strukturen, die an dem Rotationsmechanismus der Leuchtorgane beteiligt zu sein scheinen, genauer auf ihren Gewebetyp eingrenzen zu können, wurden nach der Erstellung der Semidünnschnittserien an Gefrierschnitten eine Azanfärbung durchgeführt. Diese dient dazu, Bindegewebe und Muskelgewebe voneinander zu unterscheiden. Ersteres wird durch eine Azanfärbung blau gefärbt, wohingegen Muskelgewebe rot gefärbt wird. Blutgefäße werden oftmals orange gefärbt.

Die Azanfärbung der Gefrierschnitte der Thorakalsegmente zwei und sieben erbrachte, dass die einheitlich unstrukturierten Gewebe, die bisher als Ligamente angesprochen wurden, blau gefärbt wurden.

Fortsetzung Abbildung 46. [J] Der Muskel nimmt Kontakt mit dem das Apodem umgebenden Gewebe auf, das sklerotisierte Material der Kutikula endet hier, nachdem es sich schon zuvor immer weiter verdünnt hat (roter Pfeil). Die Teile des Muskels beginnen, einen einheitlichen Strang zu bilden. Das Ligament verliert den Kontakt zur Kutikula (grüner Pfeil). [K] Die Teile des Muskels fusionieren weiterhin (roter Pfeil). Das Blutgefäß ist als freie Struktur in der Hämolymphe sichtbar (gelber Pfeil). Das Ligament zieht sich noch entlang der Seite des Leuchtorgans und verliert zusehends an Dicke. [L], [M], [N], [O] Muskel (roter Pfeil) und Blutgefäß (gelber Pfeil) ziehen nach dorsal und nähern sich aneinander an. Der Muskel endet an der Kutikula, dass Blutgefäß läuft zwischen die einzelnen Muskelgruppen und fusioniert mit weiteren Gefäßen (nicht gezeigt). [P], [Q], [R], [S], [T], [U] Auf der lateralen Seite des Leuchtorgans wird dieses über ein einzelnes, straff gespanntes Ligament mit der Kutikula verbunden (grüner Pfeil). Es ist kein Muskel vorhanden. Das Blutgefäß (gelber Pfeil) zusammen mit dem Nerv tritt ventral vom Ligament in das Leuchtorgan ein; sie konnten in der Schnittserie nicht weiter verfolgt werden.

Ergebnisse - 111 -

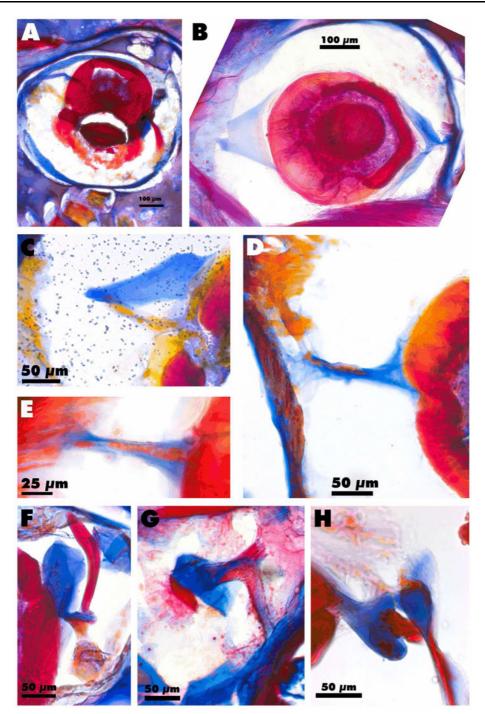


Abbildung 47. Thorakale Leuchtorgane. Kryoschnitte (50 µm Dicke) mit Azanfärbung. Die Azanfärbung färbt in diesen Schnitten generell Sehnen und Bindegewebe blau, Muskel rot, Blutgefäße leicht durchsichtig-orange, oftmals mit einer blau gefärbten Bindegewebshülle umgeben. Die Tiere sind beim Tieffrieren von Gelatine umgeben, welche violett erscheint. Die Färbungen des zweiten und sieben Thoraxsegmentes zeigen keine Unterschiede. [A] Übersicht: Leuchtorgan im Querschnitt. Das Leuchtorgan selbst ist rot gefärbt, die Linse des Leuchtorgans rubinrot. Die als Ligamente bezeichneten Strukturen sind dunkelblau gefärbt, die als Muskel gewerteten Strukturen seitlich der Leuchtorgane sind rot gefärbt. [B] Übersicht: Leuchtorgan im Horizontalschnitt. Die blau gefärbten Ligamente laufen sich verjüngend bzw. segelartig zu den Anheftungspunkten an der Kutikula. [C], [D], [E] Ansichten der lateralen Verbindungen zum Leuchtorgan. [F], [G], [H] Ansichten der medianen Verbindungen zum Leuchtorgan. Das Apodem ist lila-orange eingefärbt, das Ligament blau und der daran ansetzende Muskel rot.

- 112 - Ergebnisse

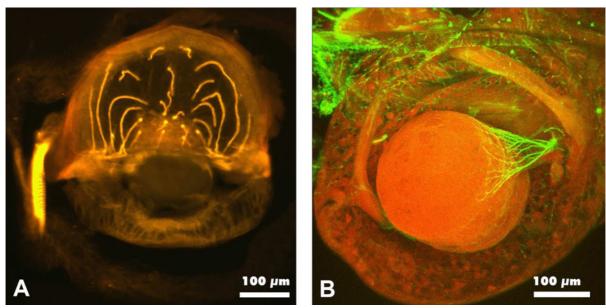


Abbildung 48. Morphologie der thorakalen Leuchtorgane. [A] Kryoschnitt (100 μm Dicke) mit Phalloidinfärbung (Cy3-markiert). Phalloidin lagert sich an Actin an und färbt damit besonders Muskelzellen (links) überproportional stark an. Im Inneren des Leuchtorgans ist (mutmaßlich) das Blutgefäßsystem gefärbt. [B] Ein Blockpräparat wurde mit einem Antikörper gegen α-Tubulin (grüne Färbung) sowie mit Phalloidin (rote Färbung, aber auch Autofluoreszenz) inkubiert. Besonders stark sind die Tubuline anscheinend im (dünnen) Ligament auf der medianen Seite gefärbt; auf der lateralen Seite ist keine besonders auffällige Färbung im Ligament festzustellen.

Die Gewebe, die aufgrund einer Segmentierung als Muskel angesprochen wurden, sind hingegen rot gefärbt (Abbildung 47 [A]-[H]) und unterscheiden sich deutlich von den Ligamenten. Daher ist anzunehmen, dass es sich bei den Ligamenten des Thorax um Bindegewebe handelt, welches zusammen mit den Muskeln für die Rotation verantwortlich ist. Eine weitere Bestätigung dieser Einteilung ergibt eine Färbung mit fluoreszenzgekoppeltem Phalloidin, welches Muskel färbt. Sowohl in Gefrierschnitten (Abbildung 48 [A]) als auch in Blockpräparaten (Abbildung 48 [B]) färbt das Phalloidin die als Muskel angesprochenen Strukturen, die als Ligamente angesprochenen Strukturen allerdings nicht. Bei den Blockpräparaten war allerdings auch eine starke Autofluoreszenz festzustellen, welche teilweise schwierig von der Fluoreszenz des Phalloidins zu differenzieren war. Die Phalloidinfärbung ist für dünne Gefrierschnitte wesentlich besser geeignet als für Blockpräparate.

Die Ligamente werden hingegen bei einer Antikörperfärbung gegen acetyliertes α-Tubulin teilweise charakteristisch gefärbt (Abbildung 48 [B]), wobei die Färbung der dünnen, segelförmigen Ligamente wesentlich prägnanter ist. Das Tubulin zeigt eine netzartige

Ergebnisse - 113 -

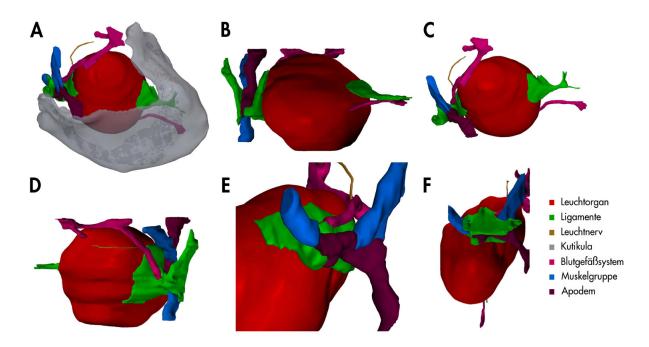


Abbildung 49. Die Leuchtorgane des zweiten thorakalen Segments. 3D-Rekonstruktion aus einer Semidünnschnittserie. Verschiedene Ansichten von Teilaspekten des erstellten 3D-Modells zur Verdeutlichung der Morphologie und der Lage der einzelnen Strukturen, die mit der Bewegung der Leuchtorgane zu tun haben könnten, zueinander. [A] Ansicht des linken Leuchtorgans in der Kutikulaausbuchtung von posteriordorsal. [B] Ansicht wie in [A] um 90° gedreht. [C] Ansicht wie in [A] ohne Kutikula. [D] Dorsolaterale Ansicht der Region der lateralen Rotationsachse, an der zwei Muskel, ein Apodem und das Ligamentsystem zusammentreffen und das mit dem Leuchtnerv zusammen verlaufende Blutgefäß in das Leuchtorgan eintreten. [E] Vergrößerte ventrolaterale Ansicht der Rotationsachsenregion. [F] Ansicht wie in [E] um 45° gedreht. (In der PDF-Version dieser Arbeit läßt sich über einen Doppelklick auf diese Abbildung bei Verwendung eines Adobe Acrobat Readers Version 8 oder höher die 3D-Funktion aktivieren.)

Verstärkung innerhalb der Ligamente, die vom Verankerungspunkt an der Kutikula zu die Seite des Leuchtorgans zieht.

Aus den Daten der Semidünnschnittserien kann, zusammen mit den Detailinformationen über die Beschaffenheit der einzelnen Gewebe, eine 3D-Rekonstruktion des Bewegungsapparats der thorakalen Leuchtorgane erstellt werden. Diese Rekonstruktion ermöglicht es, die reale Anordnung der einzelnen Strukturen zueinander zu verstehen, was bei einer Übertragung aus den zweidimensionalen Semidünnschnitten nicht ohne weiteres fehlerfrei geschehen kann. Eine solche 3D-Rekonstruktion wurde für das zweite Thorakalleuchtorgan beispielhaft erstellt (Abbildung 49 [A]-[F]). Das 3D-Modell lässt sich frei im Raum bewegen und ermöglicht einen plastischen Eindruck der Gesamtstruktur, aus der ein Modell für die Realisierung der Rotation der Leuchtorgane um ihre Rotationsachse abgeleitet werden kann. Hier zunächst eine

- 114 - Ergebnisse

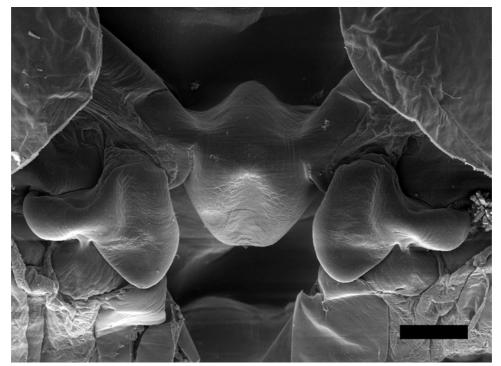


Abbildung 50. Medianer Blick von ventral auf einen Pleosterniten eines der ersten vier abdominalen Segmente, welcher in der kugeligen Ausbuchtung ein Leuchtorgan beherbergt. Größenmarker: 200 µm.

Beschreibung der räumlichen Anordnung; wie sich daraus eine Rotation der Leuchtorgane ergeben könnte, wird in der Diskussion erörtert.

Die thorakalen Leuchtorgane werden beidseitig von je einem Blutgefäß und einem Nerv versorgt. Diese treten median in einem gemeinsamen Strang zusammengefasst (d.h. von einer Membran umhüllte) in das Leuchtorgan ein. Lateral unterscheiden sich das zweite und siebte Segment: bei ersterem treten beide wiederum als gemeinsamer Strang an das Leuchtorgan heran, beim siebten Segment hingegen kommen sie von dorsal bzw. ventral getrennt heran.

Auf der medianen Seite sind alle thorakalen Leuchtorgane über ein dreieckig-segelartiges Ligament mit der Kutikula verbunden. Eine breite Seite umgreift zirkulär ca. 30° der Oberfläche des Leuchtorgans und ist fest mit ihm verbunden. Die nicht mit dem Leuchtorgan verbundene Spitze des Dreiecks zieht zur Kutikula, mit der sie fest verbunden ist. Dieses Ligament sitzt dorsal der Eintrittsstelle des Blut-Nerv-Stranges in das Leuchtorgan.

Ergebnisse - 115 -

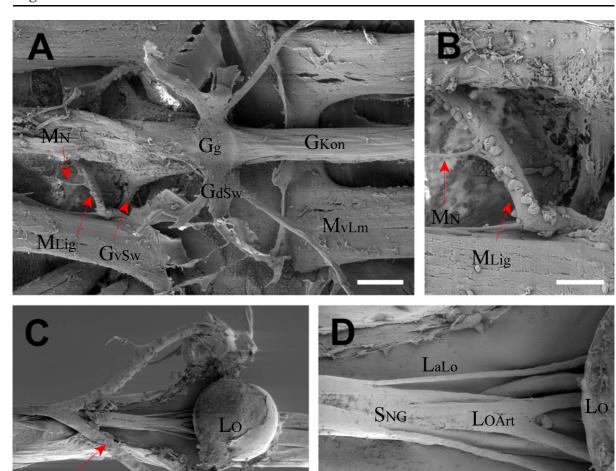


Abbildung 51. Erstes abdominales Segment. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen. [A] Übersicht: Ansicht von dorsal (Rückenmuskulatur entfernt). Zentral ist das Ganglion (Gg) zu sehen mit den dorsalen Seitenwurzeln (GdSw). Horizontal verlaufen die Konnektive (GKon) der Ganglienkette parallel zur ventralen Längsmuskulatur (MvLm). Links sind zwei Äste der longitudinalen Ventralmuskulatur (GvSw) zu sehen. Anterior von ihnen ziehen zwei Muskel (MLig) von median nach posterior lateral; die sie innervierenden Nerven sind bruchstückhaft vorhanden (Nmuskel). [B] Ausschnitt aus [A] mit dem einen Muskel MLig, der das Ligament mit der Kutikula verbindet. [C] Gleiche Lage im Tier wie in [A], nur Ansicht von ventral (Kutikula entfernt, sowie die Rückenmuskulatur). Median liegt das Leuchtorgan (teilweise mit von der Kutikula stammenden anhaftenden Gewebe bedeckt), unter ihm liegt das Ganglion. Links ist der Ursprung der beiden Ligamentmuskeln zu sehen: sie vereinigen sich ventral des Konnektivs und laufen nach anterior aus. [D] Ausschnitt aus [C]. Ganz rechts ist der anteriore Teil des Leuchtorgans zu sehen. Anterior dazu sind das Subneuralgefäß (SNG) mit der sich aufspaltenden Abzweigung zum Leuchtorgan (LOArt) und die paarigen anterioren Ligamentverbindungen (LaLo) zum Leuchtorgan zu sehen. Größenmarker: A 250 µm, B 100 μm, C 50μm, D 200μm.

MLig

Die laterale Seite ist wesentlich komplexer aufgebaut. Neben dem schon genannten Blutgefäß und dem Leuchtnerv kommen ein wesentlich komplizierter aufgebautes Ligament, ein Apodem sowie ein Muskel mit zwei Armen (bzw. zwei Muskeln) dazu. Das Ligament ist nicht nur in einer dünnen Schicht, sondern großflächig mit dem Leuchtorgan verbunden. Es läuft

- 116 - Ergebnisse

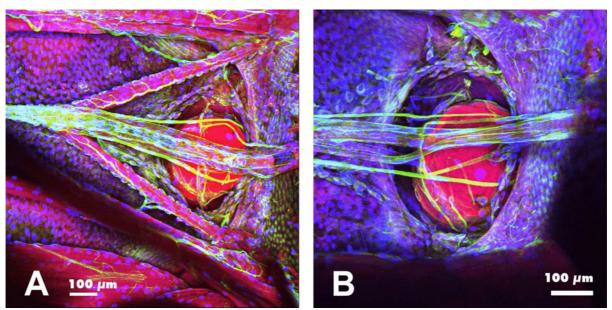


Abbildung 52. Konfokale Aufnahmen abdominaler Leuchtorgane in situ. Blockpräparate wurden mit Antikörpern gegen Tubulin (grüne Färbung), einer Zellkernfärbung (Hoechst, blaue Färbung) und Phalloidin (zusammen mit Autofluoreszenz, rote Färbung) inkubiert. [A] Erstes abdominales Segment. Blick von dorsal auf das Leuchtorgan in der Kutikularausbuchtung, Ganglienkette und dorsale Muskulatur wurde entfernt. Die zwei Muskel und die sie innervierenden Nerven sowie das Ligamentsystem sind gut zu erkennen. Das Blutgefäßsystem ist nur sehr schwach gefärbt. [B] Zweites abdominales Segment. Präparation wie in [A]. Größenmarker: A 100 μm, B 100 μm.

brückenbogenartig zur Kutikula (bzw. der Kutikula anhaftendem (Binde?-)Gewebe) und ist dort relativ fest verankert.

Durch die Aussparung des brückenbogenartig geschwungenen Ligaments verläuft ein uförmiger Muskel [bzw. zwei Muskel bilden, anterior miteinander verbunden, eine u-förmige Struktur]. Diese Muskeln sind an den posterioren Enden fest mit der Kutikula bzw. Bestandteilen des Endoskeletts verbunden. Zusätzlich tritt eine weitere Struktur von unten an den Brückenbogen heran. Rasterelektronenmikroskopisch lässt diese sich nicht von den beiden Muskel unterscheiden, so dass ein Eindruck einer y-förmigen Struktur entsteht. Die weitergehende Histologie zeigt aber, dass es sich hierbei um eine von einer relativ dicken Zellschicht umgebene Einstülpung der Kutikula, einem Apodem, handelt. Dieses ist fest mit den Muskeln und dem Ligament verbunden.

Der das Gefäß und den Nerv enthaltende Strang tritt auf der Dorsalseite, dem Brückenbogen gegenüberliegend, in das Ligament ein.

Ergebnisse - 117 -

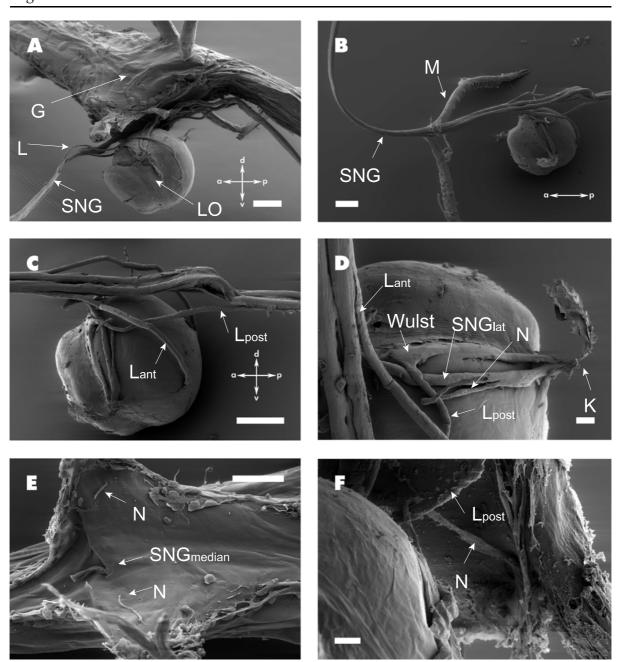


Abbildung 53. Leuchtorgane in den abdominalen Segmenten. [A] Laterale Ansicht eines abdominalen Leuchtorgans (LO). Das Leuchtorgan liegt zwischen den ventralen Wurzeln (hier entfernt) es segmentalen Ganglions (G). Das Subneuralgefäß (SNG) und das abdominale Ligamentsystem (L) laufen zwischen Leuchtorgan und Ganglienkette. [B] Leuchtorgan des ersten abdominalen Segments, dorsolaterale Ansicht. Das Subneuralgefäß trifft die beiden seitlich nach posterior ziehenden Ligamentmuskeln (M) und verdickt sich, da es von Ligamentgewebe umgeben wird. Eine Reihe von dünnen Verbindungen zwischen dem Blutgefäß-Ligament-System und dem Leuchtorgan sind zu sehen. [C] Ausschnitt aus [B]. Seitliche Ansicht des ersten abdominalen Leuchtorgans. Von den paarigen Ligamenten entspringen insgesamt vier symmetrische Seitenarme, von anterior (Lant) bzw. posterior (Lpost) zum Leuchtorgan verlaufend. [D] Ansicht von dorsal auf das Leuchtorgan, anteriore rechte Seite. Links im Bild ist das Gefäß-Ligament-System sichtbar, von dem sich das vordere Ligament (Lant) abspaltet. Daneben liegt das posteriore Ligament (Lpost; an einem Wulst am LO endend), um welches der Leuchtnerv (N) herum gewunden ist.

(Fortsetzung der Legende auf der folgenden Seite)

- 118 - Ergebnisse

3.1.2 Leuchtorgane der Abdominalsegmente

Die Leuchtorgane der Abdominalsegmente sind in ventralen, median gelegenen Ausbuchtungen der Pleosternite lokalisiert (Abbildung 50, 52 [B], 56 [V]). Präpariert man die dorsal gelegene Rückenmuskulatur samt Kutikula weg und blickt von dorsal auf die Ganglienkette (Abbildung 51 [A]), sieht man, dass die Leuchtorgane direkt ventral der abdominalen Ganglien liegen und die ventralen Seitenwurzeln lateral an den Leuchtorganen vorbei in die Pleopoden ziehen (Abbildung 53 [A], 55 [A], 56 [R]).

Die Leuchtorgane sind lateral fest mit der Kutikula verbunden, und zwar über zwei kurze, dünne Ligamente (Abbildung 53 [D], 55 [B], 56 [O], 57 [E]), die auf einer Achse liegen. In einer Azanfärbung von Gefrierschnitten färben sie sich dunkelblau (Abbildung 57 [E]). Zwischen den Leuchtorganen und der ventraler Ganglienoberfläche verläuft das Subneuralgefäß (SNG; Abbildungen 53 [A], [C], 56 [X], 59 [A]). Dieses entsendet in den ersten drei Abdominalsegmenten zwei Seitenäste zu den Lateralseiten der Leuchtorgane (Abbildungen 51 [D], 53 [C], [D], [M], 55 [C], 56 [K]-[O]) und endet im vierten Segment, indem es in die zwei Seitenäste zum Leuchtorgan ausläuft. Sie treten von posterior an die Anbindungsstelle der Leuchtorgane an die Kutikula heran (Abbildung 53 [D]) und treten dann in einem Winkel von ca. 80° in das Leuchtorgan ein (Abbildung 56 [N], [O]).

Desweiteren entsendet das SNG in allen vier Abdominalsegmenten mit Leuchtorgan einen unpaaren Ast zum Ganglion, in welches dieser Ast median auf der Längsachse eintritt (Abbildung 53 [E], 54 [A], [B], 56 [K], 66 [F]).

Zusammen mit den Seitenästen des SNG treten pro Leuchtorgan zwei Leuchtnerven in die Leuchtorgane ein. Diese kommen von der Ventralseite des segmentalen Ganglions und treten aus diesem im Bereich des Übergangs zur ventralen Seitenwurzel heraus (Abbildung 53 [E], [F], 56 [Q]). Sie laufen frei durch den Hämolymphraum, schlagen einen Haken um das

Fortsetzung Abbildung 53: Dieser vereinigt sich mit dem seitlichen Ast, welcher vom Subneuralgefäß kommt. Rechts ist die (abgerissene) Verbindung zur seitlichen Befestigung des Leuchtorgans an der Kutikula (K) sichtbar. Die median liegende anteriore Öffnung des Leuchtorgans ist sichtbar (Oa). [E] Ansicht der ventralen Ganglionoberfläche. Die Enden der (abgerissenen) Leuchtnerven (N) sind sichtbar, ebenso der Anschluss des unpaaren Gefäßes, welches vom Subneuralgefäß zum Ganglion verläuft (SNGmedian). [F] Blick in den Raum zwischen Leuchtorgan und ventraler Ganglionwurzel. Der Leuchtnerv N, vom Leuchtorgan kommend, wird vom posterioren Ligament (Lpost) umgelenkt und inseriert in die Seitenwurzel. Größenmarker: A 100 μm, B 100 μm, C 100 μm, D 20 μm, E 100 μm, F 20 μm.

Ergebnisse - 119 -

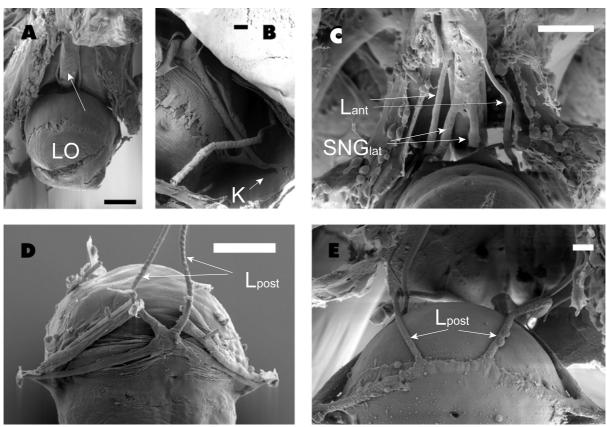


Abbildung 54. Abdominale Leuchtorgane, Details. [A] Ansicht (von anterior) eines abdominalen Leuchtorgans (LO) (Segment 2 und 3) in natürlicher Lage ventral vom Ganglion. Leuchtorgan und Ganglion berühren sich fast; das Blutgefäß-Ligament-System (Pfeil) ist dazwischen eingeklemmt. Der Riss im Leuchtorgan markiert den Bereich der Linse. [B] Ansicht (von anterior) auf ein abdominales Leuchtorgan. Hier ist die seitliche Befestigung, durch welche die Rotationsachse des Leuchtorgans verläuft, sichtbar (K). [C] Blick auf den Bereich zwischen Leuchtorgan und Subneuralgefäß im ersten abdominalen Segment. [D] und [E] zeigen den Anschluss vom posterioren Seitenligament an das Leuchtorgan. Die Größe und Form variieren - nach posterior nimmt die Größe ab, und die Anschlusspunkte wandern weiter auseinander. Größenmarker: A 100 μm, B 20 μm, C 100 μm, D 100 μm, E 100 μm.

posteriore Seitenligament (Abbildung 53 [C], [D], [F], 56 [R], [S]), und treten an die Seitenarme des Subneuralgefäßes heran (Abbildung 53 [D]), mit denen sie oberflächlich betrachtet einen einheitlichen Strang bilden. Die zwei Nervenfasern im Nerv (Abbildung 59 [F]) treten dann zusammen mit dem Gefäß in das Leuchtorgan ein (Abbildung 56 [O]).

Vom anterioren Ende des ersten Abdominalsegments wird das SNG von einem Ligamentsystem begleitet. Dieses färbt sich in einer Azanfärbung von Gefrierschnitten dunkelblau (Abbildung 57 [A]-[D], [F]), eine Inkubation von Gefrierschnitten mit CY3-markiertem Phalloidin führt zu einem starken Signal (Abbildung 58 [A]). Im elektronenmikroskopischen Bild weist es im Querschnitt eine homogene, eventuell leicht körnige Struktur auf (Abbildung 59 [B], [C]). Randständig unterhalb der es umgebenden

- 120 - Ergebnisse

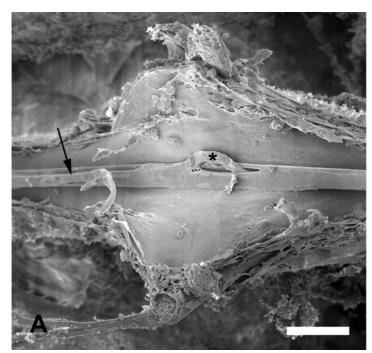




Abbildung 55. Verbindung des Subneuralgefäßes zum Ganglion. Blick von ventral auf die Ventralseite eines segmentalen Ganglions (links rostral, rechts caudal). [A] Das Subneuralgefäß verläuft zwischen Leuchtorgan und Ligament (wegpräpariert) und Ganglion (unscharf im Hintergrund: Dorsalmuskulatur). Zu Beginn des Ganglions lösen sich zwei Seitenäste (Pfeil) vom Blutgefäß, die zum Leuchtorgan laufen (hier: abgetrennt). In der Mitte des Ganglions löst sich ein weiterer (unpaarer) Seitenast (*), der durch eine Aufspaltung innerhalb des Blutgefäßes nach dorsal in einer Schlaufe (nicht sichtbar) zum Ganglion läuft und dort [B] median eintritt (Pfeil). In [B] sind auch die zwei Leuchtnerven, die lateral von der Ventralfläche des Ganglions (median von den Seitenwurzeln) austreten sichtbar (*).

Membran ist eine Reihe von globulären Strukturen angeordnet (Abbildung 59 [C]). Im Schräganschnitt sind im elektronenmikroskopischen Bild längliche Strukturelemente erkennbar (Abbildung 59 [D]).

Zu Beginn des ersten Abdominalsegments lagert sich das Ligamentsystem auf der Ventralseite des Subneuralgefäßes dünn auf (Abbildung 56 [B], [C]), verdickt dann zunehmend, bis es das SNG halb umhüllt (Abbildung 56 [D], [E]). Dann teilt sich das Ligament in zwei Hauptstränge auf (Abbildung 47 [G], 59 [B]), welche durch die Segmente 1-4 hindurch laufen. Posterior des vierten Leuchtorgans verdicken sie (Abbildung 63 [A], [B]) und ziehen um die Ganglienkette nach dorsal (Abbildung 63 [A], 64 [A]-[F]). Dort reichen sie weiter ins fünfte Segment, wobei sie sich immer mehr verdünnen und sich der Medianlinie der dorsalen Rückenmuskulatur annähern (Abbildung 64 [G], [H]). Sie treten schließlich auf der Medianlinie zwischen die dorsalen Muskelgruppen, wo sie sich verlieren (Abbildung 64 [I], [J]).

Ergebnisse - 121 -

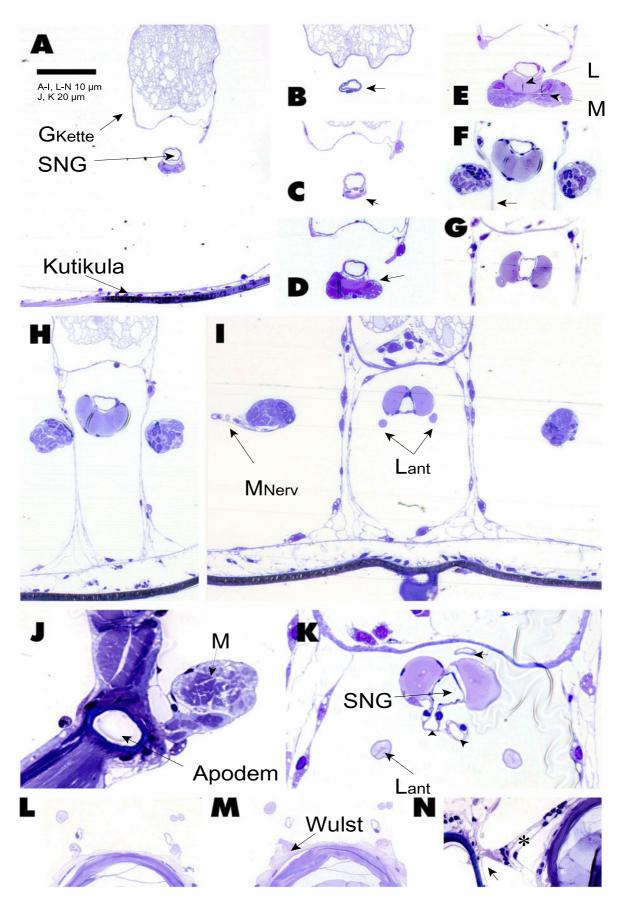


Abbildung 56 (Tafel I). Detailansichten einer Semidünnschnittserie (von anterior nach posterior verlaufend) des ersten abdominalen Segments.

(Legende auf der folgenden Seite)

- 122 - Ergebnisse

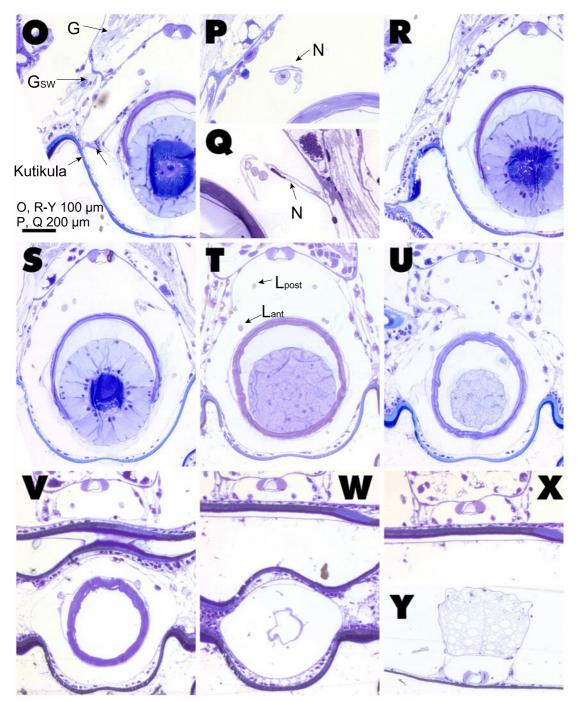


Abbildung 56 (Tafel 2). Detailansichten einer Semidünnschnittserie (von anterior nach posterior verlaufend) des ersten abdominalen Segments. [A] Übersicht: zu Beginn des Segments verläuft das Subneuralgefäß (SNG) frei in der Hämolymphe zwischen Ganglienkette (GKette) und Kutikula. [B] Zunächst ist das SNG sehr klein und dünn (Pfeil), [C] dann beginnen sich Strukturen zu bilden (Pfeil), die mit dem Blutgefäß verbunden zu sein scheinen und zunehmend an Durchmesser gewinnen: [D], [E], [F] ein Ligament (L; sehnenartiges Bindegewebe) sowie zwei Muskel (M). Die Muskel lösen sich ab und verlaufen symmetrisch beiderseits nach lateral. Eine Bindegewebshülle (Pfeil in [F]) beginnt, von der Ganglienkette kommend, zwischen Ligament und Muskeln entlang zu ziehen. Das Ligament umschließt anfangs das Blutgefäß, um sich dann [G] in zwei Teile zu teilen, die lateral des SNG liegen. (Fortsetzung der Legende auf der folgenden Seite)

Ergebnisse - 123 -

Von diesen beiden Hauptligamentsträngen gehen pro Segment jeweils zwei Seitenstränge zu den Leuchtorganen, und zwar immer einer von anterior nach posterior und ein weiterer von posterior nach anterior (Abbildung 51 [D], 52 [B], 53 [C], 55 [C]-[E], 56 [I]-[X], 58 [B]- [C], 63 [A]). Die von anterior an das Leuchtorgan herantretenden Seitenstränge ziehen die Leuchtorgane herum zur ventralen Seite und sind dort mit fingerartig zerfaserten Verstärkungen im Leuchtorgan verankert (Abbildung 53 [C], 58 [B], [C]). Die von posterior an die Leuchtorgane herantretenden Seitenstränge des Ligamentsystems verlaufen median der anterioren Seitenstränge und enden an leichten, dreieckigen Verbreiterungen eines Wulstes, der dorsal von den seitlichen Halterungen des Leuchtorgans halb um das ganze Organ von einer Seite zur anderen zieht (Abbildung 53 [C], [D], 56 [M], 57 [B]). Dabei nimmt die Mächtigkeit des Wulstes nach caudal hin ab (Abbildung 55 [D], [E]).

Abbildung 56 (Fortsetzung). Von jedem der beiden Ligamenthauptsträngen teilt sich ein Nebenstrang ab. Diese beiden Nebenstränge ziehen nach ventral posterior. [H] Ubersicht, welche die Lage der Ganglienkette, der SNG, des Ligaments, der Bindegewebshülle sowie der lateralen Muskeln auf Höhe der Schnittposition von [F] zeigen. [I] Übersicht, nachdem sich die beiden (anterioren) Nebenstränge des Ligamentsystems vollständig von den Hauptsträngen gelöst haben. MNerv Der den Muskel innervierende Nerv im Anschnitt. [J] Die beiden Muskeln (M) enden lateral an Apodemen. [K] Vom SNG lösen sich drei Seitenäste; zwei ziehen nach ventral, einer nach dorsal zum Ganglion (Pfeilköpfe). [L], [M] Die anterioren Ligamentseitenäste sowie die beiden ventralen Seitenäste des SNG verlaufen zunächst parallel zum Leuchtorgan. Die Blutgefäße knicken dann nach ventral ab, die Ligamente laufen weiter frei im Raum. An der Stelle, an der die Blutgefäße abknicken, bilden sich dicke Wülste auf der Oberfläche des Leuchtorgans, die aus einem ähnlichen Material wie die Ligamente bestehen, und an denen zwei weitere Ligamentseitenäste enden, die von posterior kommen. Die scheinbare Aufspaltung des linken Ligaments ist ein Artefakt dieser Schnittserie. [N] Die Blutgefäße verlaufen bogenförmig um die Seiten der Leuchtorgane und treten dann seitlich gemeinsam mit den Leuchtnerven in diese ein (*). An der gleichen Stelle sind die Leuchtorgane über Bindegewebe mit der Kutikula verbunden (Pfeil). [O] Ubersicht, auf der die ventrale Seite des Ganglions zu sehen ist sowie die linke Anheftungsstelle des Leuchtorgans an die Kutikula (Pfeil). Die mittlerweile etwas verschlankten Hauptäste des Ligamentsystems schmiegen sich zusammen mit dem SNG an die Ventralseite des Ganglions (G). Die ventralen Seitenwurzeln des Ganglions (Gsw) verlaufen lateral des Leuchtorgans. [P] Anschnitt des linken und [Q] Anschnitt des rechten Leuchtnerven, Vergrößerungen aus [R] und [S]. Die beiden Leuchtnerven ziehen, von den Seitenwurzeln des Ganglions kommend, durch die Hämolymphe und "knicken" um die beiden (nach anterior bzw. posterior ziehenden) Ligamente herum ab zu den Seiten des Leuchtorgans und treten zusammen mit den Blutgefäßen in das Leuchtorgan ein (siehe [O]). [R], [S] Übersichten über die linke bzw. rechte Seite an der Stelle, wo die Leuchtnerven um die Ligamente herum gehen. [T],[U] Die anterioren Ligamentseitenäste (Lant) nähern sich weiter dem Leuchtorgan an, während die posterioren Ligamentseitenäste (Lpost) nach dorsal wandern. [V], [W], [X] Die anterioren Ligamentseitenäste fusionieren mit der Rückseite des Leuchtorgans, die posterioren nähern sich den Ligamenthauptästen an und fusionieren schließlich mit diesen. Die kutikuläre Ausbuchtung des Pleosternit endet kurz hinter dem Ende des Leuchtorgans. [Y] Das Konnektiv zum zweiten Segment und das SNG mit den beiden lateral liegenden Ligamenten liegen dicht an der Kutikula.

- 124 - Ergebnisse

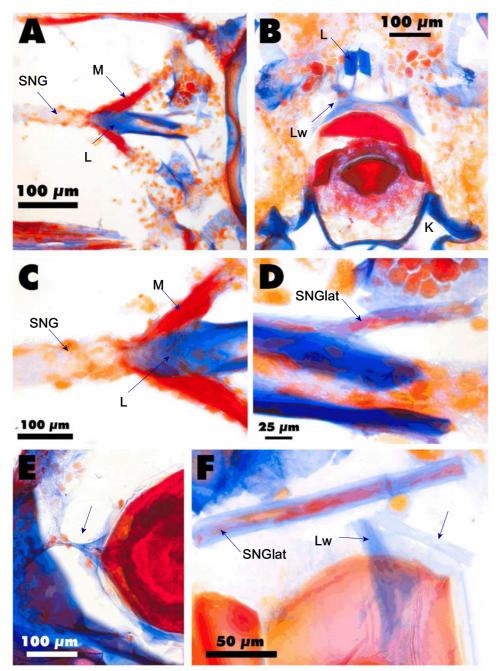


Abbildung 57. Abdominale Leuchtorgane. Kryoschnitte (50 µm Dicke) mit Azanfärbung. Die Azanfärbung färbt in diesen Schnitten generell Sehnen und Bindegewebe blau, Muskel rot, Blutgefäße leicht durchsichtig-orange. [A] Übersicht. Erstes abdominales Segment. Ventralansicht, links anterior, rechts posterior. In der Mitte ist die Fusion von Subneuralgefäß (SNG), den beiden Muskeln (M) und den Ligamenten (L) zu sehen. [B] Horizontalschnitt durch das erste abdominale Leuchtorgan (teilweise zerrissen) mit der blau gefärbten Kutikula (K) und dem orange gefärbten Nervengewebe des Ganglions und seiner ventralen Wurzeln. Die beiden Hauptäste des Ligamentsystems sind dunkelblau gefärbt (L), die Wülste des Ligamentsystems am Leuchtorgan hellblau (Lw), ebenso die Ligamentseitenäste. Die Blutgefäße sind schwach orange gefärbt. [C] Die Fusion von SNG, Ligament und Muskeln (Detailsvergrößerung aus [A]). [D] Die zum Leuchtorgan ziehenden Blutgefäße (SNGlat) sind leicht blau gefärbt mit einem rot-orangen Innenbereich (Detailsvergrößerung aus [A]). [E] Schnitt, der die laterale Anheftung des Leuchtorgans an der Kutikula zeigt (Pfeil). [F] Blutgefäß (Strang mit blauer Hülle und rotem Inneren), Wulst im Anschnitt (Lw; blau) und Nebenäste der Ligamente (Pfeil; schwach blau).

Ergebnisse - 125 -

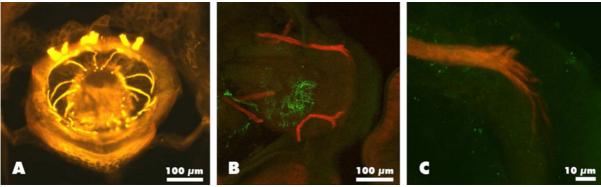


Abbildung 58. Fluoreszenzmarkierte Kryoschnitte. [A] Fluoreszenzaufnahme eines Kryoschnitts (50 µm Dicke) eines abdominalen Leuchtorgans, Horizontalschnitt. Phalloidinfärbung (Cy3-markiert). Dorsal des Leuchtorgans sind sechs stark gefärbte Strukturen erkennbar, bei denen es sich um die Anschnitte der zwei Leuchtorganarterien sowie die Anschnitte der vier Ligamentseitenäste handelt. Im Inneren des Leuchtorgans sind die (mutmaßlichen) Blutgefäße markiert, die an der inneren Lakune enden. [B] Konfokalaufnahme eines transversal geführten Kryoschnittes (100 µm Dicke) mit Doppelfärbung Phalloidin (rot) und Serotonin (Cy2-Sekundärantikörper). Die Phalloidinfärbung zeigt eine Markierung der abdominalen Ligamentseitenäste sowie der Leuchtorganarterien. Die Antikörperfärbung gegen Serotonin zeigt 5HT-Immunreaktivität im Inneren des Leuchtorgans sowie im Leuchtnerv. Letzterer ist gut erkennbar durch die Form (im Bogen um die Ligamentseitenäste herumgeführt). [C] Detailaufnahme der Endung des anterioren Ligamentseitenastes auf der Hinterseite des Leuchtorgans. Es ist eine fingerförmige Auffächerung erkennbar, die vermutlich zur Verankerung des Ligaments im Leuchtorgan dient.

Die Ligamentseitenäste färben sich in der Azanfärbung von Gefrierschnitten etwas anders als die Hauptäste (Abbildung 57 [D], [F]) und auch elektronenmikroskopisch weisen sie eine andere Struktur auf (Abbildung 59 [E]). In Semidünnschnitten hingegen erscheinen sie mit einer den Hauptsträngen sehr ähnlichen Struktur (Abbildung 56 [K]).

Im ersten Abdominalsegment treten zwei Muskel an das SNG heran (Abbildung 51 [B], [C], 52 [A], 53 [B], 57 [A], [C]). In einem Gefrierschnitt mit Azanfärbung sind sie stark rot gefärbt (Abbildung 57 [A], [C]). Sie sind lateral posterior fest mit der Kutikula verbunden (Abbildung 51 [B], 52 [A], 56 [J]) und laufen horizontal nach median anterior. Dort sind sie fest mit dem Ligament verbunden, welches selbst wiederum fest mit dem SNG verbunden ist (Abbildung 56 [D], [E]). Sie treffen in einem Winkel von ungefähr 70-80° aufeinander mit einer nach anterior zeigenden Spitze; sie bilden so eine Struktur, die einem gleichschenkligen Dreieck ähnelt (Abbildung 51 [C], 52 [A]). Innerviert werden sie durch jeweils einen Nerv, der durch den Hämolymphraum zur Mitte der Muskel läuft (Abbildung 51 [C], 52 [A], 56 [I]).

- 126 - Ergebnisse

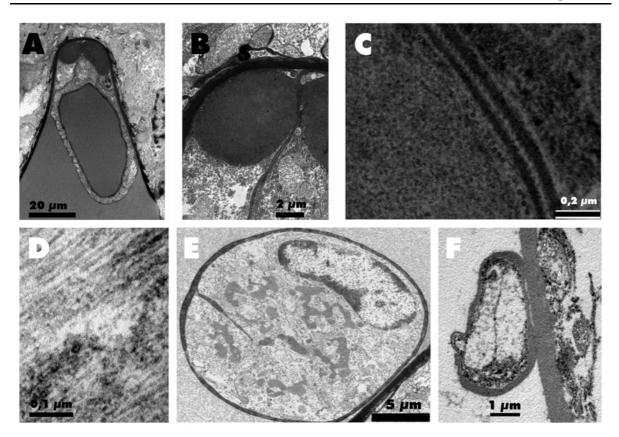


Abbildung 59. Elektronenmikroskopische Aufnahmen des Subneuralgefäßes, der Ligamente und der Leuchtnerven im Abdomen. [A] SNG mit den beiden dorsal davon liegenden Ligamenthauptästen, ventral des Ganglion liegend. [B] Detailvergrößerung des linken Ligaments aus [A]. [C] Detailvergrößerung des Übergangs zwischen den beiden Ligamenthauptarmen (Detailvergrößerung aus [B]). Die Hauptäste der Ligamente besitzen im Inneren eine körnige Struktur. [D] Schräganschnitt des Hauptligaments, welcher längliche Strukturen im Inneren des Ligaments zeigt. [E] Horizontalschnitt durch ein Nebenligament. Die Nebenligamente besitzen eine andere Struktur als die Hauptstränge. [F] Horizontalschnitt durch den Leuchtnerv (dem Leuchtorgan aufliegend). Er scheint aus zwei Axonen zu bestehen und von einer kräftigen Bindegewebshülle umgeben zu sein.

Aus den Daten der Semidünnschnittserien wurde, zusammen mit den Detailinformationen aus den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen, sowie der Informationen aus den verschiedenen Färbungen von Gewebeschnitten, eine 3D-Rekonstruktion des ersten abdominalen Leuchtorgans und der es umgebenden Strukturen erstellt. Außerdem wurde eine (grobe) Rekonstruktion des thorakalen Blutgefäßsystems erstellt, um den Verlauf und die Struktur des Subneuralgefäßes anterior vom ersten abdominalen Segment zu dokumentieren.

Die Morphologie des ersten abdominalen Leuchtorgans und seiner Umgebung stellt sich aus der 3D-Rekonstruktion wie folgt dar. Es ist in einer Ausbuchtung der Kutikula des Pleosterniten untergebracht (Abbildung 60 [C]-[E]). Auf den Lateralseiten ist es über dünne

Ergebnisse - 127 -

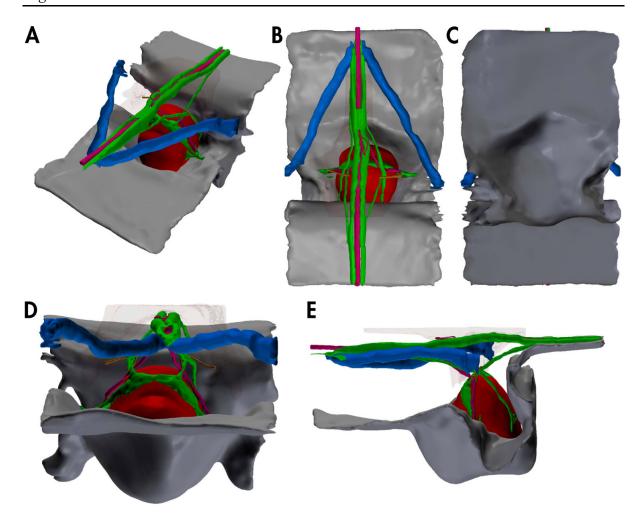


Abbildung 60. Das Leuchtorgan des ersten abdominalen Segments. 3D-Rekonstruktion aus einer Semidünnschnittserie (Teil I). Verschiedene Ansichten des erstellten 3D-Modells. Grau: Kutikula. Blau: Anteriore Muskelgruppe. Grün: Ligamentsystem. Dunkelrot: Leuchtorgan. Bordeauxrot: Blutgefäßsystem. Orangebraun: Leuchtnerven. Braun (transparent): Ventraler Anschnitt des segmentalen Ganglions bzw. der ventralen Wurzeln und der Konnektive. [A] Übersicht von anterior lateral leicht dorsal. [B] Dorsalansicht (posterior oben). [C] Ventralansicht (poserior oben). [D] Frontalansicht. [E] Lateralansicht (anterior links, posterior rechts, dorsal oben, ventral unten). (In der PDF-Version dieser Arbeit läßt sich über einen Doppelklick auf diese Abbildung bei Verwendung eines Adobe Acrobat Readers Version 8 oder höher die 3D-Funktion aktivieren.)

Ligamente fest mit der Kutikula verbunden (Abbildung 61 [C]). Zwischen den beiden Verbindungen zur Kutikula verläuft auf der Dorsalseite des Leuchtorgans ein dicker Wulst aus dem gleichen amorphen, bindegewebartigen Material, aus dem das Ligamentsystem besteht (Abbildung 61 [C]). Das in zwei, anteroposterior verlaufende Hauptstränge unterteilte Ligament (Abbildung 60 [A], [B]) entsendet vier Seitenligamentstränge zum Leuchtorgan (Abbildung 61 [A]). Zwei anteriore Seitenstränge laufen um das Leuchtorgan herum zum hinteren Pol und binden dort fest an die Oberfläche des Leuchtorgans. Die zwei posterioren Stränge laufen median der zwei anderen Stränge zum Wulst und verbinden sich fest mit diesem

- 128 - Ergebnisse

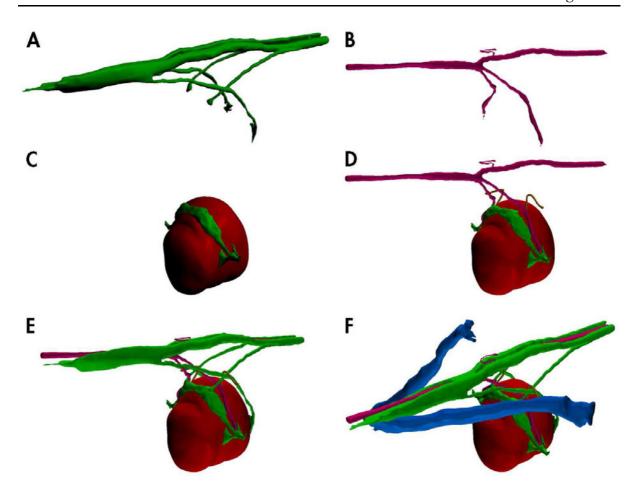


Abbildung 61. Das Leuchtorgan des ersten abdominalen Segments. **3D-Rekonstruktion aus einer Semidünnschnittserie (Teil 2).** Verschiedene Ansichten von Teilaspekten des erstellten 3D-Modells zur Verdeutlichung der Morphologie und der Lage der einzelnen Strukturen, die mit der Bewegung der Leuchtorgane zu tun haben könnten. Die Perspektive ist immer von einem lateral-anterioren Punkt aus erstellt. [A] Das Ligamentsystem besteht aus zwei anterior-posterior ziehenden kräftigeren Strängen, von denen segmental jeweils vier Seitenstränge abgehen und zum segmentalen Leuchtorgan laufen: zwei von anterior, zwei von posterior, wobei die Stränge sich kreuzen und die posterioren median von den anterioren verlaufen. [B] Das Blutgefäßsystem besteht aus dem posterioren Teil des Subneuralgefäßes, von dem segmental zwei Seitenarme zum Leuchtorgan verlaufen sowie ein unpaares Gefäß median in die Ventralseite des Ganglions eintritt. [C] Das Leuchtorgan wird lateral durch zwei Ligamente an der Kutikula befestigt. Zwischen diesen beiden Ligamenten verläuft ein mehr oder weniger dicker Wulst, der fest mit dem Leuchtorgan verbunden ist, zwischen diesen zwei Ligamenten dorsal um das Leuchtorgan herum (fest mit dessen Oberfläche verbunden). [D] Die zwei Leuchtorganarterien ziehen posterior des Wulstes zu den Seiten des Leuchtorgans und treten auf der Rotationsachse des Organs in dessen Inneres ein. Vorher verbinden sich die zwei Leuchtnerven, die von den ventralen Seiten des Ganglions im Bereich des Überganges zu den Ventralen Ganglionwurzeln austreten, mit den Blutgefäßen, so dass sie in einem gemeinsamen Strang verlaufen. [E] Die anterioren Seitenstränge des Ligamentsystems nehmen über die posterior-ventrale Hinterseite des Leuchtorgans direkt mit der Oberfläche des Leuchtorgans Kontakt auf. Die posterioren Seitenstränge laufen zum dorsalen Wulst des Leuchtorgans und verbinden sich lateral mit diesem. [F] Zwei nach lateral-posterior zur Kutikula ziehende Muskeln treten anterior des ersten Leuchtorgans an das Ligamentsystem heran.

Ergebnisse - 129 -

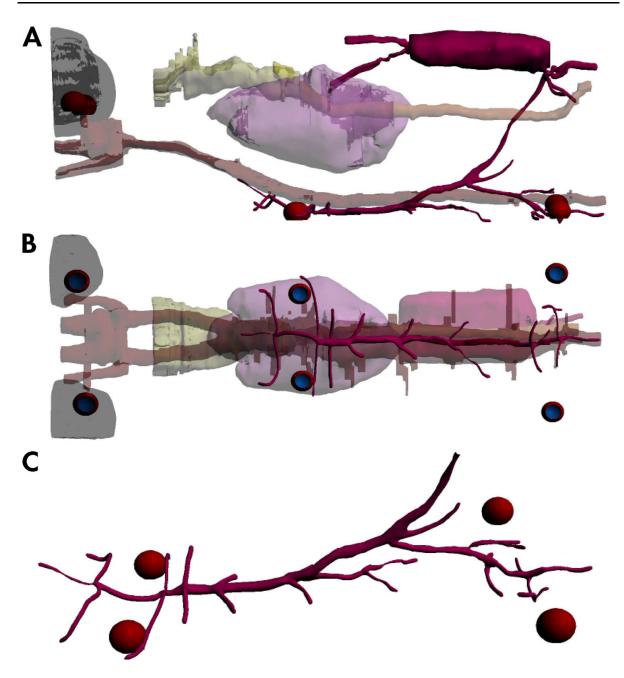
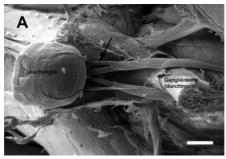


Abbildung 62. Der Thoraxbereich in einer 3D-Rekonstruktion, die aus einer Semidünnschnittserie erstellt wurde. Berücksichtig wurden Blutgefäßsystem (bordeauxrot), Nervensystem (braun, transparent), Augenkapseln im Anschnitt (schwarz, transparent), Mitteldarmdrüse (lila, transparent), ventraler Teil des Magens (gelb, transparent) sowie der Darm (hellbraun, transparent). Die abgebildeten Leuchtorgane sind zur Symbolisierung der realen Lage im Tier künstlich hinzugefügt worden. [A] Lateralansicht. Die vom posterioren Teil des Herzens kommende Arterie spaltet sich dorsal der Ganglienkette in zwei Arme auf, die zwischen den Konnektiven anterior des sechsten bzw. posterior des siebten thorakalen Ganglions median durch die Ganglienkette durchtreten. [B] Ventralansicht. [C] Das ventrale Blutgefäßsystem mit anteriorem und posteriorem Ast des Subneuralgefäßes sowie der 8 segmentalen paarigen Seitenarme. Ein Zug am posterioren Arm des Subneuralgefäßes könnte sowohl durch den scharfen Knick bei der Abzweigung dorsal der Ganglienkette als auch durch die Seitenäste in den Segmenten 7 und 8 aufgefangen werden. (In der PDF-Version dieser Arbeit läßt sich über einen Doppelklick auf diese Abbildung bei Verwendung eines Adobe Acrobat Readers Version 8 oder höher die 3D-Funktion aktivieren.)

- 130 - Ergebnisse



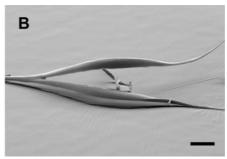


Abbildung 63. Ligamentsystem im vierten und fünften Abdominalsegment. [A] Ansicht von ventral mit freipräpariertem Leuchtorgan und dorsal davon liegender Ganglienkette, die durchtrennt wurde. Das durch das Abdomen verlaufende Ligamentsystem entsendet auch im vierten Segment vier Stränge zum Leuchtorgan (die zwei posterioren davon sind sichtbar, einer ist mit einem Pfeil markiert). Anders als in den drei anderen Segmenten teilt sich das Ligament hier in zwei verdickte Stränge auf, die um die Ganglienkette nach dorsal greifen und weiter bis ins sechste Segment laufen. [B] Freipräpariertes Ligamentsystem des vierten Abdominalsegments, Dorsalansicht; bis auf ein kurzes Ende sind die vier zum Leuchtorgan verlaufenden Ligamentstränge bei der Präparation abgerissen. Größenmarker: jeweils 100 µm.

(Abbildung 61 [A]). Das Subneuralgefäß entsendet im ersten abdominalen Segment drei Seitenäste: zwei laufen zu den Seiten des Leuchtorgans, wo sie mit dem Wulst verschmelzen; ein unpaarer Seitenast läuft zur Ventralseite des Ganglions. Von den ventralen Seitenwurzeln des Ganglion kommend, verlaufen zwei laterale Leuchtnerven zum Leuchtorgan, die sich mit den beiden Seitenästen des Subneuralgefäßes treffen. Die beiden Nerven schlagen dabei, von dorsal kommend, einen Bogen um die beiden Ligamentseitenäste, um dann nach ventral zu ziehen (Abbildung 60 [B], [D], 61 [D], [E]). Zwei Muskel ziehen (in Form eines gleichschenkligen Dreiecks), posterior von der Kutikula aus kommend, nach anterior zum Subneuralgefäß und Ligamentsystem (Abbildung 60 [E]), mit denen sie sich fest zu einem Komplex verbinden (Abbildung 60 [A], [B], [D], 61 [F]).

Ergebnisse - 131 -

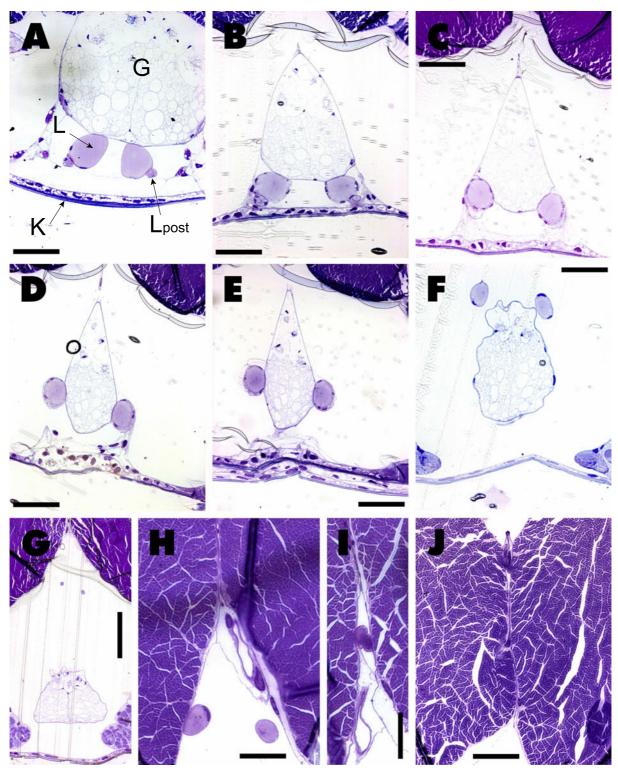


Abbildung 64. Ligamentsystem im vierten und fünften abdominalen Segment. Horizontalschnitte, symmetrisch zur Medianebene, dorsal oben, ventral unten. [A] Die beiden Hauptligamentstränge (L) treffen und fusionieren sich mit den posterioren Ligamenten (Lpost) median unterhalb des segmentalen Ganglions A4 (G). Kutikula (K). [B] Posterior davon wandern die Hauptstränge nach lateral, wo sie teilweise mit Gewebe der Kutikula bzw. Epidermis umhüllt sind ([C], [D]). Dann wandern sie ([E], [F]) an den Seiten des Konnektivs nach dorsal, wobei sie an Durchmesser verlieren. [G] Sie ziehen anschließend nach dorsal und nähern sich an die dorsalen Muskelgruppen an [H], zwischen denen sie median [I] eintreten und weiter posterior nicht mehr nachweisbar sind [J]. Größenmarker: A-G, 100 μm, H und I 50 μm, J 100 μm.

- 132 - Ergebnisse

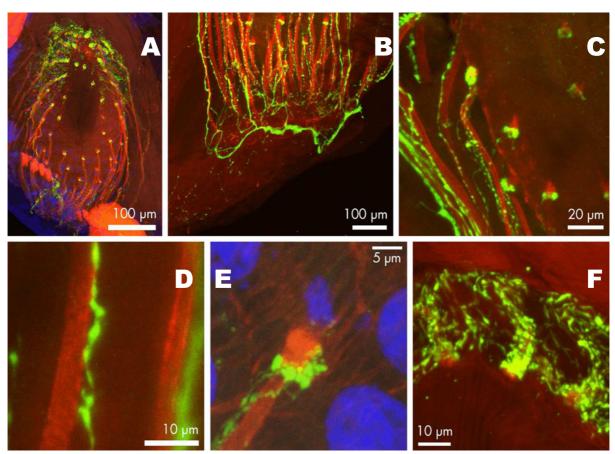


Abbildung 65. Steuerung des Leuchtvorgangs in den Leuchtorganen (Tafel I). [A] Übersicht: Konfokale Aufnahme eines Kryoschnittes des Leuchtorgans im Augenstiel. Dreifachfärbung mit Phalloidin (rot), Serotonin (grün) und Zellkerne (blau). [B] Detail: An der ventralen Basis des Augenleuchtorgans teilen sich ein Blutgefäß (rot) und ein serotonerges Neuron (grün) in eine große Anzahl von Ästen auf, die an den Seiten des Leuchtorgans nach dorsal ziehen. [C] Die Seitenäste knicken in regelmäßigen Abständen ab und enden am zentralen Sinus des Leuchtorgans. [D] Jeweils ein Seitenast des Gefäßes und des Neurons laufen parallel zueinander. [E] Bei den lateral einmündenden Blutgefäßen, die eine Verdickung am Ende aufweisen bzw. von ihr umgeben sind, bildet das Neuron eine Reihe von Synapsen, die einen Kragen unterhalb der Verdickung bilden. [F] Bei den dorsal einmündenden Blutgefäßen, die ebenfalls eine Verdickung am Ende aufweisen, ist neben dem Kragen eine Auffächerung des Neurons um das letzte Stück der Kapillaren festzustellen.

Das (sehr grobe) 3D-Modell des Blutgefäßsystems im Thorax (Abbildung 62 [A]-[C]) zeigt den Verlauf des Subneuralgefäß, bzw. der Arteria abdominalis inferior und ihren Übergang in die Aorta descendens. Das Subneuralgefäß, welches die vier abdominalen Leuchtorgane versorgt, entsendet auch vier Seitenäste in die Thoraxsegmente VII und VIII. Dann zieht es median durch die Konnektive zwischen den Thorakalganglien sieben und acht. Auf der Dorsalseite geht ein unpaarer Ast fast horizontal nach posterior ab; die nun dorsal der Ganglienkette verlaufende Arteria abdominalis inferior läuft selbst ebenfalls fast horizontal nach anterior. Dorsal des sechsten Segments trifft es auf die Aorta descendens, die in einem leichten Bogen vom Herzen kommend in die Arteria sternalis übergeht, welche durch eine

Ergebnisse - 133 -

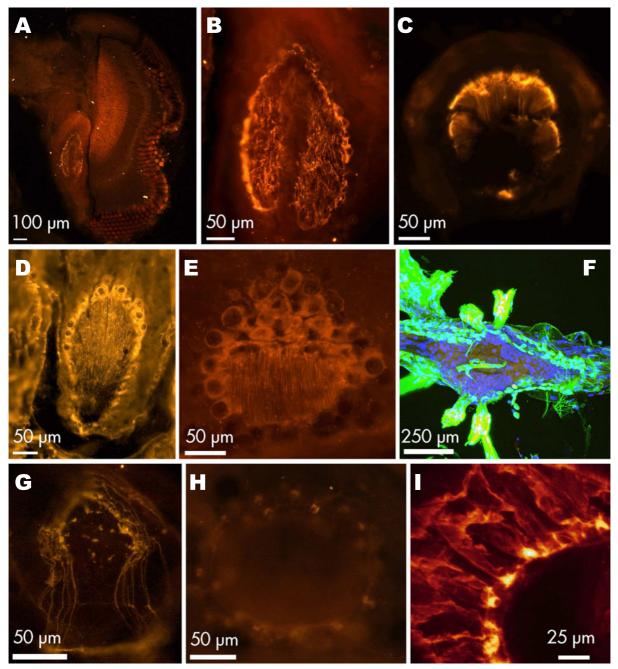


Abbildung 66. Steuerung des Leuchtvorgangs in den Leuchtorganen (Tafel 2). [A] Übersicht: Fluoreszenzaufnahme eines Kryoschnittes vom Auge. Antikörperfärbung gegen einen 5HT-Rezeptor, der in Krebsen vorkommt. Innerhalb des Leuchtorgans ist eine starke Anfärbung vorhanden. [B] Detailvergrößerung (aus [A]) der Färbung gegen 5HTRcrust in einem Augenstiel-Leuchtorgan: anscheinend werden der Streifenkörper und die ihn bildenden Zellen markiert. [C] Detailvergrößerung der Färbung gegen 5HTRcrust in einem abdominalen Leuchtorgan: auch hier sind der Streifenkörper und die ihn bildenden Zellen gefärbt. [D] Antikörperfärbung gegen acetyliertes α-Tubulin. Neben einer starken Anfärbung sehr vieler Strukturen (nicht gezeigt) werden im Augenleuchtorgan der Streifenkörper und die ihn bildenden Zellen stark gefärbt. [E] Antikörperfärbung gegen acetyliertes α-Tubulin. Auch in den abdominalen Leuchtorganen werden der Streifenkörper und die ihn bildenden Zellen stark gefärbt.

(Fortsetzung der Legende auf der folgenden Seite)

- 134 - Ergebnisse

Öffnung in der Ganglienkette, ähnlich wie die Arteria abdominalis inferior, auf die Ventralseite der Ganglienkette zieht. Der Winkel zwischen Arteria abdominalis inferior und Aorta descendens beträgt ungefähr 70°.

3.1.3 Ligamentsystem posterior vom vierten abdominalen Leuchtorgan

Während das Blutgefäßsystem des posterioren Asts des Subneuralgefäßes mit den Zuleitungen zum vierten abdominalen Leuchtorgan und Ganglion endet, verlaufen die Hauptstränge des Ligamentsystems weiter nach posterior bis ins fünfte Abdominalsegment. Posterior vom Leuchtorgan, kurz bevor sich die posterioren Seitenäste des Ligamentsystems mit den beiden Hauptästen vereinigen, beginnen sich die Hauptäste zu verdicken (Abbildung 63 [A], [B]). Sie laufen dann lateral am Konnektiv beidseitig nach dorsal (Abbildung 64 [A]-[F]), wo sie sich wieder verdünnen und weiter nach kaudal bis ins fünfte Segment, eventuell noch weiter nach posterior ziehen (Abbildung 64 [G]-[J]). Die genaue Position, an der die beiden Hauptstränge enden, wurde nicht bestimmt. Die beiden sich verjüngenden Stränge nähern sich der dorsalen Rückenmuskulatur an (Abbildung 64 [H]), treten auf der Medianlinie zwischen die lateralen Muskelgruppen (Abbildung 64 [J]) und vermutlich enden sie dort (Abbildung 64 [J]).

Fortsetzung Abbildung 66. [F] Blockpräparat eines abdominalen Ganglions mit Antikörperfärbung gegen acetyliertes α-Tubulin (grün) und Zellkernmarkierung (Hoechst, blau). Die Wurzeln des Ganglions sind stark eingefärbt, ebenso die zwei Leuchtnerven (Pfeile) und das zum Ganglion verlaufende mediane unpaare Blutgefäß (Pfeilkopf). **[G]** Antikörperfärbung gegen Octopamin zeigt eine Markierung innerhalb der Leuchtorgane, die der des Serotonins ähnelt. **[H]** Fluoreszenzaufnahme eines Kryoschnittes eines abdominalen Leuchtorgans mit Antikörperfärbung gegen Synapsin. Es sind kleine, ovale Strukturen gefärbt, die mit den kragenförmigen Bildungen der serotonergen Neurone identisch sein könnten. **[I]** Konfokalaufnahme eines Kryoschnittes eines abdominalen Leuchtorgans mit Antikörperfärbung (Cy3) gegen Na⁺K⁺-ATPase. Neben einer generellen Einfärbung der Plasmamembranen sind auch hier ovale Strukturen gefärbt, die den kragenförmigen Bildungen der serotonergen Neurone oder den Verdickungen um die Ende der Kapillaren entsprechen könnten.

Ergebnisse - 135 -

3.1.4 Antikörperfärbungen zur Untersuchung der Steuerung des Leuchtvorgangs im Inneren der Leuchtorgane durch das Nervensystem

Zur Untersuchung der Frage, wie das Nervensystem den Leuchtvorgang der Leuchtorgane steuert, wurden sowohl 50 μm dicke Gefrierschnitte, als auch Blockpräparate mit primären Antikörpern und passenden Sekundärantikörpern mit unterschiedlichen Fluorophoren gegen Serotonin (5HT), Serotoninrezeptoren (5HTR_{crust}), acetyliertes α-Tubulin, Octopamin, Synapsin und Na⁺K⁺-ATPase inkubiert. Desweiteren wurden Gefrierschnitte und Blockpräparate mit Cy3-markiertem Phalloidin inkubiert. Zur Unterscheidung ähnlich geformter, aber unterschiedlich gefärbter und daher nicht eindeutig zuordbarer Strukturen wurden gegebenenfalls Doppelfärbungen durchgeführt.

Die Antikörperfärbung gegen Serotonin zeigt im Leuchtorgan des Augenstiels ein verzweigtes Netz von Nervenfasern (Abbildung 65 [A]). Diese verlaufen, von einem oder mehreren basal ins Leuchtorgan eintretenden Axonen aufspaltend (Abbildung 65 [B]), innerhalb des Leuchtorgans von ventral nach dorsal, um im Übergangsbereich zwischen Zellschicht und Streifenkörper bzw. innerer Hämolymphlakune rundliche Strukturen bildend zu enden. Eine Inkubation mit Phalloidin zeigt ein ähnliches Verzweigungsmuster von rundlich-länglichen schlauchartigen Gebilden (Abbildung 65 [A]), die ebenfalls von einer einzelnen (oder einigen wenigen) basal liegenden kräftiger ausgebildeten Struktur abgehen (Abbildung 65 [B]). Hierbei dürfte es sich um die Blutgefäße handeln, wie sie aus der Literatur bekannt sind (Herring und Locket 1978, Petersson 1968). Die Seitenäste laufen parallel ohne weitere Aufspaltungen an den Außenseiten der Lakune von basal Richtung oberem Pol des Leuchtorgans. Dabei enden sie in einem regelmäßigen Muster auf der Oberfläche der Lakune (Abbildung 65 [C]), so dass ihre Anzahl von ventral nach dorsal gehend stetig abnimmt. Die letzten Blutgefäße enden dann am dorsalen Pol der Lakune (Abbildung 65 [F]). Die Endstücke sind immer verdickt (Abbildung 65 [E]).

Paarig mit diesen Blutgefäßen laufen die serotonergen Axonkollateralen: jeweils eine Kollaterale läuft auf der Oberfläche eines Blutgefäßes entlang (Abbildung 65 [D]). Die Doppelfärbung Serotonin/Phalloidin zeigt, dass die serotonergen Nervenfasern an den Seiten der Lakune in einer Art Kranz oder Halskrause basal der Endverdickungen der Blutgefäße enden (Abbildung 65 [E]), wohingegen sie am Pol des Leuchtorgans eher eine Art Netzwerk um das Endstück der Kapillaren bilden.

- 136 - Ergebnisse

Eine Antikörperfärbung gegen Serotoninrezeptoren (5HTR_{crust}) führt in den Leuchtorganen des Augenstiels als auch in denen der abdominalen Leuchtorgane zu Markierungen der den Streifenkörper bildenden Zellsomata sowie des in der Lymphlakune liegenden Streifenkörpers selbst (Abbildung 66 [A]-[C]). Das gleiche Färbungsmuster ergibt eine Inkubation mit Antikörpern gegen acetyliertes α-Tubulin: auch hier werden sowohl der Streifenkörper als auch die ihn bildenden Zellen gefärbt (Abbildung 66 [D], [E]). Der gleiche Antikörper färbt bei Blockpräparaten der Ganglienkette die Nervenzellen abhängig von der Inkubationszeit mehr oder weniger komplett (Abbildung 66 [F]). Dabei werden beschädigte Nervenzellen, die in den Wurzeln verlaufen, besonders schnell markiert. Auch die zu den Leuchtorganen laufenden abdominalen Leuchtnerven und das mediane unpaare Blutgefäß, welches segmental von der Arteria abdominalis inferior zur Ventralseite des Ganglions läuft, werden stark gefärbt (Abbildung 66 [F]).

Eine Antikörperfärbung gegen Octopamin (Abbildung 66 [G]) zeigt im Inneren der Leuchtorgane eine ähnliche Markierung wie beim Serotonin: Ein feines Netzwerk zieht um die Lakune herum und endet in leichten Verdickungen.

Eine Antikörperfärbung gegen Synapsin färbt innerhalb der Leuchtorgane eine größere Anzahl von Verdickungen, die am Übergangsbereich zwischen Lakune und Zellschicht zu liegen scheinen (Abbildung 66 [H]).

Eine Antikörperfärbung gegen Na ⁺K⁺-ATPase (Abbildung 66 [I]) markiert im Inneren der Leuchtorgane neben den (mutmaßlichen) Zellmembranen auch die der Lakune aufsitzende Verdickungen der Blutgefäße mit den sie umgebenden Nervenzellenden.

Ergebnisse - 137 -

3.2 Pharmakologische und andere Stimuli zur Auslösung des Leuchtens

3.2.1 Badapplikation von Serotonin

Die erste Beschreibung der Wirkung von Serotonin auf das Leuchtsystem von Meganyctiphanes norvegica (Kay, 1963) erfolgte nach einem Experiment, in welchem Serotonin im umgebenden Meerwasser gelöst worden war. In der zitierten Arbeit gibt es allerdings keine Informationen über die Latenzen, die Leuchtdauer oder den Verlauf des Leuchtvorgangs.

Davon ausgehend wurde in Hamburg an 10 Krillgarnelen untersucht, wie sich ihr Leuchtverhalten bei Zusatz von Serotonin (10⁻⁴M) in das umgebende Meerwasser verändert. Dazu wurden die Tiere einzeln unter Rotlicht (um den Lichtgradienten-Effekt zu vermeiden) von einem Becken mit normalem Meerwasser in ein anderes mit serotoninhaltigem Meerwasser umgesetzt (Versuchsaufbau mit festgelegtem Tier oberhalb des Photomultipiers). Anschließend wurde nach Abschaltung der roten Beleuchtung die Aufzeichnung des Photomultipliers gestartet. Für weitergehende Untersuchungen (z.B. andere Serotonin-Konzentrationen) standen in Hamburg nicht genügend Tiere zur Verfügung.

Die Kurven, die sich aus diesen Messungen ergaben, zeigen sehr große individuelle Unterschiede, weswegen auf eine statistische Auswertung verzichtet wurde. Die Latenzen waren gegenüber den Zeiten bei Serotonininjektion (Fregin 2001) stark verlängert und betrugen mehrere Minuten bis zu über einer Stunde. Bei einigen Tieren war nach ca. 1-2 Minuten eine leichte Verschiebung der Dunkelkurve zu beobachten. Nach ca. 15-100 Minuten (in zwei Fällen nach ca. 2 Minuten), kam es zu einem anscheinend annähernd linearen Anstieg der Leuchtstärke (Abbildung 67 [A]), der aber starken Schwankungen unterliegen kann. Anders als bei durch Serotonininjektion ausgelöstem Leuchten ist die Intensität des Leuchtens (bis der Photomultiplier in Sättigung geht) teilweise über Stunden langsam und graduell ansteigend.

Solange die Tiere im serotoninhaltigen Wasser bleiben, leuchten sie dauerhaft. Wird das serotoninhaltige Seewasser anschließend gegen normales Seewasser ausgetauscht, leuchten die Tiere noch viele Stunden lang weiter, die Aufzeichnung wurde nach maximal 7,5 Stunden abgebrochen (Abbildung 67 [B]). Die Abnahme der Leuchtstärke nach der Umsetzung

- 138 - Ergebnisse

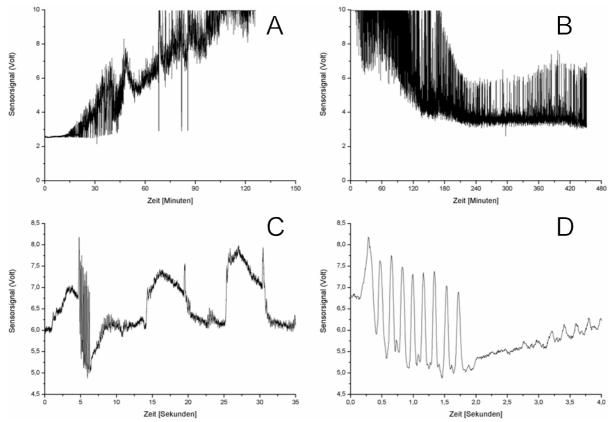


Abbildung 67. Beispiel für den Verlauf der Biolumineszenz bei Meganyctiphanes bei Serotonin (10⁻⁴ M) im umgebenden Seewasser. [A] Nach einer Latenz von einigen Minuten (bis zu einer halben Stunde ist möglich) beginnt eine langsam ansteigende Lichtproduktion. [B] Setzt man das Tier anschließend in ein Becken mit Seewasser ohne Serotonin, leuchtet es noch viele Stunden lang (die Aufzeichnungen wurden nach maximal 7,5 Stunden beendet, auch wenn das Tier noch leuchtete). [C] Ein Ausschnitt aus [B] bei Zeitindex 180 Minuten. Es sind rhythmische Schwankungen der Leuchtstärke erkennbar. [D] Ausschnitt aus [C] (Zeitindex 5 bis 9 Sekunden). Ein Teil der Leuchtstärkeschwankungen weist einen Rhythmus von ungefähr 6 Hz auf.

in Seewasser ohne Serotonin ähnelt der Abnahme bei Tieren, denen Serotonin in die Hämolymphe injiziert wurde (Fregin, 2001).

Schaut man sich den Kurvenverlauf genauer an, fallen viele rhythmische Veränderungen in der Leuchtstärke auf (Abbildung 67 [C],[D]), wie sie auch aus den Aufzeichnungen von Tieren mit Serotonininjektion bekannt sind. Wie bei diesen Tieren dürfte es sich hier um Schwankungen handeln, die durch den Pleopodenschlag und die Abdomenflexion, sowie die Rotation der Leuchtorgane erzeugt werden.

Ergebnisse - 139 -

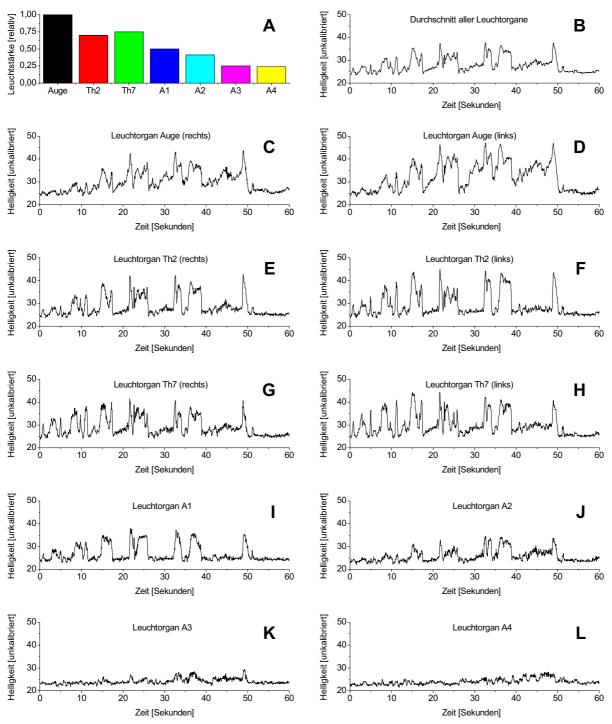


Abbildung 68. Messung der relativen Helligkeiten der einzelnen Leuchtorgane eines leuchtenden Tieres. Ein von ventral gefilmter Krill wurde zunächst hellem Raumlicht ausgesetzt, auf welches Dunkelheit folgte. Das durch diesen Hell-Dunkel-Wechsel ausgelöste Leuchten konnte aufgezeichnet werden; anschließend wurden die Regionen der einzelnen Leuchtorgane in ihrer Helligkeitsentwicklung analysiert. Dieses wurde nur bei einem Tier durchgeführt, da die dafür nötige Kamera nur einmal kurzzeitig zur Verfügung stand.

(Fortsetzung der Legende auf der folgenden Seite)

- 140 - Ergebnisse

3.2.2 Schwankungen der Leuchtstärke bei festgelegten Tieren

Zur Eingrenzung der Ursache oder Ursachen der oben genannten Schwankungen wurden zwei Experimente durchgeführt. Zunächst wurde ein leuchtendes Tier (Abbildung 1) mit einer Videokamera von ventral gefilmt und anschließend Bild für Bild die relative Helligkeit der Leuchtorgane zueinander (Normalisierung: Leuchtorgane der Augen = 1) (Abbildung 68 [A]) sowie ihre Helligkeitsveränderungen über 60 Sekunden bestimmt (Abbildung 68 [B]-[L]).

Es wurde festgestellt, dass die Leuchtorgane in den Augenstielen am hellsten sind, die vier der Thoraxsegmente sind ungefähr gleich hell und leuchten mit ca. 70%-80% der Leuchtstärke der Augenstielleuchtorgane. Die Abdominalleuchtorgane nehmen kontinuierlich in Leuchtstärke ab, von ca. 50% im ersten Abdominalsegment auf ca. 25% im vierten Abdominalsegment. Diese durchschnittlichen Helligkeiten fluktuieren stark, abhängig von der Rotation der Leuchtorgane, sowie des Beinschlags und des Anstellwinkels des Abdomens. Betrachtet man einzelne Leuchtorgane, wenn sie nicht bewegt werden, fluktuiert ihre Helligkeit fast nicht.

Für die Dauer von einer Minute, in welcher der Anstellwinkel des Abdomens vom beobachteten Tier nicht verändert wurde, und es auch über den gesamten Zeitraum die Beinschlagfrequenz nicht veränderte, ergeben sich die Helligkeitsschwankungen, die sich aus der Rotation der Leuchtorgane ergeben (Abbildung 68 [B]). Dabei zeigte sich, dass die Helligkeitsschwankungen der Augenstiel- und Thorakalleuchtorgane immer gleichartig sind, also eine große Korrelation aufweisen, und dass ihre Einzelwerte (Abbildung 68 [C]-[H]) dem Helligkeitsverlauf, wie ihn ein Photomultiplier summiert für alle Leuchtorgane gleichzeitig aufzeichnen würde (Abbildung 68 [B]), entsprechen dürften. Diese Beziehung gilt für die Abdominalleuchtorgane schwanzwärts in immer geringerem Maße.

Fortsetzung Abbildung 68. [A] Beim Vergleich der relativen Leuchtstärken zeigt sich, dass die zwei Augenstielleuchtorgane am hellsten leuchten, die vier Thorakalleuchtorgane alle ähnlich hell leuchten (ca. 70% der Helligkeit der Leuchtorgane in den Augen) und die Helligkeit bei den vier unpaaren Abdominalleuchtorganen von Segment zu Segment bis auf ca. 25% relativ zur Helligkeit der Augenleuchtorgane abnimmt. [B] zeigt eine Kurve des Helligkeitsdurchschnitts aller 10 Leuchtorgane. Diese Kurve entspricht ungefähr dem Verlauf des Signals, wie es von einem Photomultiplier aufgezeichnet werden würde. [C]-[L] zeigen die Helligkeitsverläufe der 10 Leuchtorgane. Die Leuchtorgane der Augen und des Thorax zeigen einen sehr ähnlichen Verlauf, die im Abdomen hingegen Richtung Telson gehend einen immer unähnlicheren mit einer Abnahme der Fluktuationen.

Ergebnisse - 141 -

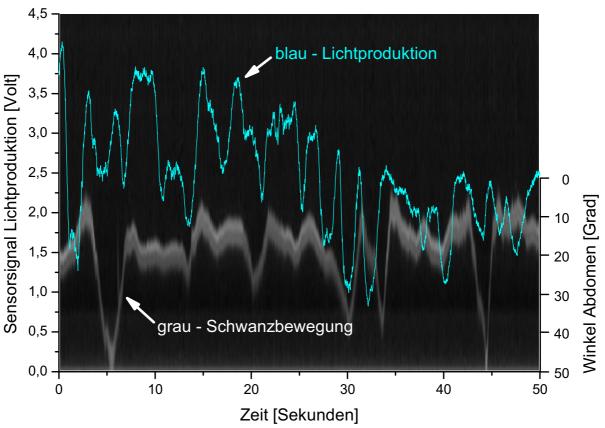


Abbildung 69. Vergleich der Fluktuationen der Lichtproduktion (blaue Kurve) und der Veränderung des Anstellwinkels des Abdomens (graue Kurve; 0 Grad: gerade Körperachse, 50 Grad: maximal beobachtete Abwinkelung des Abdomens) eines durch Serotonininjektion ausgelösten Leuchtens bei Meganyctiphanes.

Der Einfluss der Körperhaltung, also vor allem des Anstellwinkels des Abdomens bzw. dessen Flexion, wurde in einem weiteren Experiment untersucht. Dabei wurde ein Tier, welches durch Serotonininjektion zum Leuchten gebracht worden war, unter Infrarotlicht von lateral gefilmt. Gleichzeitig wurde die Lichtproduktion mittels Photomultiplier von ventral aufgezeichnet; das Messgerät war mit einem Infrarotsperrfilter ausgestattet, so dass es nur das blaue Licht der Leuchtorgane aufzeichnen konnte. Aus den Einzelbildern der Videoaufzeichnung wurden aus jedem Bild die Einzelwerte eines jeden Pixels einer einzelnen Spalte ausgelesen und in einer Tiff-Datei nacheinander abgespeichert. Die ausgewählte Spalte war in einem Bereich des Tieres kurz vor dem Schwanzfächer angesiedelt, so dass immer ein Teil des Abdomens im Bild blieb. Der Anstellwinkel wurde bezogen auf den Übergang von Thorax zu Abdomen berechnet. Bei gestrecktem Abdomen ergab sich ein Winkel von 0 Grad, bei maximal abgebogenem Abdomen ein Winkel von ca. 50 Grad. Beide Meßwerte (Signal des Photomultipliers sowie der Videoaufzeichnung) wurden anschließend zusammengeführt, so dass der Anstellwinkel und die Lichtproduktion miteinander verglichen werden können (Abbildung 69). Es zeigt sich

- 142 - Ergebnisse

Tabelle 2. Biolumineszenzauslösung durch externe Lichtstimuli. Die Beleuchtung von Meganyctiphanes norvegica für verschiedene Zeitintervalle mit entweder I μ W/m² oder 30 μ W/m² Stimulation mit Weißlicht und anschließender Dunkelphase (0 μ W/m²) führt oftmals zur Auslösung einer Leuchtphase bei den Tieren. Total: Gesamtanzahl stimulierte Tiere. N: Anzahl Tiere mit auswertbarem Parameter. SD: Standardabweichung. SEM: Standardfehler des Mittelwerts.

Beleuchtungsstärke Ι μW/m²										
Beleuch-	Total	N	Dauer	SD	SEM	N	Latenz	SD	SEM	
tungsdauer		(Dauer)	[s]	(Dauer)	(Dauer)	(Latenz)	[s]	(Latenz)	(Latenz)	
[min]										
ı	20	I	300	0	0	I	80	0	0	
3	20	3	297	262,05	151,29	3	44	38,11	22,0	
9	20	18	355,33	627,58	147,92	17	39,3	41,23	10,0	
27	15	14	253,29	124,81	33,36	15	48,73	33,71	8,70	
81	10	6	214,17	91,29	37,27	6	16	10,35	4,23	
	Beleuchtungsstärke 30 μW/m²									
Beleuch-	Total	Ν	Dauer	SD	SEM	Ν	Latenz	SD	SEM	
tungsdauer		(Dauer)	[s]	(Dauer)	(Dauer)	(Latenz)	[s]	(Latenz)	(Latenz)	
[min]										
I	10	7	340,43	200,7	75,86	7	147,57	98,12	37,08	
3	40	30	371,2	153,88	28,09	31	90	73,23	13,15	
6	80	79	659,39	283,65	31,91	79	126,85	119,03	13,39	
9	70	65	568,09	325,98	40,43	65	112,61	108,48	13,45	
27	20	19	379	204,19	46,84	19	65,42	51,13	11,73	
60	5		230	0	0		141	0	0	

eine nur mäßige Korrelation der beiden Parameter. Die größten Helligkeitswerte sind bei vollständiger Streckung des Abdomens messbar, die niedrigeren bei der Flexion. Im großen und ganzen sind beide Kurven gleichsinnig, d.h. steigt z.B. die Lichtproduktion an, zeigt auch der Flexionswinkel eine entsprechende Änderung. Ein Trend für eine Korrelation scheint subjektiv vorhanden zu sein, der sich allerdings statistisch mittels Kreuzkorrelation nicht belegen ließ (<0,1).

3.2.3 Auslösung des Leuchtens

Das Leuchten des Nordischen Krill kann zuverlässig durch zwei Methoden ausgelöst werden: durch das Präsentieren eines starken Lichtgradienten (Hell-Dunkel-Gradient) sowie der Injektion von Serotonin (Fregin 2001). Da die zitierte Arbeit nur über eine geringe Anzahl von Versuchswiederholungen verfügt, wurden diese beiden Parameter weitergehend untersucht. Zunächst wurde die Reaktion der Tiere auf die Helligkeitsschwankungen des

Ergebnisse - 143 -

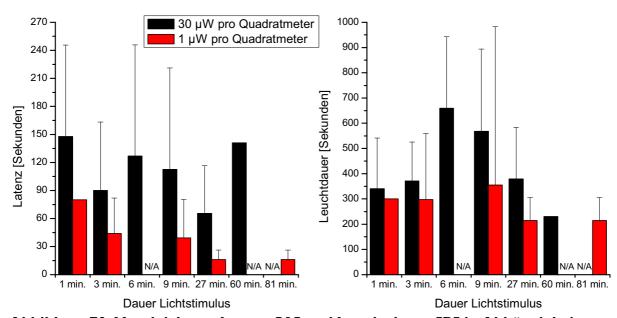


Abbildung 70. Vergleich von Latenz [A] und Leuchtdauer [B] in Abhängigkeit von Stimulationsdauer und Beleuchtungsstärke. Einzelne Tiere wurden mittels eines fotographischen Belichters für unterschiedlich lange Zeiträume mit Weißlicht unterschiedlichen Beleuchtungsstärken (1 µW bzw. 30 µW pro Quadratzentimeter) beleuchtet, welches dann abrupt ausgeschaltet wurde. Dieser Helligkeitsgradient ist in der Lage, ein Leuchten der Tiere auszulösen. Je kürzer und je schwächer dieser Lichtstimulus ist, desto unwahrscheinlicher ist das Auslösen des Leuchtens. Bei der Belichtungsstärke I µW/cm² und einer Belichtungsdauer von I Minute wurde z.B. nur bei einem von zwanzig Tieren ein Leuchten ausgelöst (Tabelle 2). Die Latenz nimmt bei niedriger Beleuchtungsstärke mit zunehmender Stimulationsdauer ab. Bei hoher Lichtintensität ist kein Muster erkennbar. Die Leuchtdauer scheint bei niedriger Lichtintensität unabhängig von der Stimulationsdauer zu sein: Bei Auslösung leuchten die Tiere aller Kategorien ungefähr gleichlang. Bei hoher Lichtintensität nimmt die Leuchtdauer mit zunehmender Stimulierungszeit scheinbar zunächst zu, dann wieder ab, was statistisch nicht signifikant ist. Bei mittleren Beleuchtungszeiten von 6 und 9 Minuten Dauer leuchten die Tiere ungefähr doppelt so lang wie bei niedrigeren oder höheren Stimulationszeiten. Allerdings ist die Variabilität in diesen zwei Kohorten auch am größten. Die Unterschiede innerhalb der Kohorten sind statistisch nicht signifikant (einfache ANOVA mit Mittelwertevergleich nach Tukey, p>0,05), die Latenz zwischen den Mittelwerten der Kohorten jedoch ist signifikant unterschiedlich (p>0,01; siehe Tabelle 2).

Umgebungslichtes an einer wesentlich größeren Versuchstierpopulation durchgeführt. Anschließend wurde die Reaktion auf Serotonin während verschiedenen Messreisen miteinander verglichen, sowie die Wirkung verschiedener Pharmaka mit bekannter Wirkung auf serotonerge Systeme untersucht.

- 144 - Ergebnisse

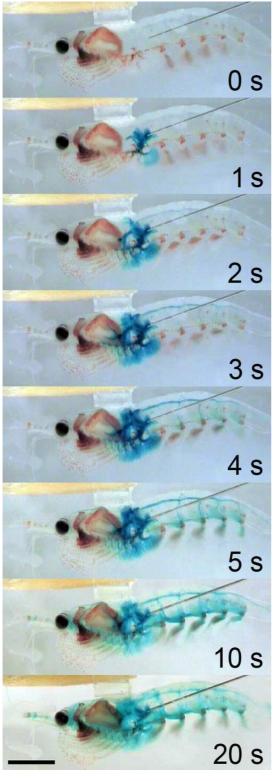


Abbildung 71. Injektion von 5 µl Ringer mit dem darin gelöstem Farbstoff "Fast Green" (0,1%) und dessen Verteilung im Tierkörper innerhalb der ersten 20 Sekunden (siehe auch Tabelle 3). Die Einstichstelle der Kanüle befindet sich im Bereich des ersten abdominalen Segments; die Kanüle zeigt kopfwärts Richtung Thorax. Nach einer Sekunde ist der Farbstoff ventral im letzten Thoraxsegment und den dazugehörigen Kiemen verteilt. Nach zwei Sekunden ist er im Herzen, in allen Kiemen und im abdominalen Dorsalgefäß angelangt. Nach drei Sekunden zeigt er sich im fünften Abdominalsegment vorhanden sowie in den vom Dorsalgefäß abgehenden Seitenästen; anterior ist er ventral bis zum zweiten Thoraxsegment vorgedrungen. Ebenso ist er in den Gefäßen der Mitteldarmdrüse sichtbar. Nach vier Sekunden ist er über die Kopfarterie bis zum Gehirn und den Augenstielen gelangt und damit in allen Segmenten mit Leuchtorganen nachweisbar. Die Abbildungen nach fünf Sekunden und 10 Sekunden zeigen die weitere Verteilung im Körper; nach 20 Sekunden ist der Farbstoff im gesamten Körper bis auf in der Rückenmuskulatur und den thorakalen Beinen gleichmäßig verteilt.

Eichmarker: 5 mm

Ergebnisse - 145 -

3.2.4 Hell-Dunkel-Gradient als Auslöser des Leuchtens (Hell-Dunkel-Reaktion)

Verändert sich die Umgebungshelligkeit von *Meganyctiphanes norvegica* sehr abrupt (innerhalb von Sekunden oder kürzer), können die Tiere mit einer Lichtproduktion reagieren (Tabelle 2). Die Wahrscheinlichkeit, mit der sie positiv reagieren, ist abhängig von der Stärke des Gradienten (Helligkeit vorher - nachher). Die von Fregin (2001) durchgeführten Messungen hatten eine kleine Fallzahl, daher wurde der Versuch wiederholt. Die Tiere wurden für unterschiedlich lange Zeiträume (1, 3, 6, 9, 27, 60 und 81 Minuten) einer Umgebungshelligkeit von 1 μW/cm² oder 30 μW/cm² ausgesetzt und dann wurde die Helligkeit per Lichtschalter auf absolute Dunkelheit abgesenkt (Abbildung 70 [A], [B]). Dieser Gradient ist in der Lage, das Leuchten auszulösen. Je kürzer und je schwächer der Lichtstimulus ist, um so unwahrscheinlicher ist die Auslösung des Leuchtens. Von 20 Tieren, die für eine Minute mit der Beleuchtungsstärke 1 μW/cm² stimuliert wurden, reagierte nur ein einziges Tier (5%). Bei einer Stimulation von 6 Minuten Dauer mit 30 μW/cm² Beleuchtungsstärke hingegen reagierten 79 von 80 Tieren (98,75%) mit einer Lichtproduktion.

Tabelle 3. Injektion des Farbstoffs "Fast Green" in die Hämolymphe von Meganyctiphanes (Injektionsvolumen: 5 µl) führt zu einer Verteilung im gesamten Körper in den angeführten Zeiten. Injektionsort ist der Übergang von Thorax zu Abdomen. Insgesamt wurden 24 Tiere untersucht, da der Farbstoff nicht immer zweifelsfrei in allen Segmenten nachgewiesen werden konnte, variiert die Fallzahl.

Körperregion	N	Zeit nach Injektion [ms]	Standard- abweichung [ms]
Augenstiel	23	7380	6682
Th2	13	2181	1584
Th7	22	1385	1966
AI	23	994,8	1968
A2	24	2245	2430
A3	21	3364	3301
A4	21	4379	3415

Bei niedriger Beleuchtungsstärke scheint sich die Latenzzeit mit zunehmender Stimulationsdauer scheinbar zu verkürzen (Tabelle 2). So beträgt sie bei 3 Minuten Stimulationsdauer 44 Sekunden und bei 81 Minuten Stimulationsdauer nur 16 Sekunden.

- 146 - Ergebnisse

Allerdings ist sie bei einer Stimulationsdauer von 27 Minuten länger als bei 3 Minuten. Bei hohen Lichtintensitäten ist kein Muster erkennbar. Die Unterschiede innerhalb der Kohorten sind alle statistisch nicht signifikant.

Bei der Leuchtdauer gibt es einen Trend von kürzerer Leuchtdauer bei kurzer Stimulationszeit zu längerer Leuchtdauer bei mittellanger Stimuluszeit; bei längeren Stimuluszeiten sinkt die Leuchtdauer wieder. Dieser Trend ist bei hoher Lichtintensität stärker ausgeprägt als bei niedriger Lichtintensität (Abbildung 70 [B]). Bei einer Stimulation für 1 Minute und 3 Minuten ist die Leuchtdauer bei hoher und niedriger Lichtintensität ähnlich lang (ca. 300–350 Sekunden). Eine besonders lange Leuchtdauer findet sich bei mittellanger Stimulierung: hier leuchten einige der Tiere bis zu dreimal so lange wie im Durchschnitt, gut 900 bis 1000 Sekunden. Die längste individuelle Leuchtdauer fand sich bei einem Tier, welches für 9 Minuten mit niedriger Intensität stimuliert wurde.

3.2.5 Reaktion der Tiere auf Helligkeitsgradienten

Die "Gegenlichtilluminationshypothese" ("counter shading hypothese") besagt, dass die Tiere Licht produzieren, wenn die von dorsal einstrahlende Umgebungshelligkeit eine gewisse Schwelle übersteigt, um so ihren eigenen Schattenwurf aufzulösen.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden Tiere einmal ohne Serotoninbehandlung und einmal mit Serotonininjektion einer Helligkeitsveränderung in ihrer Umgebung ausgesetzt, und ihre Lichtproduktion mittels Photomultiplier in zwei verschiedenen Versuchsaufbauten registriert.

Im ersten Versuchsaufbau war ein Inversmikroskop mit zwei Rotationslochscheiben ausgestattet, so dass der Lichtstimulus phasenversetzt zur Aufzeichnung der Lichtproduktion der Tiere stroboskopartig angeboten wurde. Da die Konstruktion mit den beiden Rotationsscheiben, die auf einer massiven gemeinsamen Achse sitzen, starke Erschütterungen und Vibrationen erzeugte, die nicht komplett von den Tieren ferngehalten werden konnten, wurde ein zweiter Versuchsaufbau konstruiert. Bei diesem wird nur eine Rotationslochscheibe, die wesentlich leichter gebaut wurde, von einem Motor angetrieben. Die Beleuchtung wird

Ergebnisse - 147 -

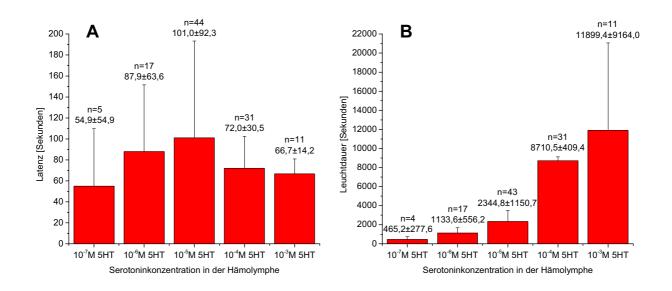


Abbildung 72. Injektion von Serotonin in die Hämolymphe. [A] Latenzzeiten bei Serotonininjektion in verschiedenen Konzentrationen von Beginn der Injektion bis zum Leuchtbeginn. Die Latenzen variieren über einen großen Bereich, sind aber nicht statistisch signifikant abhängig von der Serotoninkonzentration. [B] Die Leuchtdauer der Tiere ist stark abhängig von der Menge Serotonin, die in die Hämolymphe injiziert wurde, und steigt mit zunehmender Konzentration an. Die Abhängigkeit von Leuchtdauer und injizierter Serotoninmenge ist hoch signifikant ($p \le 0.05$).

durch blaue oder weiße Leuchtdioden erzeugt, die über eine Gabellichtschranke stroboskopartig angesteuert werden. Die Küvette (mit dem Versuchstier) und der Tisch, auf welchem Rotationsscheibe und Photomultiplier stehen, sind voneinander getrennt, so dass keine Vibrationen übertragen werden können.

In beiden Versuchsaufbauten wurde eine Lichtblitzfrequenz von mindestens 200 Hz erreicht. Die Lichtintensität wurde über einen motorbetriebenen Graukeil und gegebenenfalls Neutralgraufilter reguliert. Der erste Versuchsaufbau wurde an der marinbiologischen Station Kristineberg verwendet, der zweite Versuchsaufbau bisher nur an mitgebrachten Tieren in Hamburg getestet.

In keiner der Versuchskonstellationen, mit und ohne Serotonin, wurde eine Veränderung der Lichtproduktion der Tiere in Abhängigkeit der Umgebungshelligkeit festgestellt. Bei den Tieren, die ohne Serotonininjektion getestet wurden, wurde nach Abklingen des "Raumlicht-Aus-Effekts" unabhängig von der Umgebungshelligkeit keine Lichtproduktion mehr nachgewiesen. Bei den durch Serotonininjektion zum Leuchten angeregten Tieren veränderte

- 148 - Ergebnisse

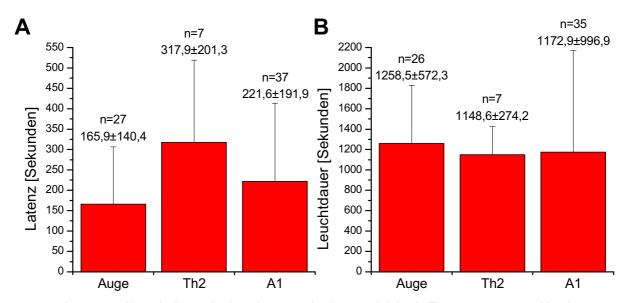
sich der Kurvenverlauf der Lichtproduktion nicht. Insbesondere wurde auch nach dem teilweise oder vollständigen Abklingen des serotonininduzierten Leuchtens keine verstärkte oder erneute Lichtproduktion gemessen.

3.2.6 Injizierte Pharmaka als Auslöser des Leuchtens

3.2.6.1 Zeitlicher Verlauf der Verteilung injizierter Substanzen

Die Wirkung des Serotonins auf das Leuchten ist bekannt (Fregin 2001). Es stellt sich die Frage, wie schnell das injizierte Serotonin das Leuchten auslösen kann, und ob alleine die Verteilung im Körper ausreichend ist, um das Leuchten auszulösen, oder aber ob zentralnervöse Vorgänge dazu nötig sind.

Zur Messung der Verteilungsgeschwindigkeit der injizierten Pharmaka im Tierkörper wurden Tiere gefilmt und ihnen währenddessen 5 µl einer Fast Green-haltigen Lösung in die Übergangsregion zwischen Thorax und Abdomen injiziert (in diesem Bereich liegen keine Inneren Organe, die verletzt werden könnten). Da die Tiere fast durchsichtig sind, lässt sich die



Latenz und Leuchtdauer der Leuchtorgane im Augenstiel, im 2. Thoraxsegment und im 1. Abdominalsegment bei einer Serotonininjektion mit 10⁻⁵ M Endkonzentration in der Hämoplymphe

Abbildung 73. Injektion von Serotonin in die Hämolymphe. Bei der Vermessung der einzelnen Leuchtorgantypen in Augenstiel, zweiten Thoraxsegment und im ersten Abdominalsegment ergaben sich bei den Latenzen [A] Unterschiede. Die Augenleuchtorgane fangen als erste an zu leuchten, die im Abdomen folgen, und als letztes leuchten die thorakalen Leuchtorgane. Bei der Leuchtdauer [B] gib es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Leuchtorganen in den unterschiedlichen Segmenten.

Ergebnisse - 149 -

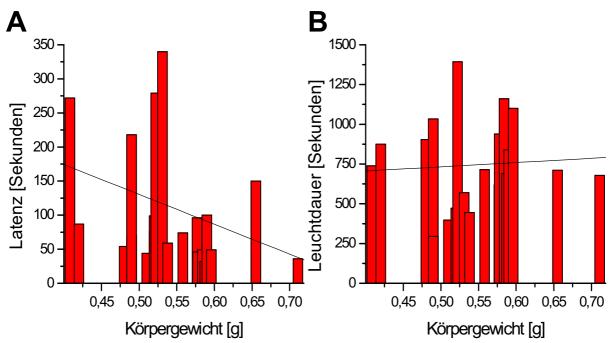


Abbildung 74. Abhängigkeit der Latenz und Leuchtdauer bei injiziertem Serotonin vom Körpergewicht. [A] Latenz (Durchschnitt: 111,5 Sekunden) vom Beginn der Serotonininjektion (Hämolymphendkonzentration: 10⁻⁵ M 5HT) bis zum Beginn der Lichtproduktion der Leuchtorgane. Die Werte schwanken stark (rote Balken), die lineare Regression zeigt einen Trend zu abnehmender Latenz mit zunehmender Körpergröße (negative Korrelation). [B] Die Leuchtdauer bei einer Serotonininjektion mit einer durchschnittlichen Hämolymphkonzentration von 10⁻⁵ M 5HT hat einen Mittelwert von 744,2 Sekunden. Die lineare Regression zeigt einen leichten Trend zur Zunahme der Leuchtdauer mit zunehmender Körpergröße (positive Korrelation).

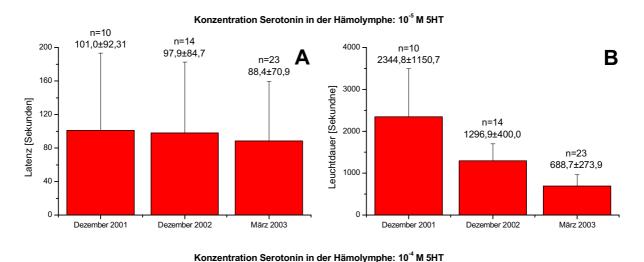
Verteilung des Farbstoffs gut bestimmen. Die erstellten Filme wurden in Einzelbilder zerlegt und für die Regionen Augenstiel, Thoraxsegmente 2 und 7 sowie Abdominalsegmente 1 bis 4 die Veränderung des grünen Farbkanals analysiert. Begann dieser anzusteigen, wurde dieses als Indiz gewertet, dass der Farbstoff vom Injektionsort bis in die untersuchte Körperregion vorgedrungen war (Tabelle 3, Abbildung 71). Dabei zeigte sich, dass der Farbstoff als erstes nach 0,99±1,97 Sekunden im ersten Abdominalsegment, nach 1,38±1,96 Sekunden im siebten Thoraxsegment, nach 2,18±1,58 bzw. 2,25±2,93 Sekunden sowohl im zweiten Thorax- als auch im zweiten Abdominalsegment, und nach 3,36±3,3 bzw. 4,38±3,42 Sekunden in den Abdominalsegmenten drei und vier nachweisbar war. Als letztes gelangte er nach durchschnittlich 7,38±6,68 Sekunden in den Augenstiel- und Gehirnbereich. Dieses Experiment zeigt, dass injizierte Substanzen innerhalb weniger Sekunden fast im gesamten Körper des Tieres verteilt werden können.

- 150 - Ergebnisse

3.2.6.2 Injektion von Serotonin

3.2.6.2.1 Latenz

Serotonin wurde mittels selbstgebauten Injektionssystemen automatisch in Tiere in Konzentrationen von 10⁻⁷ M bis 10⁻³ M injiziert (bezogen auf die Endverdünnung, wenn die Substanz in der gesamten Hämolymphe gleichmäßig verteilt ist). Bei vorherigen Messungen (Fregin 2001) wurde das Serotonin manuell in die Tiere injiziert, wodurch keine Aussagen über die Latenzen gemacht werden konnte. Da jetzt sowohl das Signal der Photomultiplier als auch das Signal des Injektionssystems parallel aufgezeichnet wurde, konnten die Latenzen bestimmt werden.



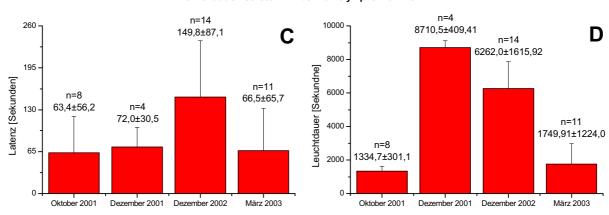


Abbildung 75. Variabilität der Messwerte für Latenz und Leuchtdauer bei Injektion von Serotonin in die Hämolymphe auf verschiedenen Forschungsreisen zu verschiedenen Jahreszeiten. [A] und [B] Konzentration 10⁻⁵M 5HT in der Hämolymphe, [C] und [D] 10⁻⁴ M 5HT. Die Latenzen sind immer sehr ähnlich, bis auf einen Ausreißer bei höherer Serotoninkonzentration im Dezember 2002. Bei der Leuchtdauer zeigt sich eine große Variabilität.

Ergebnisse - 151 -

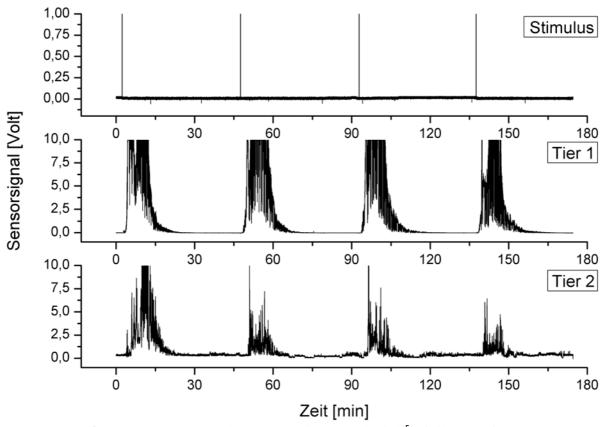


Abbildung 76. Repetitive Injektionen von Serotonin (10⁻⁵ M) (Stimulus) im Abstand von 45 Minuten führen jedesmal zu einer erneuten Auslösung des Leuchtvorgangs (Tier 1 und 2). Dabei gibt es in Bezug auf Latenz, Dauer des Leuchtvorgangs und der Leuchtstärke keinen generellen Trend: Einige Tiere reagieren schneller, andere langsamer, einige leuchten länger, andere kürzer, und auch die Leuchtstärke variiert, wobei sie aber häufiger ab- als zunimmt (vergleiche Abbildung 77).

Dabei ergab sich für die verschiedenen Konzentrationen der folgende Verlauf (Abbildung 72 [A]): Die kürzeste Latenz von 54,9±54,9 Sekunden zeigte sich bei 10⁻⁷ M 5HT, wobei zudem auch nicht alle Tiere reagierten (5 von 9). Bei der nächst höheren Konzentration 10⁻⁶ M 5HT ergab sich eine um fast ein Drittel längere Latenz von 87,9±63,6 Sekunden, und wesentlich mehr Tiere reagierten auf die Injektion (17 von 25). Die längste Latenz von 101,0±92,3 Sekunden war bei einer Konzentration von 10⁻⁵ M 5HT zu messen (47 von 52 Tieren reagierten). Bei 10⁻⁴ M und 10⁻³ M 5HT nahm die Latenz auf 72,0±30,5 Sekunden bzw. 66,7±14,2 Sekunden ab (es reagierten 34 von 40 bzw. 11 von 18 Tieren). Die Latenzen innerhalb einer Konzentrationsgruppe weisen eine sehr große Streuung auf, weswegen kein signifikanter Unterschied zwischen den Latenzen besteht.

- 152 - Ergebnisse

3.2.6.2.2 Leuchtdauer

Die Leuchtdauer nimmt hingegen signifikant exponentiell mit der injizierten Serotoninmenge zu (Abbildung 72 [B]). Bei 10⁻⁷ M 5HT leuchteten die Tiere 465,2±277,6 Sekunden, bei 10⁻⁶ M 5HT 1133,6±556,2 Sekunden, bei 10⁻⁵ M 5HT 2344,8±1150,7 Sekunden, bei 10⁻⁴ M 5HT 8710,5±409,4, und bei 10⁻³ M 5HT 11899,4±9164,0 Sekunden. Die Bandbreite reicht also von im Durchschnitt gut 8 Minuten bei der niedrigsten Konzentration bis zu gut 3,3 Stunden bei der höchsten Konzentration (N wie bei Latenzen).

3.2.6.2.3 Latenz und Leuchtdauer der einzelnen Leuchtorgane

Zur Messung der Latenzen und der Leuchtdauer der Leuchtorgantypen in den Augenstielen, im zweiten Thoraxsegment sowie im ersten Abdominalsegment wurde am Photoausgang eines Meopta Inversmikroskops ein Photomultiplier angebaut. Die Küvette mit dem jeweiligen Versuchstier wurde auf dem Mikroskoptisch so angeordnet, dass jeweils ein einzelnes Leuchtorgan im Fokus des Objektives (10x) zu sehen war. Anschließend wurde automatisch Serotonin in der Endkonzentration von 10⁻⁵ M injiziert (Abbildung 73). Es ergaben sich Latenzen bei den Augenstielleuchtorganen von 165,88±140,37 Sekunden (n=27), bei den Leuchtorganen des zweiten Thoraxsegments von 317,86±201,28 Sekunden (n=7) und bei den Leuchtorganen des ersten Abdominalsegments von 221,64±191,95 Sekunden (n=37). Es stellte sich als überaus kompliziert heraus, auf die Leuchtorgane des Thorax scharf zu stellen, da der Arbeitsabstand des Objektives dafür nur knapp ausreichend war. Andernfalls hätte das Tier mit den Beinen den Boden der Küvette berührt. Die großen Standardabweichungen machen auch hier reale Unterschiede der Latenzen statistisch unwahrscheinlich. Bei den Leuchtdauern der drei genannten Leuchtorgantypen gibt es keinen statistisch signifikanten Unterschied: sie liegen mit 1258,46±572,33 Sekunden (Auge), 1148,57±274,19 Sekunden (Thorax) und 1172,88±996,86 Sekunden (Abdomen) dicht beieinander.

3.2.6.2.4 Variabilität von Latenz und Leuchtdauer zwischen verschiedenen Meßperioden

Auf mehreren Forschungsreisen wurde die Reaktion von Krill auf die Injektion von Serotonin gemessen, die bisher in dieser Arbeit zusammengefasst dargestellt wurden. Ein Vergleich der Ergebnisse zwischen den einzelnen Forschungsreisen zeigt eine teilweise große Variabilität innerhalb der Messergebnisse (Abbildung 75). Die Latenzen und die Standardabweichungen

Ergebnisse - 153 -

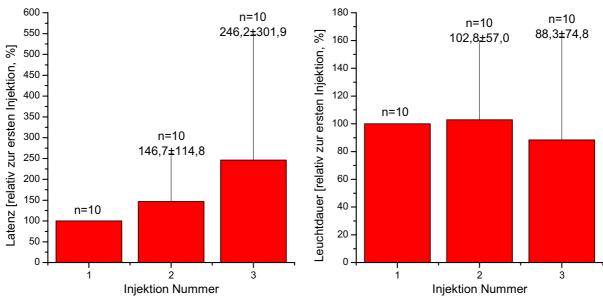


Abbildung 77. Repetitive Injektion von 10-5 **M 5HT** (Hämolymphkonzentration) an 10 Tieren im Abstand von 45 Minuten ergab, dass die Latenz relativ zur ersten Injektion zunimmt **[A]** und die Leuchtdauer **[B]**, bei großen individuellen Unterschieden unverändert bleibt (siehe Standardabweichung).

bei 10⁻⁵ M 5HT sind sich zwischen den Forschungsreisen im Dezember 2001, Dezember 2002 und März 2003 sehr ähnlich: 101±92,31, 97 Sekunden (n=10), 93±84,7 Sekunden (n=14) sowie 88,35±70,9 Sekunden (n=23). Bei der Leuchtdauer zeigten sich allerdings große Unterschiede: mit 2344,8±1150,69 Sekunden (n=10) leuchten die Tiere im Dezember 2001 fast doppelt so lange wie im Dezember 2002 (1296,93±400,01 Sekunden, n=14) und mehr als dreimal so lange wie im März 2003 (688,73±273,95 Sekunden, n=23). Bei einer Hämolymphkonzentration von 10⁻⁴ M 5HT, die auf 4 Forschungsreisen verwendet wurde, war die Latenz bei drei Forschungsaufenthalten im Oktober 2001, im Dezember 2001 und im März 2003 ähnlich (63,38±56,17 Sekunden (n=8), 72,0±30,46 Sekunden (n=4) und 66,5±65,73 Sekunden (n=10)), wohingegen bei einer Reise im Dezember 2002 die Latenz mit 149,79±87,05 Sekunden mehr als doppelt so lang war (n=14). Die Variabilität bei der Leuchtdauer ist noch größer und variiert um den Faktor 6,5 (Oktober 2001: 1334,75±301,05 Sekunden (n=8), Dezember 2001: 8710,5±409,41 Sekunden (n=2), Dezember 2002: 6262,0±1615,92 Sekunden (n=13), März 2003: 1749,91±1223,99 Sekunden (n=11)).

- 154 - Ergebnisse

3.2.6.2.5 Abhängigkeit von Latenz und Leuchtdauer vom Körpergewicht

Bei der großen Variabilität, die bei den Antworten der Tiere auf Serotonininjektionen registriert wurde, stellt sich die Frage nach der Ursache. Daher wurden die Messwerte in Beziehung zur Körpergröße gesetzt, als deren Surrogatmarker das Körpergewicht diente (Abbildung 74). Bei 20 gemessenen Tieren zeigte die Latenz eine durchschnittliche Dauer von 111,5±91,5 Sekunden und die Leuchtdauer einen Durchschnitt von 744,15±292,8 Sekunden. Bei Latenz und Leuchtdauer ergaben sich dabei unterschiedliche Abhängigkeiten vom Körpergewicht (die mittels linearer Regression bestimmt wurden). Bei der Latenz ergibt sich eine negative Abhängigkeit, d.h. je größer die Tiere sind, um so kürzer sind die Latenzen). Für die Regressionsgrade (Formel 1)

$$y = a + bx(1)$$

ergeben sich Parameter von a=349,94 und b=-438,02. Diese Regressionsgrade ist so stark abfallend, dass rechnerisch Tiere mit einem Körpergewicht von ca. 0,79 g eine Latenz von 0 Sekunden aufweisen müßten.

Bei der Leuchtdauer ergibt sich hingegen eine positive, aber nicht sehr ausgeprägte Abhängigkeit: je größer die Tiere sind, desto länger leuchten sie. Die Parameter dieser Regressionsgrade sind a=599,5 und b=266,35.

3.2.6.2.6 Repetitive Injektion von Serotonin

Einigen Tieren wurde zunächst manuell (erste Forschungsreise), dann automatisiert in zeitlichen Abständen wiederholt Serotonin injiziert (Abbildungen 76). Dabei zeigte sich, dass die Tiere (n=10) jedesmal erneut mit einer Lichtproduktion auf den Stimulus reagierten. Für die Parameter Latenz und Leuchtdauer ergaben sich unterschiedliche Veränderungen (Abbildung 77): die Latenz nahm von Injektion zu Injektion zu (Injektion 1:100%, Injektion 2: 146,7±114,8%, Injektion 3: 246,2±301,9%), wohingegen die Leuchtdauer sich (trotz großer individueller Unterschiede) nicht so stark bzw. nicht signifikant änderte (Injektion 1: 100%, Injektion 2: 102,8±57,0% Injektion 3: 88,3±74,8%).

Ergebnisse - 155 -

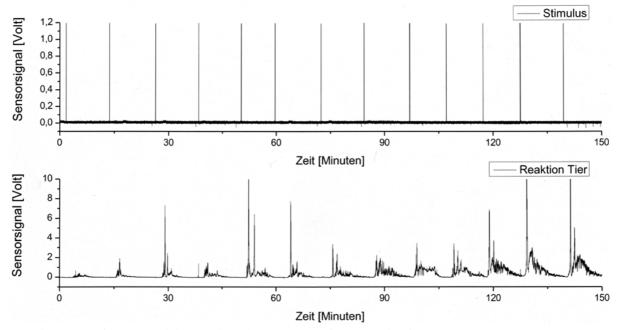


Abbildung 78. Repetitive Injektionen von Serotonin führen, wenn sie schnell genug aufeinander folgend durchgeführt werden, zur Verstärkung der einzelnen Leuchtvorgänge. Vermutlich geschieht dies durch eine Restkonzentration Serotonin im System, so dass die Gesamtkonzentration schneller zunimmt, als sie abgebaut werden kann.

Ein eher uneinheitlicheres Bild zeigte sich bei der Gesamtlichtproduktion (Integral von Leuchtdauer und Leuchtstärke): Bei den in Abbildung 76 gezeigten Tieren z.B. nimmt sie für Tier 1 von 100% über 101,9% und 93,53% auf 70,96% ab. Bei Tier 2 ist der Verlauf folgendermaßen: von 100% über 25,9% auf 28,87% und dann auf 15,6%. Die Latenzen und Leuchtdauern hingegen entsprechen den oben gezeigten Trends.

Wenn der Abstand zwischen den Injektionen unter eine bestimmte Schwelle verkürzt wird, fangen die Wirkungen der Injektionen an sich zu addieren (Abbildung 78), bis die einzelnen Leuchtvorgänge miteinander verschmelzen (d.h. der vorherige Leuchtvorgang ist noch nicht beendet, wenn der nächste bereits stimuliert wird).

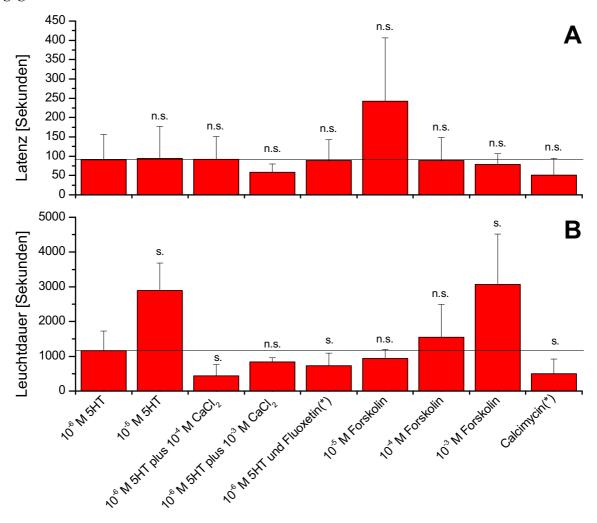
3.2.7 Wirkung verschiedener Substanzen auf das durch Serotonin ausgelöste Leuchten

Auf den Forschungsreisen im Dezember 2001 und März 2003 wurden verschiedene Substanzen in Bezug auf ihre Wirkung auf das Leuchtverhalten von Meganyctiphanes untersucht. Verschiedene Substanzen (Tabelle Anhang) mit potentieller Wirksamkeit, wurden entweder in verdünnter Reinform oder aber in Kombination mit Serotonin in die Tiere injiziert (Abbildungen 79 & 80, Tabellen 4 & 5). Im folgenden werden die Ergebnisse der

- 156 - Ergebnisse

interessanteren Substanzen bzw. von Substanzen mit einer gemessenen Wirkung dargestellt. Alle hier nicht namentlich aufgeführten Substanzen zeigten keine Wirkung.

CaCl₂: Die Wirkung von Kalzium, welches in Form von Kalziumchlorid appliziert wurde, hat bei zwei Forschungsreisen widersprüchliche Ergebnisse geliefert. Auf der Forschungsreise im Dezember 2001 (Abbildung 79) ergab sich bei der Zugabe von 10⁻⁴ M CaCl₂ zu 10⁻⁶ M 5HT kein Unterschied zur Kontrolle (nur 10⁻⁶ M 5HT) in Bezug auf die Latenz, die Leuchtdauer hingegen wurde um mehr als die Hälfte verkürzt. Bei einer höheren Konzentration von 10⁻³ M



Konzentration der Substanzen in der Hämolymphe (nach Verteilung)

Abbildung 79. Injektion verschiedener Pharmaka in die Hämolymphe (Teil I). Latenz [A] und Leuchtdauer [B] im Dezember 2001 bei der Injektion von Serotonin und verschiedener Substanzen, die potentiell einen Einfluß auf das durch Serotonin induzierte Leuchten haben können (Teil I). Werte siehe Tabelle 3. Die Unterschiede bei Latenz und Leuchtdauer sind im Verhältnis zu $10^{-6}\,\text{M}$ 5HT entweder signifikant (s.) oder nicht signifikant (n.s.). (p \leq 0,05, zweiseitiger t-Test)

(*) Bei diesen Substanzen ist die genaue Konzentration nicht bekannt, da es zum Ausfall der Substanz aus dem Lösungsmittel kam (Fluoxetin; ursprünglich 0,4 mg/ml) bzw. die Ausgangskonzentration nicht bekannt war (Calcimycin).

Ergebnisse - 157 -

Tabelle 4. Pharmakologische Messungen im Dezember 2001. Krill *M. norvegica* wurde Serotonin, Serotonin zusammen mit einer weiteren Substanz, oder eine Substanz ohne Serotoninzusatz injiziert. Bei Tieren, die daraufhin geleuchtet haben, wurde der Leucht-vorgang auf Latenz (L) und Leuchtdauer (D) hin analysiert. SD=Standardabweichung; SEM=Standardfehler des Mittelwerts.

Konzentration	Ν	Latenz [s]	SD	SEM	Dauer [s]	SD	SEM
Substanz (1)			(L)	(L)		(D)	(D)
10 ⁻⁶ M 5HT	13	90,19	65,58	18,19	1159,85	569,77	158,03
10 ⁻⁵ M 5HT	6	93,67	83,44	34,06	2894,17	790,78	322,83
10 ⁻⁶ M 5HT plus	8	91,88	58,9	20,82	437,38	321,78	113,76
10 ⁻⁴ M CaCl₂							
10 ⁻⁶ M 5HT plus	4	58,25	21,34	10,67	843,25	118,19	59,09
10 ⁻³ M CaCl ₂							
10 ⁻⁶ M 5HT und	15	88,33	54,58	14,09	731,07	359,43	92,8
Fluoxetin(2)							
10 ⁻⁵ M Forskolin	5	242,4	163,74	73,2	934,4	261,53	116,96
10 ⁻⁴ M Forskolin	10	88,2	59,53	18,82	1548,5	941,51	297,73
10 ⁻³ M Forskolin	14	78,14	28,63	7,65	3064,14	1452,52	388,2
Calcimycin(3)	6	51	43,24	17,65	500,33	419,34	171,19

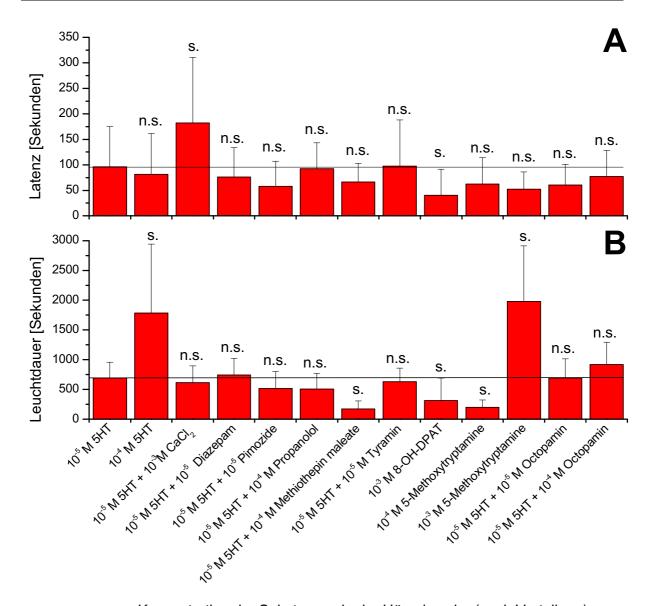
⁽¹) Konzentration in der Hämolymphe (²) Konzentration unbekannt da Substanz teilweise ausgefallen (³) Konzentration unbekannt da Konzentration der Stammlösung unbekannt

CaCl₂ wurde die Latenz verkürzt, die Leuchtdauer hingegen gegenüber der niedrigeren CaCl₂-Konzentration verlängert. Bei der Forschungsreise im März 2003 hingegen (Abbildung 80), wo die Wirkung gegenüber 10⁻⁵ M 5HT gemessen wurde, wurde die Latenz ungefähr verdoppelt, die Leuchtdauer hingegen wich nicht signifikant vom Kontrollwert ab.

Fluoxetin: Die Zugabe von Fluoxetin zu 10⁻⁶ M 5HT hatte keinen Einfluß auf die Latenz, die Leuchtdauer wurde im Verhältnis zur Kontrolle signifikant verkürzt (Abbildung 79).

Forskolin: Die Injektion von Forskolin kann das Leuchten bei *Meganyctiphanes* auslösen. Beim Vergleich mit der Wirkung von Serotonin sind bei gleicher Hämolymphkonzentration die Latenzen bei niedrigen Forskolinkonzentrationen vergrößert, bei höheren verkürzen sie sich und nähern sich an die von Serotonin an. Die Leuchtdauern sind bei gleicher Konzentration verkürzt; um die gleiche Leuchtdauer zu erzielen, muss eine mindestens um den Faktor 10 höhere Konzentration verwendet werden (Abbildung 79).

- 158 - Ergebnisse



Konzentration der Substanzen in der Hämolymphe (nach Verteilung)

Abbildung 80. Injektion verschiedener Pharmaka in die Hämolymphe (Teil 2). Latenz [A] und Leuchtdauer [B] im März 2003 bei der Injektion von Serotonin und verschiedener Substanzen, die potentiell einen Einfluß auf das durch Serotonin induzierte Leuchten haben können (Teil 2). Werte siehe Tabelle 4. Die Unterschiede bei Latenz und Leuchtdauer sind im Verhältnis zu 10^{-5} M 5HT entweder signifikant (s.) oder nicht signifikant (n.s.)(p \leq 0,05, zweiseitiger t-Test).

Calcimycin: Diese Substanz, die in der Plasmamembran kalziumpermeable Kanäle bildet, kann in die Hämolymphe injiziert das Leuchten bei *Meganyctiphanes* auslösen. Über die Konzentrationsabhängigkeit kann keine Aussage getroffen werden, da eine Stammlösung mit unbekannter Konzentration verwendet wurde (Abbildung 79).

Ergebnisse - 159 -

Tabelle 5. Pharmakologische Messungen im März 2003. Krill *M. norvegica* wurde Serotonin, Serotonin zusammen mit einer weiteren Substanz, oder eine Substanz ohne Serotoninzusatz injiziert. Bei Tieren, die daraufhin geleuchtet haben, wurde der Leuchtvorgang auf Latenz (L) und Leuchtdauer (D) hin analysiert. SD=Standardabweichung. SEM=Standardfehler des Mittelwerts.

Konzentration	N	Latenz [s]	SD	SEM	N	Dauer [s]	SD	SEM
Substanz (1)	(L)		(L)	(L)	(D)		(D)	(D)
10 ⁻⁵ M 5HT	24	96,0	78,8	16,09	23	690,96	267,86	55,85
10 ⁻⁴ M 5HT	12	81,3	79,9	23,08	13	1783,4	1159,56	321,6
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻³	13	181,85	129,2	35,83	13	610,85	287,66	79,78
M CaCl ₂								
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻⁵	18	75,9	58,13	13,7	18	742,06	281,47	68,27
M Diazepam								
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻⁵	10	57,7	49,54	15,66	10	518,6	284,38	89,93
M Pimozide								
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻⁴	10	92,6	50,89	16,09	10	502,8	267,13	84,47
M Propanolol								
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻⁴	6	66,3	36,67	14,97	6	171	137,05	55,95
M Methiothepin								
maleate								
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻⁵	20	97,6	90,64	20,79	20	630,11	228,21	52,35
M Tyramin								
10 ⁻³ M 8-OH-	10	40,3	51,27	16,21	10	309,3	380,29	120,26
DPAT								
10 ⁻⁴ M 5-	7	62,4	51,65	19,52	7	198,14	126,48	47,8
Methoxytryptami								
ne								
10 ⁻³ M 5-	9	52,2	33,93	11,31	9	1980,4	934,56	311,52
Methoxytryptami								
ne								
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻⁵	20	60,5	40,37	9,03	19	690,58	322,81	74,07
M Octopamin								
10 ⁻⁵ M 5HT + 10 ⁻⁴	16	77,2	50,94	12,73	15	919,7	371,94	96,04
M Octopamin								
(¹) Konzentration in der Hämolymphe								

Diazepam: Die Zugabe von 10⁻⁵ M Diazepam zum 10⁻⁵ M Serotonin ergab nur eine geringe Verkürzung der Latenz und eine geringe Verlängerung der Leuchtdauer, die statistisch nicht signifikant waren (Abbildung 80).

Pimozide: Die Zugabe von 10⁻⁵ M Pimozide zum 10⁻⁵ M Serotonin ergab eine Verkürzung sowohl von der Latenz als auch von der Leuchtdauer, welche allerdings statistisch nicht signifikant war (Abbildung 80).

- 160 - Ergebnisse

Propanolol: Die Zugabe von 10⁻⁴ M Propanolol zum 10⁻⁵ M 5HT ergab keine veränderte Latenzzeit und eine etwas verkürzte Leuchtdauer, die statistisch nicht signifikant war (Abbildung 80).

Methiothepin maleate: Die Gabe von 10⁻⁴ M Methiothepin maleate ergab eine nicht signifikant verkürzte Latenz und eine signifikant reduzierte Leuchtdauer (Abbildung 80).

Tyramin: Die Gabe von 10⁻⁵ M Tyramin zusammen mit 10⁻⁵ 5HT ergab keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle (Abbildung 80).

8-OH-DPAT: 10⁻³ M 8-OH-DPAT löste das Leuchten bei *Meganyctiphanes* mit signifikant reduzierter Latenz aus; die Leuchtdauer war aber wesentlich abgeschwächt gegenüber dem Serotonin. Eine 100fach höhere Konzentration führte zu einer Leuchtdauer, die nur gut halb solang war wie die von 10⁻⁵ M 5HT ausgelöste (Abbildung 80).

5-Methoxytryptamine: 10⁻⁵ M 5-Methoxytryptamine kann das Leuchten bei *Meganyctiphanes* auslösen. Latenz und Leuchtdauer sind dabei signifikant stark verlängert gegenüber der Kontrolle (Abbildung 80).

Octopamin: Es wurde 10⁻⁵ M bzw. 10⁻⁴ M Octopamin zusammen mit 10⁻⁵ M 5HT gegeben (Abbildung 80). Bei der niedrigeren Octopaminkonzentration war die Latenz gegenüber der Kontrolle stärker verkürzt als bei der höheren Octopaminkonzentration; beides ist statistisch nicht signifikant. Die Leuchtdauer war bei der niedrigeren Konzentration nicht verändert, bei der höheren Konzentration leuchteten die Tiere etwas länger als die Kontrolle (statistisch nicht signifikant). Octopamin alleine löste das Leuchten nicht aus (verwendete Konzentrationen: 10⁻⁶ bis 10⁻³ M 5HT Hämolymphkonzentration, jeweils n=8).

Ergebnisse - 161 -

3.3 Biolumineszenz in Fjord und Labor im Vergleich

Zwischen Juli 1997 und Mai 2005 wurden insgesamt neun Forschungsreisen nach Schweden unternommen, bei denen mit selbstkonstruierten Geräten verschiedene Parameter im Wasserkörper des Gullmarfjord gemessen werden sollten (Lichtklima, Temperaturverteilung, Extinktionsrate, Biolumineszenz, Filmaufnahmen unter Rotlicht). Bei drei Forschungsreisen wurden aufgrund von Gerätedefekten (verursacht durch Wassereinbrüche in die Meßsonden bzw. Beschädigung der Sonden durch einen Fischkutter) oder widrigen Umweltbedingungen (Sturm) keine Daten gewonnen. Die übrigen sechs Forschungsreisen erbrachten die im folgenden geschilderten Ergebnisse.

3.3.1 Lichtextinktion mit zunehmender Tiefe - Reichweite biolumineszenter Signale im Wasserkörper

Im September 1997 (19.9.) wurde mittels eines Licht-zu-Frequenzwandlers, der proportional zur einfallenden Lichtintensität eine Frequenz generiert, die Abnahme der Sonnenlichtintensität zur Mittagszeit (Sonne im Zenit) von der Wasseroberfläche bis in 100 Meter Tiefe gemessen. Aus den gemessenen Werten wurden zwei Eichkurven erstellt (Abbildung 81). Zur Zeit der Messung herrschte eine Secchi-Scheiben-Sichttiefe von 5 Metern und eine Oberflächenlichtintensität von 60000 Lux. Die Messungen wurden einmal mit einem Blaufilter und einmal mit einem Blaufilter und zusätzlich einem Neutralgraufilter vor dem Sensor (1:100) durchgeführt. Die kontinuierliche Abnahme der Messwerte ohne große Sprünge lässt drauf schließen, dass zum Messzeitpunkt keine optisch unterschiedlich dichten Schichten (z.B. höherer Trübungsgrad durch lehmführendes Regenwasser) vorhanden waren. Es wurde eine Wassertemperatur von 18,8°C an der Wasseroberfläche gemessen, welche auf 14,5°C in 40 Meter Tiefe und 7,45°C in 100 Meter Tiefe kontinuierlich abnahm. Es lag keine Sprungschicht vor. Die Lichtintensität im Blaubereich des Spektrums unter den herrschenden Bedingungen nimmt alle 12,5 Meter (nur Blaufilter) bzw. alle 11,26 Meter (Blaufilter und Neutralgraufilter) um den Faktor 10 ab.

Die Veränderungen der Lichtintensität im Spektrumsbereich von 485 bis 495 nm (blaues Licht) in 60 m Tiefe im Tagesverlauf relativ zur Oberflächenintensität wurde mittels einer Sonde gemessen (17.9.2002), deren Photomultiplier senkrecht im Wasserkörper angeordnet war und über einen Bandpassfilter verfügte (Chorion-Newport 470-490 nm 50% "Peak transmittance").

- 162 - Ergebnisse

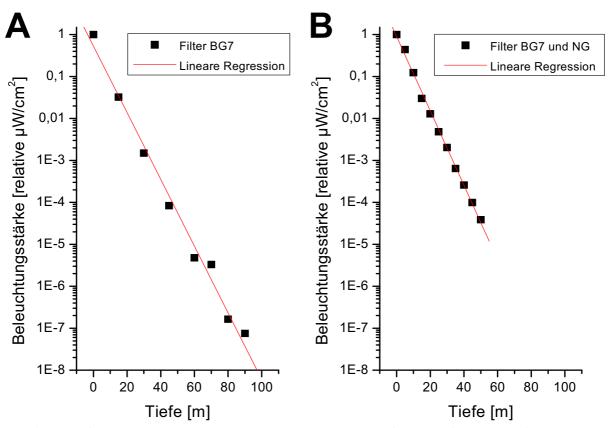


Abbildung 81. Extinktionskurven des Wassers des Gullmarfjords im September 1997. Beide Messungen wurden mit einem Licht-Frequenzwandler durchgeführt, der eine Frequenz proportional zur einfallenden Lichtintensität erzeugt. Bei allen Messungen wurde ein Blaufilter "BG7" vor den Sensor gesetzt, da die Reichweite von Licht im blauen Spektrumsanteil des Sonnenlichts im Wasserkörper bestimmt werden sollte. Bei einigen Messungen wurde zusätzlich ein Neutralgraufilter vor den Blaufilter gesetzt, um die hohe Intensität an der Wasseroberfläche abzuschwächen. [A] Bei der Messung mit Blaufilter ergab sich eine Regressionskurve mit einer Steigung von -0,08, woraus sich eine Abnahme der Lichtintensität um den Faktor 10 alle 12,5 Meter ergibt. [B] Bei der Messung mit Blaufilter und zusätzlichem Neutralgraufilter 1:100 ergab sich eine Regressionskurve mit einer Steigung von -0,088, woraus sich eine Abnahme der Lichtintensität um den Faktor 10 alle 11,36 Meter ergibt.

Zeitgleich wurde mit einem Licht-Spannungs-Wandler die Helligkeit an der Oberfläche aufgezeichnet. Eine genaue Eichung des mit dem Blaufilter ausgestatteten Photomultipliers war nicht möglich, da ein geeignetes Messgerät nicht zur Verfügung stand; die vorhandenen Licht-Spannungs- bzw. Licht-Frequenz-Wandler waren nicht sensitiv genug, um gemeinsam mit dem Blaufilter noch auswertbare Signale zu liefern. Die Ergebnisse dieser Messung sind in Abbildung 82 zu sehen. Die Abnahme der Lichtintensität wie durch die Messung vom September 1997 wurde bestätigt. Außerdem ist zu beobachten, dass jede Veränderung der Oberflächenhelligkeit 1:1 in der Tiefe wahrnehmbar ist; der Kurvenverlauf an der Oberfläche und in der Tiefe ist kaum unterscheidbar (Abbildung 83). Selbst der Wellengang an der Wasseroberfläche scheint vom Photomultiplier registrierbar zu sein (Abbildung 83). Im

Ergebnisse - 163 -

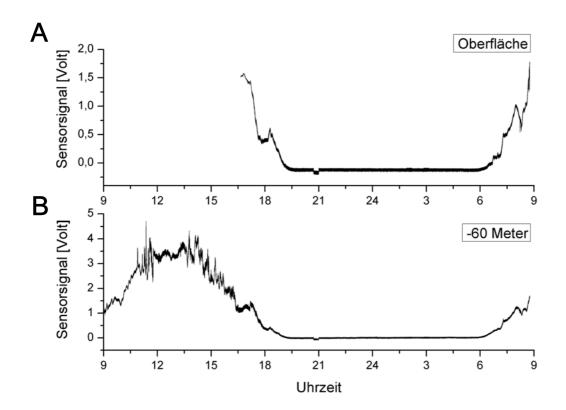


Abbildung 82. Messung der Veränderungen der Helligkeit im Tagesverlauf [A] an der Wasseroberfläche und in 60 Meter Tiefe [B]. Der Oberflächensensor war bei normalem Tageslicht in Sättigung und wurde erst bei Beginn der Dämmerung eingeschaltet. Der Photomultiplier der Sonde in 60 Metern Tiefe war mit einem Blaufilter ausgestattet und vertikal im Wasserkörper ausgerichtet, so dass von der Oberfläche kommendes Licht direkt auf die sensitive Fläche des Photomultipliers traf. Die Versorgungsspannung des PMT war so niedrig eingestellt, dass er auch gegen Mittag mit der Sonne im Zenit nicht in Sättigung ging; auf eine Eichung wurde verzichtet. Die kurzzeitige Absackung der Signale gegen 21 Uhr war durch einen Austausch des Hauptakkus der Messapparatur bedingt.

Vergleich der Helligkeitsänderungen ist anzunehmen, dass die gleichen Größenordnungen an der Oberfläche (Abbildung 84) und im Tiefenwasser auftreten dürften.

Um blaues Licht unterschiedlich stark absorbierende Schichten im Wasserkörper lokalisieren zu können, wurde ein Licht-Frequenz-Wandler zusammen mit einer blauen Leuchtdiode in ein Kunststoffrohr eingebaut, welches so konstruiert war, dass das Umgebungslicht keinerlei Einfluss auf den Wandler hatte, sondern dieser nur das Licht der Leuchtdiode wahrnahm (Abbildung 85). Wandler und Diode wurden gemeinsam vom durchfließenden Meerwasser umspült und waren so aufeinander abgestimmt, dass auch schwache Absorptionsunterschiede des Meereswassers registriert werden konnten. Messungen mit diesem Gerät zeigen, dass der Wasserkörper zum Messzeitpunkt ein relativ homogenes Absorptionsverhalten besitzt, welches sich nur im Bereich der zu diesem Zeitpunkt vorhandenen Sprungschicht ändert; die Schichten

- 164 - Ergebnisse

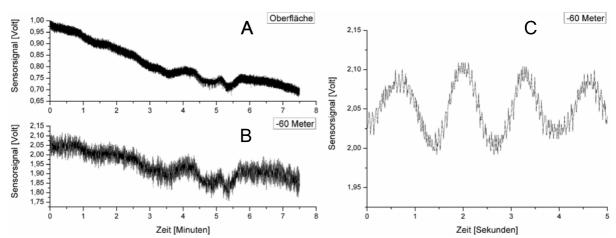


Abbildung 83. Ein kurzer Ausschnitt aus der Messung der Veränderungen der Helligkeit im Tagesverlauf an der Oberfläche [A] und in 60 Metern Tiefe [B], aufgezeichnet gegen 17 Uhr. Der Kurvenverlauf ist relativ ähnlich: Helligkeitsvariationen z.B. durch Wolken vor der Sonne wirken sich in der Tiefe genauso stark aus wie an der Oberfläche. [C] Eine 5 Sekunden lange Sequenz des Signals des Photomultipliers in 60 Metern Tiefe, aufgenommen gegen 17 Uhr (Ausschnitt aus [B]). Das Signal weist 0,8 Hz Schwingungen auf, deren Ursache nicht bekannt ist. Das Signal der Oberflächensonde weist es nicht auf. Es ist nur bei Tageshelligkeit registrierbar; seine Amplitude nimmt in der Dämmerung ab und es verschwindet mit Eintritt der Dunkelheit, wenn das Signal des Photomultipliers ins Grundrauschen übergeht. Eine mögliche Ursache könnte eine Pendelbewegung der Sonde in der Dünung sein. Das feine Rauschen stammt vom Digitalisierungsvorgang.

ober- und unterhalb der Sprungschicht sind sich relativ ähnlich (Abbildung 85). Trotz dieser leichten Wassertrübung im Bereich der Sprungschicht lässt sich für den Fjord unter windarmen und regenarmen Bedingungen eine fast lineare Abnahme der Lichtintensität von der Oberfläche bis zum Grund postulieren. Bei starkem Regen wird viel tonmineralienhaltiges Oberflächenwasser in den Fjord eingespült, welches oftmals eine starke Eintrübung der Oberflächenschicht bewirkt (eigene visuelle Beobachtung); unter diesen Bedingungen wurde allerdings keine Trübungsmessung durchgeführt.

Nach Boden und Kampa (1957) beträgt die Leuchtstärke von marinen biolumineszenten Signalen 1 x 10 ⁶μW/cm² bis 1,5 x 10⁻² μW/cm² mit einem mittleren Wert von 1,1 x 10⁻⁴μW/cm². Clarke und andere (1962) maßen bei *Meganyctiphanes norvegica* nach elektrischer Stimulierung Leuchtstärken pro Blitz von 0,04 x 10⁻⁵ μW/cm² bis 0,13 x 10⁻⁵ μW/cm² (in 15 cm Abstand). Krönström et al. (2009) geben für *Meganyctiphanes* nach Stimulation mit Pharmaka Leuchtstärken von 5 Teraquanten pro Quadratzentimeter pro Sekunde an (5*log 12 Quanten pro Sekunde pro Quadratzentimeter). Frank (2003) hat für das Auge von *Meganyctiphanes* eine Sensitivität von log 8 bis log 13 Quanten pro Quadratzentimeter pro Sekunde gemessen. Bei

Ergebnisse - 165 -

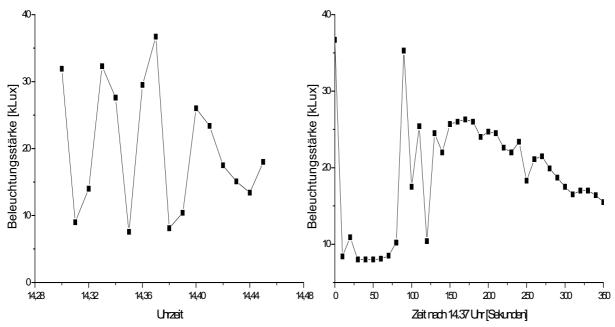


Abbildung 84. Beleuchtungsstärkeschwankungen bei leicht bedecktem Himmel mit einzelnem Wolkendurchgang. [A] Eine typische Viertelstunde an einem Nachmittag im September. Messwertabstand I Minute. In kurzer Zeit lassen sich große Veränderungen in der Beleuchtungsstärke feststellen, die im gewählten Ausschnitt zwischen 8.000 Lux und 36.700 Lux liegen, also beim ca. 4,5 fachen. [B] Ein Ausschnitt von 6 Minuten aus [A], beginnend um 14.37 Uhr. Messwerte im Abstand von 10 Sekunden.

einer Abschwächung des Lichts im Meereswasser auf ungefähr 0,001 alle 30 Meter (grob gerundete "Daumenregel") beträgt die Entfernung, nach der sich Krill anhand der eigenen Biolumineszenz im Fjordwasser finden könnte, geschätzt ca. (über) 30 Meter, die anderer biolumineszenter Organismen im angegebenen Größenbereich ca. 40 Meter. Dieses entspricht einem Wasservolumen von ca. 14000 bzw. ca. 33000 m³.

3.3.2 Messungen von Biolumineszenz im Freiwasser des Gullmarfjords

Mittels Seekarte mit Tiefenangaben des Gullmarfjords wurde eine Uferstelle ausgesucht, die relativ nah an der tiefsten Stelle des Fjords liegt und gut zugänglich ist. Diese wurde an der Ostseite nahe Fossen gefunden (Abbildung 22). Vorteilhafterweise befindet sich eine kleine, durch Felsen geschützte Wiese zum Zeltaufbau, sodass die Versuchsgeräte untergestellt werden können, und eine kleine Bucht mit Sandstrand für ein Ruderboot, am Ufer. Außerdem sind in den Felsen große Metallösen eingelassen, die als Befestigungen für die Zugentlastungen der Kabel dienen konnten. Über einen ca. 300 m langer Trampelpfad gelangt man von der Straße ohne Nutzung eines Bootes zur Untersuchungsstelle (z.B. um Batterien zu tauschen oder

- 166 - Ergebnisse

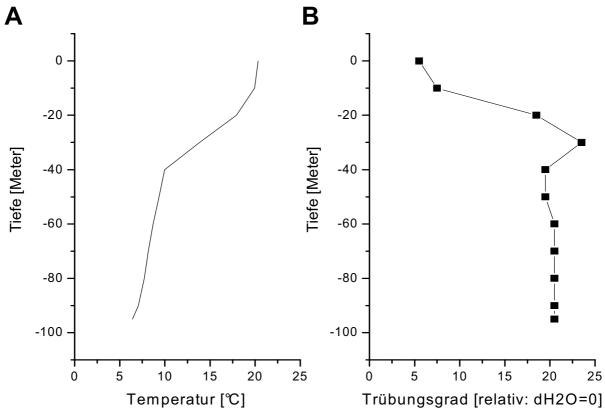


Abbildung 85. Messung von [A] Wassertemperatur und [B] Trübungsgrad des Wassers bzw. Absorption von blauem Licht in Abhängigkeit von der Wassertiefe im Gullmarfjord im Juli 2005 (Lufttemperatur: 29 °C). Die Wassertemperatur nimmt in der oberflächennahen Schicht nur langsam ab, um dann ab einer Tiefe von 10-20 Metern von ca. 20°C relativ schnell auf eine Temperatur von ca. 10°C in 40 Metern Tiefe zurückzugehen. Die Temperatur nimmt dann langsam weiter ab bis auf 6,4 °C am Grunde des Fjords. Die Abschwächung von blauem Leuchtdiodenlicht im Fjordwasser zeigt einen sehr ähnlichen Verlauf: an der Oberfläche ist das Wasser am klarsten. Ab 10 Meter Tiefe wird es schnell trüber mit dem höchsten Trübungsgrad in 30 Metern Tiefe. Dann wird es wieder ein wenig klarer, und verändert seinen Trübungsgrad bis zum Grunde des Fjords kaum noch.

Aufzeichnungen zu starten bzw. zu beenden). Ca. 100 m vom Ufer entfernt ist der Fjord tief genug, um Sonden bis in über 90 m Tiefe positionieren zu können. Laut Sonaraufzeichnungen (Abbildung 86) sind die mobilen Schichten im Fjordplankton, die einen Großteil der Krillpopulation enthalten dürften, auch in Ufernähe.

Im September 2002, im September und Oktober 2003, im Dezember 2003, im September und Oktober 2004 sowie im April 2005 konnte mit Sonden, die über Photomultiplier verfügen, während insgesamt 21 Nächten im Freiwasser biolumineszente Ereignisse zwischen 20 und 75 Meter Tiefe aufgezeichnet werden (Tabelle Anhang). Die Sonden waren jeweils von der Abenddämmerung bis zur Morgendämmerung aktiv, bzw. die Aufzeichnungen begannen, wenn die Photomultiplier aus der Sättigung durch zu hohe Umgebungshelligkeit herauskamen

Ergebnisse - 167 -

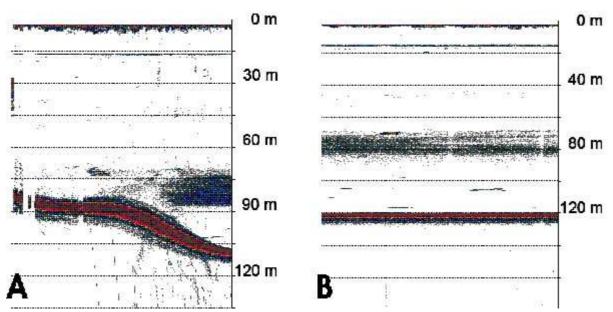


Abbildung 86. Sonaraufzeichnungen (Simrad EK60 120 kHz) vom Gullmarfjord, aufgezeichnet am 11. 4. 2005 vormittags zwischen 9 und 10 Uhr. Geschwindigkeit des Schiffes nicht bekannt. **[A]** Uferregion nahe der Untersuchungsregion für die Sondenaufzeichnungen. **[B]** Tiefste Stelle des Gullmarfjord (ca. 200 m westwärts von [A] gelegen), an der gewöhnlich Krill gefangen wird. In ca. 15 m Tiefe ist die Sprungschicht, durch eine leicht erhöhte Konzentration von Plankton erkennbar. Zwischen 70 und 90 m Tiefe ist ein Großteil des mobilen Planktons (=führt tageszeitliche Vertikalwanderung aus) konzentriert. Am Ufer trifft die planktonreiche Schicht auf den Fjordgrund.

und endeten, wenn sie wieder in Sättigung gingen. Da zeitweilig mehr als eine Sonde zeitgleich in verschiedenen Tiefen aufzeichneten, wurden insgesamt 40 auswertbare Datensätze gewonnen, die einer Gesamtaufzeichnungsdauer von ungefähr 602 Stunden bzw. 25 Tagen entsprechen. Dabei wurden insgesamt 73.436 Leuchtereignisse registriert.

3.3.3 Beschreibung einer einzelnen Aufzeichnung

Die über Nacht erfolgten Daueraufzeichnungen zeigen einen charakteristischen Verlauf (Abbildung 87): Mit dem Beginn der Dämmerung kommen die Photomultiplier aus dem Sättigungsbereich ihrer Empfindlichkeit heraus, und von Anfang an sind Leuchtereignisse erkennbar. Mit der Zeit gehen die Aufzeichnungen ins Dunkelrauschen der Photomultiplier-Basislinie über; mit Beginn der Morgendämmerung steigt die Grundkurve der Photomultiplier wieder an, bis sie erneut in Sättigung gehen. Dämmerung bedeutet hier, dass schon lange bevor die Sonne über den Horizont kommt, die Photomultiplier in Sättigung gehen.

- 168 - Ergebnisse

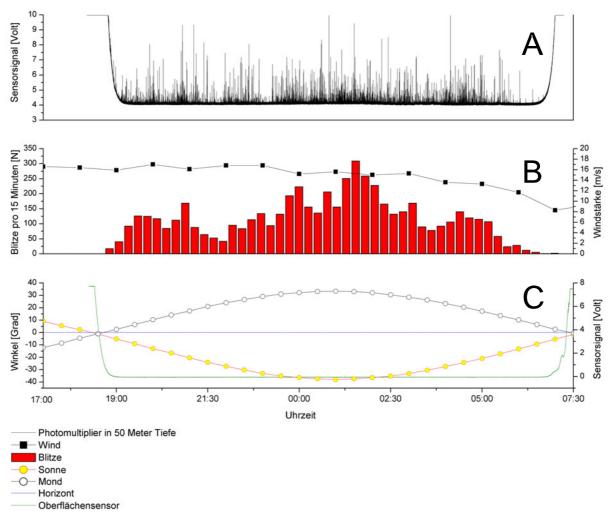


Abbildung 87. Beispiel für eine Aufzeichnung einer Sonde im Fjord am 10.10. 2003, sowie deren Auswertung. [A] Rohdatenaufnahme einer gut dreizehnstündigen Aufzeichnung eines Photomultipliers in 50 Meter Tiefe. Schon während der Photomultiplier bei Sonnenuntergang aus der Sättigung durch das Umgebungslicht herauskommt, sind erste Blitze registrierbar, die als einzelne schwarze vertikale Striche angedeutet sind. Die gesamte Nacht über bis zur Morgendämmerung sind Leuchtereignisse vorhanden. [B] Auswertung der Anzahl der Leuchtereignisse in Intervallen von 15 Minuten Länge (rote Balken) sowie die durchschnittliche Windstärke während der Aufzeichnung (Durchschnittswerte für jeweils 60 Minuten). [C] Die Winkel von Sonne und Mond (zur Zeit der Aufnahme herrschte fast Vollmond) während der Aufzeichnungsdauer, sowie die reale, mit einem Sensor an der Oberfläche gemessene Helligkeit (grüne Linie) während der Aufzeichnung. Der Sensor war zu schwach zur Messung des Mondlichts. Sonnenuntergang war um 18.23 Uhr, Sonnenaufgang um 07.35 Uhr.

Biolumineszente Ereignisse sind als einzelne Ausschläge unterschiedlicher Stärke und Dauer registrierbar. Diese wurden in Viertelstundenintervallen ausgezählt und nach Form und temporärem Verlauf in Kategorien eingeteilt (s.u.). Manche Aufzeichnungen bei Vollmond im

Ergebnisse - 169 -

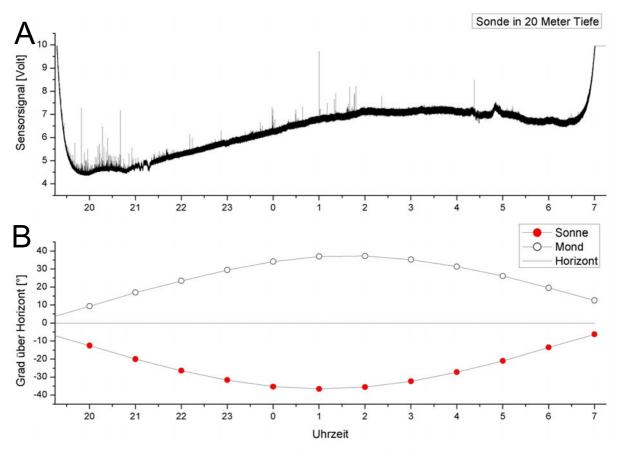


Abbildung 88. Messung in 20 Meter Tiefe am II.10.2003. An diesem Tag herrschte Vollmond. [A] Sondensignal. [B] Winkel von Sonne und Mond relativ zum Horizont am Gullmarfjord. Eine Sonde in 20 Metern Tiefe registrierte die zunehmende und wieder abnehmende Helligkeit durch das Mondlicht sowie die Helligkeitsveränderungen während Abend- bzw. Morgendämmerung. Trotz der Umgebungshelligkeit ist die Sonde in der Lage, einzelne Leuchtereignisse zu registrieren.

Flachwasser zeigen eine Veränderung der Basislinie im Verhältnis zur Mondhelligkeit (Abbildung 88).

3.3.4 Anzahl Blitze pro Stunde

Vergleicht man die Anzahl von Blitzen pro Stunde Aufzeichnungsdauer (Abbildung 89), fällt auf dass bei drei von vier Messfahrten in flacheren Schichten mehr Blitze registriert wurden als in tieferen Schichten des Gullmarfjords. Eine Ausnahme bildet der Herbst 2003, wo in 75 Metern Tiefe mehr Blitze registriert wurden als in 50 Metern Tiefe (eine Messung in flacherem Wasser liegt von dieser Forschungsreise nicht vor). Im Herbst 2002 wurden in 60 Metern Tiefe 23,0±26,5 Blitze pro Stunde (4 Nächte) gemessen und in 20 Metern Tiefe 153,1±136,8 Blitze pro Stunde (2 Nächte). Im Herbst 2003 wurden in 75 Metern Tiefe 391,6±188,9 Blitze pro

- 170 - Ergebnisse

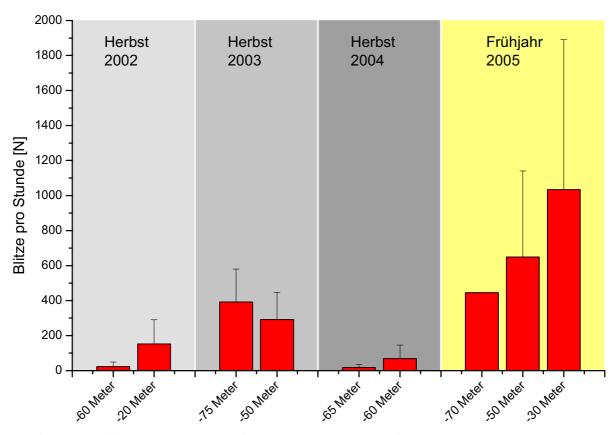


Abbildung 89. Blitze pro Stunde zu verschiedenen Jahreszeiten in unterschiedlichen Tiefen des Gullmarfjords. Im Herbst 2002 und 2004 wurde in größeren Tiefen eine niedrigere Anzahl von Blitzen pro Zeiteinheit gefunden, im Herbst 2003 war es umgekehrt. Im Frühjahr 2005 wurde eine wesentlich höhere Aktivität bei der Biolumineszenz als im Herbst gemessen, und in flacheren Schichten eine höhere als in tieferen Schichten des Fjordwasserkörpers.

Stunde (2 Nächte) gemessen und in 50 Metern Tiefe 291,4±156,1 pro Stunde (2 Nächte). Im Herbst 2004 wurden in 65 Metern Tiefe (6 Nächte) 17,4±17,9 und in 60 Metern Tiefe 68,4±78,4 Blitze pro Stunde (19 Nächte) registriert. Im Frühjahr 2005 wurden in 70 Metern Tiefe 445,1±0, Blitze pro Stunde (1 Nacht) in 50 Metern Tiefe 648,7±492,6 Blitze pro Stunde (3 Nächte) und in 30 Metern Tiefe 1033,4±856,9 Blitze pro Stunde (4 Nächte) gemessen. Die Bandbreite geht dabei von weniger als 20 Blitzen pro Stunde in 60 Metern Tiefe im Herbst bis zu über 2000 Blitzen pro Stunde im Frühjahr in 30 Metern Tiefe.

3.3.5 Verteilung der Blitze im Verlauf der Nacht

Vergleicht man die Anzahl der Blitze pro Viertelstunde über den Verlauf einer Aufzeichnung im Herbst (Abbildung 90) bzw. im Frühjahr (Abbildung 91), ist kein regelhafter Rhythmus, wie z.B. verstärkte Aktivitäten zu bestimmten Zeiten, erkennbar. In allen Aufzeichnungen sind

Ergebnisse - 171 -

Tabelle 6: Durchschnittliche Anzahl von Blitzen pro Stunde im Gullmarfjord zu verschiedenen Jahreszeiten und in verschiedenen Tiefen

Jahreszeit	Tiefe [m]	Anzahl	Durchschnittlich	Standard- abweichung	
		Aufzeichnungen über	e Anzahl von		
		Nacht in der	Blitzen pro		
		jeweiligen Tiefe [N]	Stunde [N/h]		
Herbst 2002	-60	4	23	26,55	
Herbst 2002	-20	2	153,09	136,84	
		I			
Herbst 2003	2003 -75		391,64	188,92	
Herbst 2003	-50	2	291,36	156,09	
11 1 2004			17.20	17.07	
Herbst 2004	-65	6	17,39	17,97	
Herbst 2004	-60	19	68,43	78,36	
		<u> </u>			
Frühjahr 2005	-70	I	445,11	0	
Frühjahr 2005	-50	3	648,67	492,66	
Frühjahr 2005	-30	4	1.033,39	856,93	

Phasen mit wenig und solche mit stärkerer Aktivität zu verzeichnen. Diese sind aber von Aufzeichnung zu Aufzeichnung zu unterschiedlichen Uhrzeiten zu beobachten, auch wenn die Aufzeichnungen in der selben Tiefe an aufeinander folgenden Tagen stattfanden. Besondere Aktivitäten nach Sonnenuntergang sind nicht feststellbar. In einer Reihe von Aufzeichnungen herrscht nach Sonnenuntergang eine Phase mit wenig Leuchtereignissen. Die Anzahl der Blitze nimmt dann im Verlaufe der Nacht zu und kann dabei mehrfach ansteigen und wieder abnehmen. Bei einigen Aufzeichnungen nimmt die biolumineszente Aktivität zur Morgendämmerung hin wieder ab, bei einigen ist aber kurz vor der Morgendämmerung eine erhöhte Anzahl von Leuchtereignissen registriert worden.

- 172 - Ergebnisse

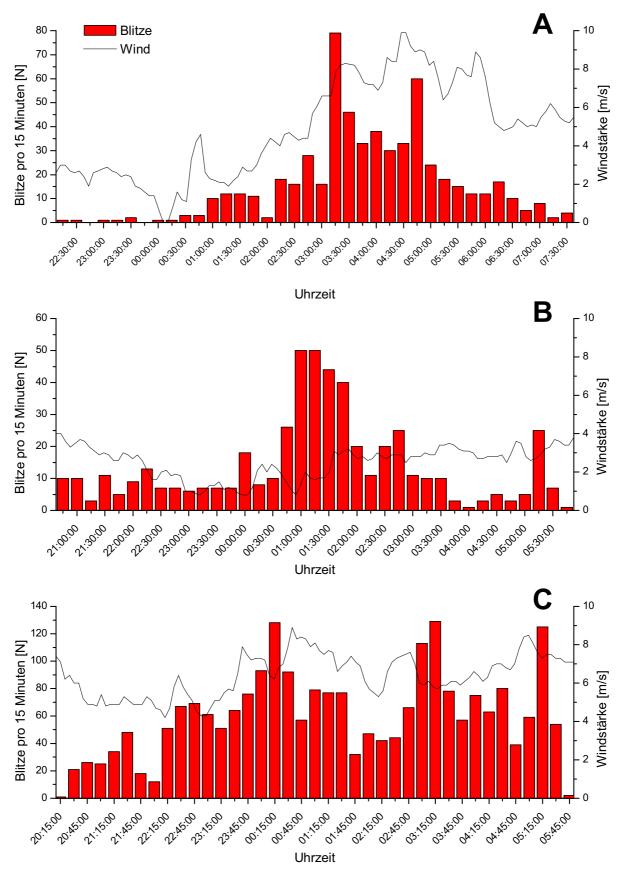


Abbildung 90. Anzahl Blitze pro 15 Minuten im Vergleich zur Windstärke (Messung alle 5 Minuten in Meter pro Sekunde an der 5 km entfernten Station) im Herbst 2002 an drei aufeinander folgenden Tagen in verschiedenen Tiefen. [A] 60 Meter Tiefe [B] und [C] 20 Meter Tiefe. (Weitere Erläuterungen in der Legende der Abbildung 91.)

Ergebnisse - 173 -

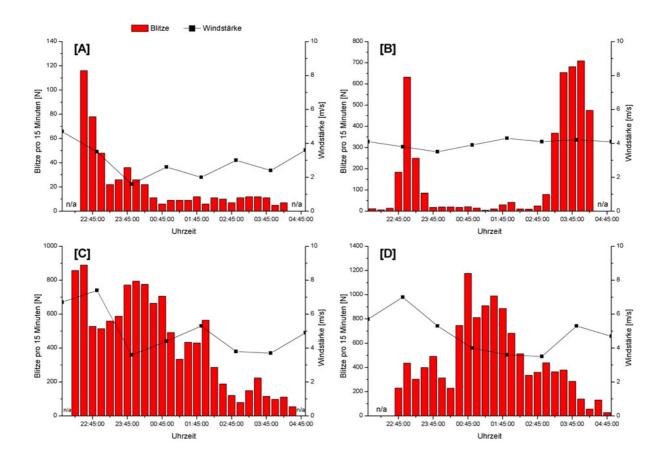


Abbildung 91. Vier Aufzeichnungen der gleichen Sonde in vier aufeinanderfolgenden Nächten in einer Tiefe von 30 Metern im April 2005. Es ist kein Muster erkennbar, weder wird regelmäßig nach Sonnenuntergang, noch vor Sonnenaufgang, oder irgendwann in der Nacht in allen vier Aufzeichnungen synchron geblitzt. Auch ist keine Korrelation zur Windstärke und damit zum Wellengang ersichtlich. Die Anzahl der Blitze ist sehr unterschiedlich: während in der ersten Nacht maximal ungefähr 100 Blitze in einer Viertelstunde registriert wurden, sind es in den darauf folgenden Nächten bis zu zehnmal so viele. In der ersten Nacht gab es eine gehäufte Aktivität nach Sonnenuntergang, die schnell abfiel, und auf sehr niedrigem Niveau die restliche Nacht über anhielt. In der zweiten Nacht gab es ebenfalls eine nach Sonnenuntergang stark ansteigende Aktivität, die für ungefähr eine Stunde anhielt, und dann stark abnahm. Es folgte eine erneute starke Aktivität zum Morgen hin. In der dritten Nacht ist eine hohe Aktivität über zwei Drittel der Nacht vorhanden, die zum Morgen hin abnimmt. In der vierten Nacht wurde wenig Aktivität nach Sonnenuntergang registriert, die gegen Mitternacht zunahm und zum Morgen hin wieder abnahm. Diese relativen Zu- und Abnahmen in einer Nacht zeigen kein eindeutiges wiederkehrendes Muster. Eine relativ niedrigere Aktivität in einer Nacht ist im Verhältnis zu einer hohen Aktivität in einer anderen Nacht nur relativ zu sehen, nicht in absoluten Zahlen: Eine niedrige Aktivität in der vierten Nacht ist immer noch mit wesentlich mehr Leuchtereignissen verbunden als die hohe Aktivität in der ersten Nacht. Die Windstärke wurde nicht am Ort der Messung, sondern an einer Wetterstation einige Kilometer entfernt bestimmt; sie wurde stündlich einmal gemessen. N/A: nicht anwendbar / keine vorliegenden Meßwerte.

- 174 - Ergebnisse

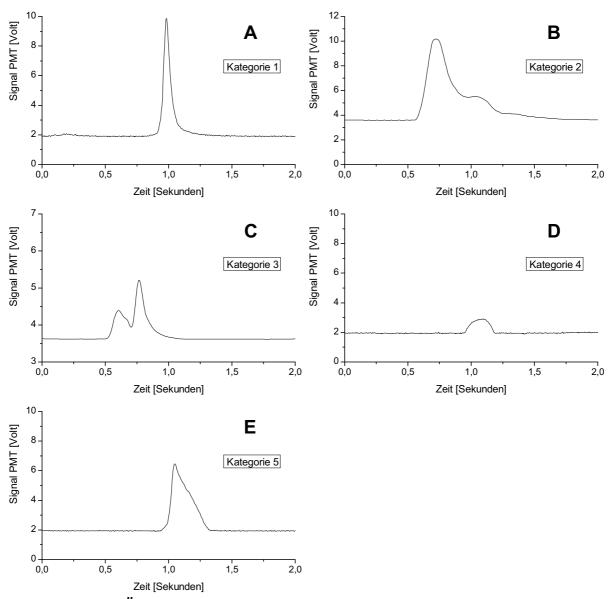


Abbildung 92. Übersicht über die verschiedenen Kategorien, in welche die gefundenen Blitzformen im Freiwasser des Gullmarfjords eingeordnet wurden. [A] Kategorie 1: kurze, kräftige Blitze mit starken Anstiegs- und Abfallsraten. [B] Kategorie 2: mehrgipflige Leuchtereignisse, bei denen der erste Gipfel die größte Amplitude besitzt. [C] Kategorie 3: mehrgipflige Leuchtereignisse, bei denen der erste Gipfel nicht die stärkste Amplitude aufweist. [D] Kategorie 4: Leuchtereignisse mit gleichförmigen, langsamen Anstiegsund Abfallraten, "halbkugelförmig" und ohne Spitzen. [E] Kategorie 5: Leuchtereignisse mit starkem Anstieg aber langsamen Abfall und ohne Spitzen. Die Kategorie 6 (ohne Abbildung) beinhaltet alle Blitze, die nicht in die übrigen fünf Kategorien einsortiert werden konnten.

Bei der Durchführung der Messungen wurden keine weiteren Parameter wie z.B. die Windgeschwindigkeit und der Wellengang aufgezeichnet. Anhand der Daten der meteorologischen Station in Kristineberg, die ca. 5 Kilometer Luftlinie vom Meßort entfernt

Ergebnisse - 175 -

Tabelle 7. Übersicht über die Häufigkeitsverteilung und der Dauer von Blitzen in den 6 Kategorien (siehe Abbildung 92).

Kategorie	Prozentuale Verteilung 9586 kategorisierter Blitze [%]	Anzahl Blitze [N] deren Dauer bestimmt wurde	Durchschnittliche Dauer [Sekunden]	Standard- abweichung [Sekunden]
I	43,97	2411	0,357	0,544
2	9,92	193	2,376	3,184
3	7,99	106	2,250	2,361
4	12,96	577	0,898	0,998
5	18,46	401	1,125	1,949
6	6,7	63	1,181	0,877

liegt, sowie der Daten einer meteorologischen Station des schwedischen Wetterdienstes auf einer dem Fjord vorgelagerten Insel wurde versucht, eine eventuelle Korrelation der Blitzanzahl von der Windstärke zu bestimmen. Problematisch ist dieses durch die große Entfernung vom Meßort. Dennoch scheinen bei höherer Windgeschwindigkeit mehr Leuchtereignisse registriert zu werden als an Tagen mit niedrigerer Windgeschwindigkeit.

3.3.6 Einteilung der Leuchtereignisse in Kategorien

Nach einer ersten Analyse der auftretenden Blitzformen wurden 6 Kategorien gebildet, die eine (grobe) Einteilung der Leuchtereinnisse ermöglicht (Abbildung 92): Kategorie 1 entspricht eingipfligen, kurzen Blitzen, die relativ schnell abfallen. Die Kategorien 2 und 3 beinhalten doppel- und mehrgipflige Blitze, bei denen der erste (2) bzw. der spätere (3) Gipfel einer höheren Leuchtstärke (größere Amplitude des elektrischen Signals des Photomultipliers) gegenüber den anderen Gipfeln entspricht. Diese drei ersten Kategorien zeichnen sich oftmals durch spitze Gipfel und entsprechend starke Flanken aus. Kategorie 4 dagegen entspricht einer eher graduierten Leuchtstärke zu- und Abnahme ohne starke temporäre Veränderungen und ohne herausstechende Gipfel; sie sind im allgemeinen sehr schwach mit äußerst kleinen Amplituden. Kategorie 5 hat bezüglich der Anstiegssteilheit des Signals Ähnlichkeiten mit der

- 176 - Ergebnisse

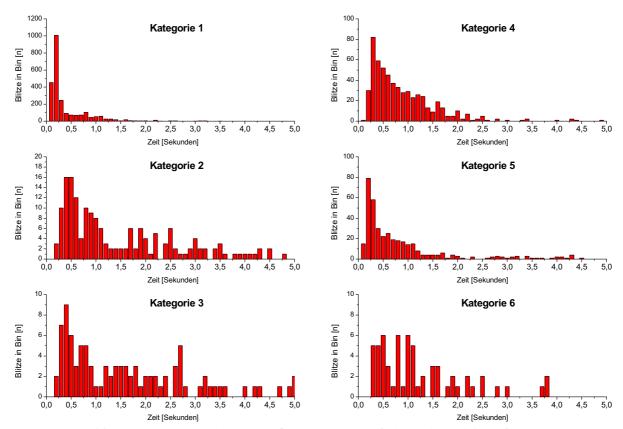


Abbildung 93. Dauer der Blitze der 6 Kategorien (Binweite 100 ms). Nachdem eine größere Anzahl von Blitzen kategorisiert worden war, wurde ihre Dauer bestimmt und in Bins von 100 ms Dauer im Bereich 0 bis 5 Sekunden aufgetragen. Es zeigt sich, dass die einzelnen Kategorien in sich noch sehr unterschiedlich sind, wobei die Kategorie I am homogensten ist.

Kategorie 1, unterscheidet sich von dieser aber hinsichtlich des eher langsamen Abfalls und des Fehlens eines sehr starken Peaks am Anfang, was diese Blitzformen an eine Raute bzw. ein Parallelogramm erinnern lassen kann. Kategorie 6 schließlich beinhaltet alle Leuchtereignisse, die nicht zweifelsfrei einer der anderen Kategorien zugewiesen werden konnten. Dabei handelt es sich vor allem um sehr schwache Signale, die nur wenig aus dem Grundrauschen heraustraten. Viele beobachtete Leuchtereignisse stellen auch Übergänge zwischen den einzelnen Kategorien dar, oder scheinen aus mehreren Einzelkategorien zusammengesetzt zu sein. Daher sind die Kategorien mit einer gewissen Skepsis zu betrachten. Eine weitere Unterteilung der Kategorien nach Amplitude wurde nicht unternommen, da die Amplitude wenig Aussagekraft besitzt: weder die wahre Leuchtstärke noch die Entfernung und der Einstrahlwinkel des Emittenten von der Sonde sind bekannt.

Die Dauer von insgesamt 9586 Blitzen (s.u.) in den einzelnen Kategorien wurde vermessen, um zu sehen, ob die Kategorien homogene Einheiten darstellen oder nicht (Abbildung 93, Tabelle 7). Es ist zu beachten, dass hier wie bei der Amplitude der Blitze natürlich durch die

Ergebnisse - 177 -

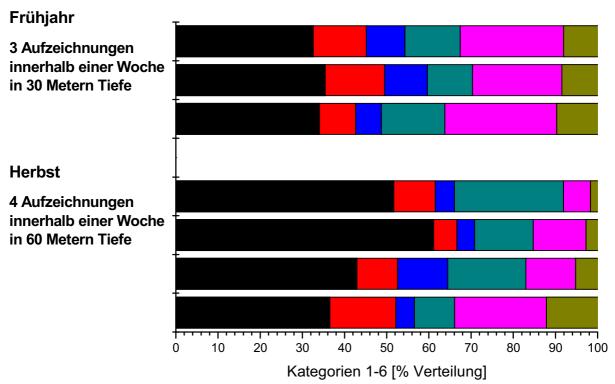


Abbildung 94. Vergleich der Variabilität in der Anzahl der einzelnen Leuchtereignisse in den 6 Kategorien in aufeinander folgenden Messungen in der gleichen Tiefe zu verschiedenen Jahreszeiten. Die drei Aufzeichnungen im Frühjahr in 30 Metern Tiefe zeigen eine größere Homogenität als die vier Aufzeichnungen im Herbst in 60 Meter Tiefe. Kategorie 1: schwarz. Kategorie 2: rot. Kategorie 3: blau. Kategorie 4: grün. Kategorie 5: rosa. Kategorie 6: braun.

Signalstärke und die Entfernung der gleiche Blitz eine unterschiedliche Dauer haben kann, da er an der Basis schmaler werden kann. Nur ein Teil der Blitze wurde vermessen. Die meisten Blitze der Kategorie 1 leuchten sehr kurz, weniger als eine halbe Sekunde lang; es kommen jedoch auch einige Blitze mit einer Dauer bis zu über zwei Sekunden vor (längster: 10,8 Sekunden). Die Blitze der Kategorie 2 sind am häufigsten ungefähr 0,5 Sekunden lang, es gibt aber auch viele, die ca. 1 Sekunde lang sind, und eine größere Anzahl ist noch länger (längster Blitz: 20,1 Sekunden). Bei den Blitzen der Kategorie 3 dauern die meisten wie bei Kategorie 2 um 0,5 Sekunden (längster Blitz: 12,7 Sekunden). Die beiden Kategorien 2 und 3 unterscheiden sich allerdings hinsichtlich des zweiten Maximums: bei Kategorie 2 liegt es wie schon beschrieben bei ca. 1 Sekunde, bei Kategorie 3 hingegen bei 0,75 Sekunden; 1 Sekunde lange Blitze kommen bei Kategorie 3 kaum vor. Es gibt auch in Kategorie 3 viele Blitze, die länger sind; bei etwas über 2,5 Sekunden Dauer gibt es ein weiteres Maximum in der Verteilung. Die Kategorie 4 hat ein Maximum in der Verteilung bei 0,3-0,4 Sekunden, welches dann bis 3 Sekunden Dauer annähernd exponentiell abfällt. Es gibt aber auch einzelne Blitze, die länger sind (längster Blitz: 14,7 Sekunden). Die Kategorie 5 hat ein Maximum bei 0,25

- 178 - Ergebnisse

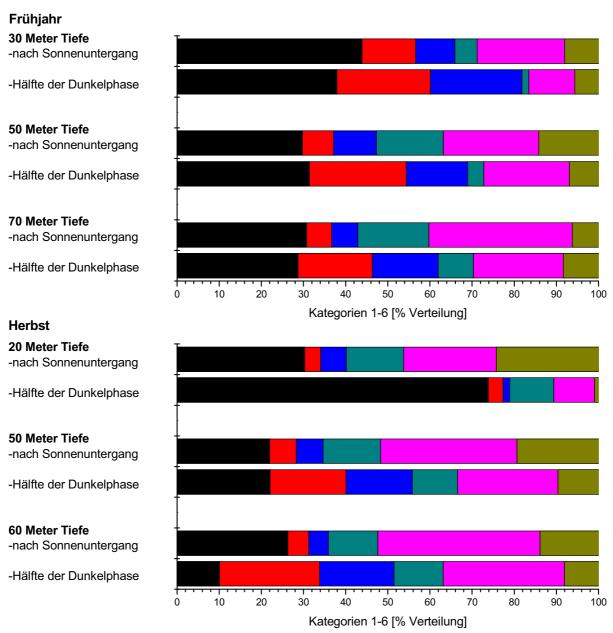


Abbildung 95. Vergleich der prozentualen Anteile der einzelnen Blitzkategorien in Abhängigkeit von Jahreszeit und Tiefe sowie der Aufzeichnungsuhrzeit. Es ist zu beachten, dass jede der hier aufgeführten Messungen nur einmal vorgenommen werden konnte (N=1). Kategorie 1: schwarz. Kategorie 2: rot. Kategorie 3: blau. Kategorie 4: grün. Kategorie 5: rosa. Kategorie 6: braun.

Sekunden Dauer, die meisten Blitze sind bis zu 1,5 Sekunden lang, einige sind aber auch länger (längster Blitz: 16,6 Sekunden). Die Blitze der Kategorie 6 zeigen kein wirklich charakteristisches Verteilungsmuster, sie sind zwischen 0,25 und 3,85 Sekunden lang.

Einige der Aufzeichnungen wurden anhand der Kategorien klassifiziert, wobei mindestens 100 aufeinander folgende (meistens 200-300) Leuchtereignisse ausgewertet wurden (außer bei

Ergebnisse - 179 -

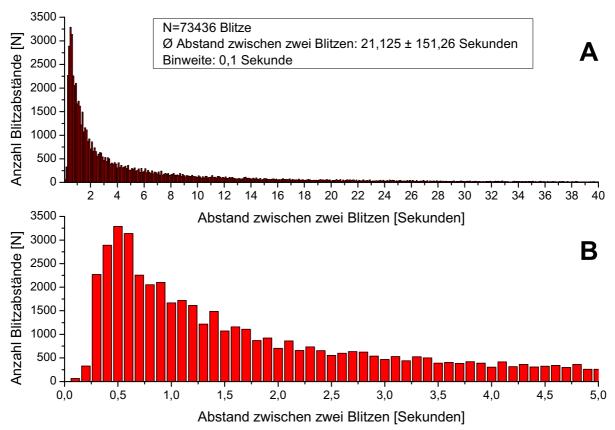


Abbildung 96. Statistische Auswertung der Abstände aufeinander folgender Blitze. [A] Histogramm aller Blitzabstände bis 40 Sekunden, in [B] bis 5 Sekunden. Der Durchschnitt aller Abstände beträgt 21,125 Sekunden mit einer Standardabweichung von 151, 26 Sekunden. Die meisten Blitze haben einen Abstand zueinander von ca. 0,5 Sekunden.

Aufzeichnungen, die insgesamt weniger Leuchtereignisse aufwiesen) (Tabelle 7). Insgesamt wurden 9586 Leuchtereignisse kategorisiert. Durchschnittlich fallen die meisten Leuchtereignisse (43,97%) in Kategorie 1, Kategorie 2 und 3 sind mit 9,92% bzw. 7,99% ungefähr gleichhäufig. Kategorie 4 mit 12,96% und Kategorie 5 mit 18,46% kommen häufiger vor. 6,7% aller kategorisierten Blitze konnten keiner der Kategorien 1-5 zugewiesen werden (Kategorie 6). Vergleicht man diese Durchschnittswerte mit den zu verschiedenen Jahreszeiten und in unterschiedlichen Tiefen auftretenden Werten, kann eine teilweise große Variabilität festgestellt werden.

Vergleicht man die Verteilung der prozentualen Anteile der einzelnen Blitzkategorien in Abhängigkeit von Jahreszeit und Tiefe an aufeinander folgenden Tagen, zeigt sich eine relativ große Ähnlichkeit (Abbildung 94 [Frühjahr]). Im Frühjahr in 30 Metern Tiefe fallen die meisten Blitze in die Kategorie 1, am zweithäufigsten ist die Kategorie 5. Die größten Schwankungen gibt es in den Kategorien 2 und 3, deren Anzahl sich innerhalb eines Tages fast halbieren kann. Dafür nehmen die Kategorien 4 und 5 relativ zu.

- 180 - Ergebnisse

Tabelle 8. Prozentuale Verteilung der Blitzabstände aufeinander folgender Blitze im Bereich 0 bis 10 Sekunden in I-Sekunden-Intervallen zu verschiedenen Jahreszeiten in verschiedenen Tiefen; zum Vergleich die Werte für alle gemessenen Blitze (Durchschnitt).

Abstand [s]	0-1,0	1,1-2,0	2,1-3,0	3,1-4,0	4,1-5,0	5,1-6,0	6,1-7,0	7,1-8,0	8,1-9,0	9,1-10,0
Frühjahr										
-30 Meter	53,05	19,03	10,42	6,22	3,99	2,45	1,78	1,42	0,99	0,66
-50 Meter	25,96	17,83	15,23	8,47	7,68	6,45	5,62	4,9	4,25	3,6
-70 Meter	27,92	20,26	12,84	9,22	7,88	6,37	4,96	4,26	3,22	3,06
Herbst										
-60 Meter	11,74	19,03	12,55	11,34	9,72	6,88	8,1	10,12	5,26	5,26
-60 Meter	6,82	31,16	13,2	10,39	8,9	7,86	7,72	5,04	5,04	3,86
-60 Meter	16,37	25,78	11,67	8,93	8,82	7,31	5,9	5,05	5,84	4,33
-75 Meter	15,75	15,85	14,02	11,08	9,55	8,64	6,71	5,28	7,22	5,89
-50 Meter	1,1	35,83	12,01	12,29	8,83	7,51	7,26	6,01	4,47	4,69
-20 Meter	19,12	22,74	14,19	9,49	8,04	5,87	6,3	4,56	5,65	4,06
Alle Blitze	36,28	21,47	11,44	7,77	5,88	4,74	3,95	3,25	2,89	2,32

Im Herbst in 60 Metern Tiefe ist die Variabilität wesentlich ausgeprägter (Abbildung 94 [Herbst]). Die Blitze der Kategorie 1 sind dominant vorhanden und können bis zu 60% aller Leuchtereignisse ausmachen, innerhalb von zwei Tagen aber auf 35% Anteil zurückgehen. Gleiches gilt für die übrigen Kategorien: Ihr Anteile verändern sich innerhalb der vier Tage, für die Daten vorliegen, ebenfalls stark.

Vor diesem Hintergrund ergibt sich die Frage, ob ein Vergleich nach Kategorien sinnvoll ist, wenn nur einzelne Datensätze vorhanden sind. Vergleicht man die Verteilung der prozentualen Anteile der einzelnen Blitzkategorien in Abhängigkeit von Jahreszeit und Tiefe innerhalb einer einzelnen Aufzeichnung nach Sonnenuntergang und zur Nachthälfte (Abbildung 95), zeigen sich schon hier sehr große Unterschiede und Veränderungen innerhalb sehr kurzer Zeiträume. Für eine Untersuchung hinsichtlich wiederkehrender Muster liegen nicht genügend Datensätze vor.

Ergebnisse - 181 -

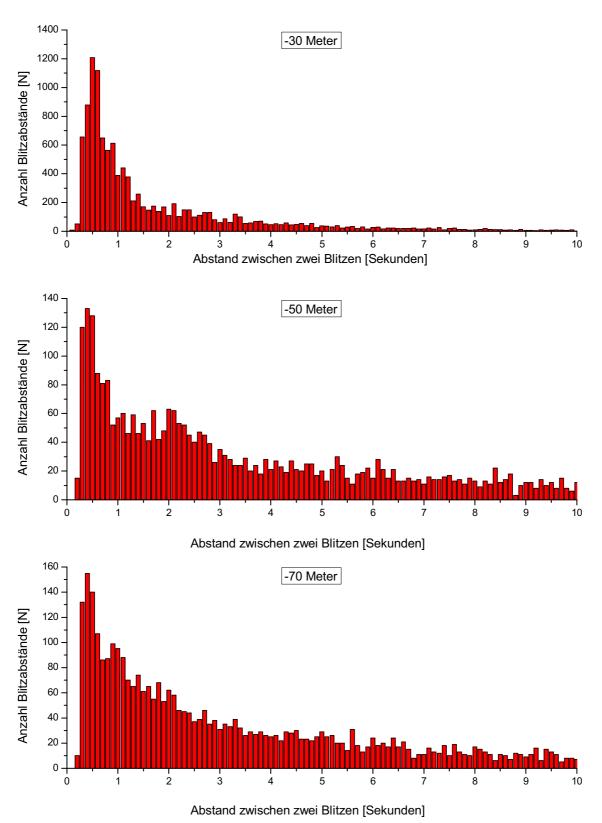


Abbildung 97. Die Abstände zweier aufeinander folgender Blitze bei Messungen im Frühjahr 2005 in unterschiedlichen Tiefen des Gullmarfjords. Bin-Weite 100 ms.

- 182 - Ergebnisse

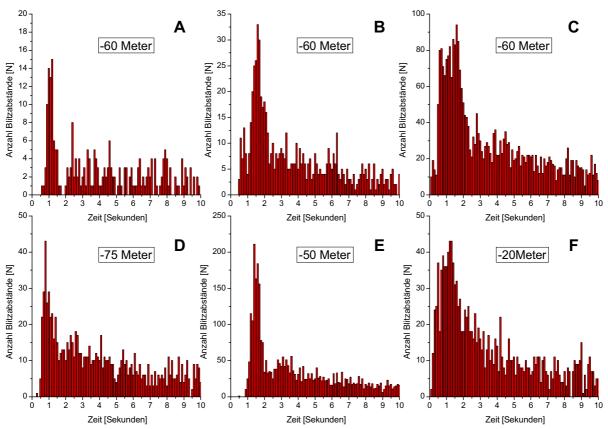


Abbildung 98. Zeitliche Abstände zwischen aufeinander folgenden Blitzen in Aufzeichnungen im Herbst. [A], [B] und [C] wurden in der selben Woche in 60 Meter Tiefe aufgezeichnet, [D], [E] und [F] in der gleichen Nacht.

3.3.7 Messung der zeitlichen Abstände zwischen zwei aufeinander folgenden Blitzen

Über die Blitzkategorien hinaus wurde der zeitliche Abstand zwischen zwei aufeinander folgenden Leuchtereignissen gemessen, wobei die zwei- und mehrgipfligen Blitzformen als ein einzelnes Leuchtereignis gewertet wurden. Die Ausmessung erfolgte zunächst manuell (der Zeitpunkt des Ereignisbeginns wurde in einer Tabelle eingetragen), anschließend wurde ein Matlabskript anhand der daraus gewonnenen Werte soweit modifiziert, dass es die gleichen Ergebnisse erbrachte (Unterschied zur manuell-visuellen Auszählung kleiner 5%). Dazu mußten allerdings die mit Labview aufgezeichneten Dateien modifiziert, d.h. gekürzt werden, da das Skript eine gleichbleibende Basislinie benötigt. Blitze während der Abend- und Morgendämmerung, in der sich die Basislinie des Photomultipliers langsam veränderte (Sättigung mit Abnahme bis "Totale Dunkelheit-Grundrauschen" bzw. umgekehrt) wurden manuell ausgezählt.

Ergebnisse - 183 -

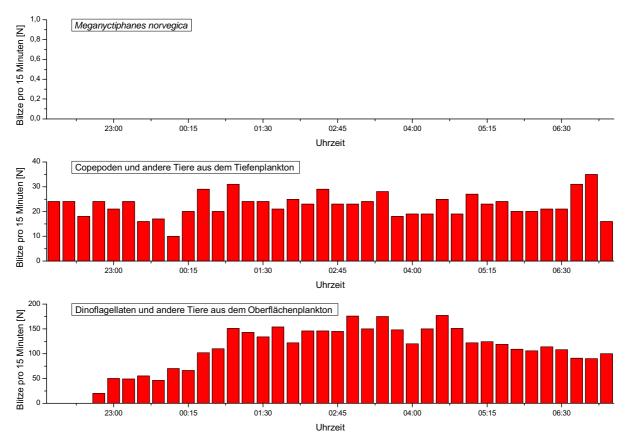


Abbildung 99. Spontane Biolumineszenz in drei Becken mit [A] einer Population von Krill Meganyctiphanes norvegica ohne andere Arten im Wasser, [B] Tiefenplankton (aus Beifang vom Krillfang; viele Copepoden und Dinoflagellaten) sowie [C] Oberflächenplankton (mit Eimer von der Fjordwasseroberfläche geschöpft; v.a. Dinoflagellaten, keine Copepoden). Die Becken ohne Krill hatten einen ungestörten Wasserkörper, um möglichst mechanische Stimulation (z.B. durch zufließendes Wasser) zu vermeiden. Krill wurde zu verschiedenen Jahreszeiten in verschiedenen Populationen (Männchen, Weibchen, Männchen und Weibchen) beobachtet: es wurde nicht ein einziger Blitz aufgezeichnet. Im Tiefenplanktonbecken werden kontinuierlich Blitze ohne tageszeitliche Rhythmik aufgezeichnet. Im Oberflächenplanktonbecken ist zunächst eine geringe Leuchtaktivität feststellbar, die dann langsam ansteigt. Die fehlende Aktivität zu Beginn der Aufzeichnung ist vermutlich bedingt durch die Inhibition der Lichtproduktion der Organismen durch das vorausgegangene Tages- bzw. Kühlraumlicht.

Insgesamt wurden auf diese Weise die zeitlichen Abstände zwischen aufeinander folgenden 73436 Blitzen vermessen (Abbildung 96). Durchschnittlich lagen 21,13±151,3 Sekunden zwischen zwei Blitzen (Gesamtaufzeichnungsdauer geteilt durch Gesamtanzahl Blitze). Allerdings fallen kaum reale Abstände in diese Zeitdauer. Die meisten Blitze haben einen Abstand voneinander von ca. 0,5 Sekunden, und es gibt große Zeiträume (Minuten, teilweise sogar halbe Stunden), in denen kein einziger Blitz registriert werden konnte. 36,28% aller Blitze mit einem Abstand zueinander von unter 10,1 Sekunden liegen im Bereich 0-1,0 Sekunden, 21,47% im Bereich 1,1-2,0 Sekunden (Tabelle 8).

- 184 - Ergebnisse

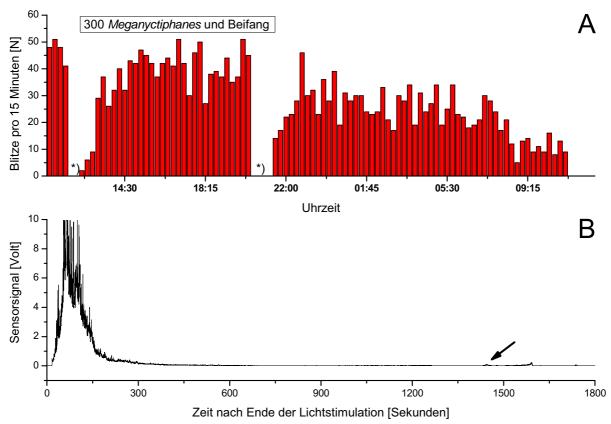


Abbildung 100. [A] Eine Aufzeichnung spontaner Biolumineszenz über 24 Stunden (von 11 Uhr bis 11 Uhr am folgenden Tag) in einem Becken mit ca. 300 Exemplaren Meganyctiphanes norvegica (beide Geschlechter), sowie des Beifangs im Planktonnetz (v.a. Tiefenplankton mit Copepoden, diversen Ephyren, Tomoptris u.a.). Das Becken war offen im Kühlraum stehend dem Raumlicht ausgesetzt, wenn dieses eingeschaltet wurde, was zweimal der Fall war: um 12 Uhr und um 21 Uhr (durch andere Forscher; Markierungen mit *)). Damit ist in der Datei zweimal das sogenannte "Raumlicht-aus-Leuchtverhalten" zu sehen, auf welches eine längere Phase (ca. 15-30 Minuten) ohne spontane Leuchtereignisse folgt. In [B] ist das "Feuerwerk" nach der "Raumlicht-Aus-Stimulierung" (Signal bis ca. Sekunde 450), sowie die Phase verringerter Aktivität zu sehen. Der Pfeil deutet auf den ersten Blitz nach der lag-Phase.

Beim Vergleich der Blitzabstände im Frühjahr in den Tiefen 30, 50 und 70 Metern (Abbildung 97, Tabelle 8) fällt ein Großteil der Blitze in den Bereich 0,3-1,0 Sekunden. In 30 Meter Tiefe ist das Maximum zwischen 0,5 und 0,6 Sekunden (53,05% zwischen 0 und 1,0 Sekunden Abstand zueinander), in 50 und 70 Meter Tiefe liegt es etwas niedriger zwischen 0,4 und 0,5 Sekunden (25,96% bzw. 27,92% zwischen 0 und 1,0 Sekunden).

Im Herbst variieren die Abstände bei aufeinander folgenden Aufzeichnungen innerhalb einer Woche in gleicher Tiefe (Abbildung 98 [A]-[C], Tabelle 7). Ist das Maximum an einem Tag bei ca. 1,1 Sekunden, kann es an einem anderen Tag bei ca. 1,6 Sekunden liegen, und bei 1,0

Ergebnisse - 185 -

Sekunden ist dann ein Minimum vorhanden (Abbildung 98 [A], [B]). Bei einer dritten Messung ist kein prominenter Spitzenwert sichtbar, sondern im gesamten Bereich von 0,5 bis 2 Sekunden sind viele Blitzabstände zu verzeichnen (Abbildung 98 [C]). Bei allen drei Messungen fallen die meisten Blitzabstände von weniger als 10 Sekunden in den Bereich 1,1-2,0 Sekunden (19,03%, 31,16% und 25,78%).

Beim Vergleich zwischen verschiedenen Tiefen (Abbildung 98 [D]-[F]) findet sich das Maximum in 75 Metern Tiefe bei 1,0 Sekunden, in 50 Metern Tiefe bei 1,5 Sekunden, und in 20 Metern Tiefe auch bei 1,5 Sekunden. In letzterem Fall sind allerdings besonders viele Blitze im Bereich 0-2 Sekunden vorhanden. In 75 Meter Tiefe fallen jeweils ca. 15% der Blitzabstände in die ersten 3 Sekunden. In 50 Meter Tiefe sind fast keine Blitze im Bereich 0-1,0 Sekunden vorhanden (1,1%), dafür 35,83% im Abstand 1,1-2,0 Sekunden. In 20 Metern Tiefe sind in den Abstandsgruppen 0,0-1,0, 1,1-2,0 und 2,1-3,0 19,12%, 22,74% und 14,19% vorhanden. Es fallen also in fast allen Fällen mehr als 50% der Blitzabstände in den Bereich 0-3 Sekunden.

3.3.8 Meganyctiphanes im Aquarium

Meganyctiphanes wurde zu verschiedenen Jahreszeiten (Herbst, Winter, Frühjahr im Zeitraum zwischen 2001 und 2005) an der marinbiologischen Station Kristineberg in Dunkelheit in Becken gehältert, die mit Photomultipliern ausgestattet waren. Der Krill wurde dabei möglichst in drei verschiedenen Gruppen gehalten: nur Männchen, nur Weibchen, gemischte Population. Die Tierkonzentration betrug durchschnittlich 1 Tier pro 5 Liter Wasser. Insgesamt wurden einige Tausend Tiere über einen Aufzeichnungszeitraum von mehreren Wochen beobachtet. In dieser Zeit wurde in diesen Becken nicht ein einziges spontanes Leuchtereignis aufgezeichnet (Abbildung 99 [A]). Der Krill war allerdings immer leuchtfähig, was mit den drei Methoden Ergriffeneffekt (biolumineszente Reaktion auf Berührungsreiz), Lichtgradientenreflex und Serotonininjektion überprüft wurde.

Beim Ergriffeneffekt wurden manuell Tiere aus dem Becken im total abgedunkelten Kühlraum herausgefischt, indem eine Hand an der Wasseroberfläche nach einem vorbei schwimmenden Tier suchte und es bei Kontakt ergriff. Dabei wurde visuell mit an die Dunkelheit adaptierten Augen des Beobachters protokolliert, ob das ergriffene und aus dem Wasser gehobene Tier leuchtete; dies war in 100% der Fall. Beim Lichtgradientenreflex wird das Raumlicht des Kühlraums für einige Minuten eingeschaltet und dann wieder ausgeschaltet. Mit einer gewissen

- 186 - Ergebnisse

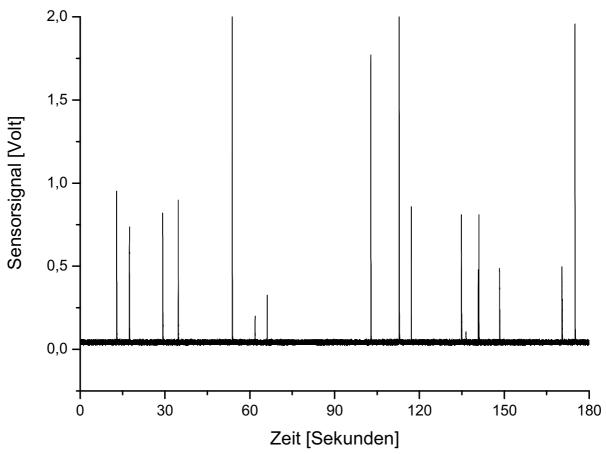


Abbildung 101. Das ungefiltertes Oberflächenwasser des Gullmarfjords wies im Januar 2006 eine hohe Konzentration an Dinoflagellaten auf (Abundanz der biolumineszenten Arten wurde nicht bestimmt) auf. In einem 5-Liter-Eimer konnten ca. 100-150 spontane Blitze pro Stunde aufgezeichnet werden, die der Kategorie I entsprechen. Die stärksten Blitze hatten eine Dauer von 0,188 Sekunden (n=24 SD=0,030), die schwächeren Blitze waren kürzer.

Latenz beginnen dann die Tiere für einige Minuten zu leuchten, so dass der Photomultiplier ein Summensignal vieler gleichzeitig im Becken leuchtender Tiere aufzeichnet (Abbildung 100 [B]). Es ist nicht bekannt, wieviele der in den Becken vorhandenen *Meganyctiphanes* dabei beteiligt sind. Wenn vereinzelte Tiere in Bechergläsern beobachtet werden, ist eine Biolumineszenz bei ca. 30-50% der Tiere beobachtbar.

Es wurden ebenfalls Wasserproben mit Oberflächenplankton und Tiefenplankton, zum Teil mit Krill, zum Teil ohne Krill im Becken (Abbildungen 99 [B], [C], 100 [A]), untersucht. In diesen Aufzeichnungen wurden eine große Anzahl von Blitzen registriert. In einem Becken mit 300 Exemplaren *Meganyctiphanes* beiderlei Geschlechts zusammen mit dem Beifang aus dem Netz wurden 10-50 Blitze pro Viertelstunde aufgezeichnet (Abbildung 100 [A]). Da das Becken in einem Kühlraum stand, der auch von anderen Forschergruppen genutzt wurde, mußten in regelmäßigen Abständen die Lichter im Raum eingeschaltet werden. Die

Ergebnisse - 187 -

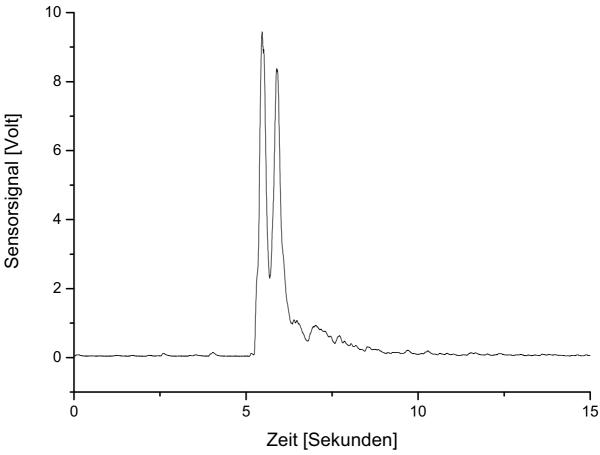


Abbildung 102. Stimulierte Biolumineszenz in Oberflächenwasser. In ungefiltertes Oberflächenwasser (April 2005; kein Krill, nur Mikroplankton wie Dinoflagellaten vorhanden) des Fjords in einem 250 Liter-Tank wurden kleine Kieselsteine senkrecht fallengelassen und die Lichtproduktion im Tank aufgezeichnet. Neben vereinzelten, meist sehr schwachen spontanen Leuchtereignissen (siehe kleine Peaks in den ersten 5 Sekunden der Abbildung) erfolgte eine massive Lichtproduktion mit dem Eindringen des Steins in das Wasser. In 15 von 22 Fällen hatte die Lichtproduktion einen Doppelgipfel mit ca. 0,447 Sekunden Abstand zwischen den zwei Gipfeln (Range: 0,41 bis 0,50 Sekunden) und nahm danach schnell ab.

Blitzanzahl war in der Zeit nach den Ausschalten der Lichter, sieht man von der durch den Lichtgradienten ausgelösten Biolumineszenz des Krill ab, längere Zeit (15-30 Minuten) stark reduziert (Abbildung 100 [B]), und nahm anschließend wieder zu.

In Becken, in denen fast nur Tiefenplankton vorhanden war (Beifang vom Krillfang, allerdings ist nicht zu verhindern, dass beim Einholen des Netzes auch Oberflächenplankton ins Netz gelangt), ist eine Spontanaktivität zu verzeichnen (Abbildung 99 [B]), die nicht im Tagesverlauf stark variiert. Wer dabei leuchtete, wurde nicht bestimmt. Im Becken waren eine Vielzahl von großen, visuell leicht erkennbaren Copepoden, *Tomopteris spec.* und verschiedene Jungmedusen bzw. Ephyren vorhanden. Es wurden fast nur Blitze der Kategorie 1 gefunden (für Besonderheiten siehe weiter unten). Bei Oberflächenplankton, welches mit einem feinen

- 188 - Ergebnisse

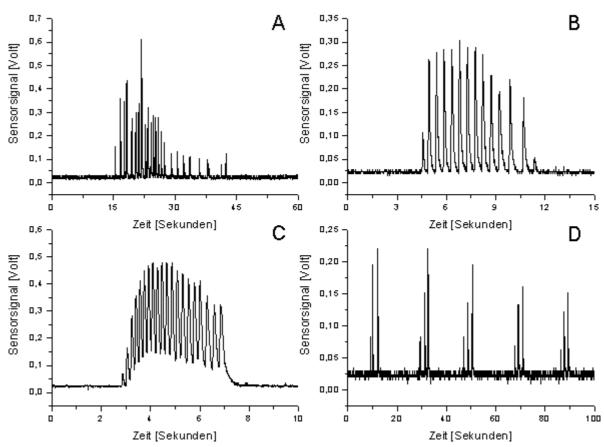


Abbildung 103. Tiefenplankton in einem Becken (kein Krill vorhanden) weist repetitive biolumineszente clusterartige Ereignisse auf, wobei der/die Verursacher nicht identifiziert werden konnten. In den in Kühlräumen über Tage durchgeführten Aufzeichnungen sind einige wenige Cluster wie in diesen Abbildungen zu entdecken, bei denen über Zeiträume von 5-100 Sekunden eine große Anzahl von homogenen Blitzen v.a. der Kategorie I registrierbar sind. [A] Cluster mit 24 Blitzen in unterschiedlichen Abständen zueinander. [B] 14 Blitze innerhalb von 7 Sekunden. [C] Ähnliche Blitzfolge wie in [B], allerdings mit 20 Blitzen in 4,6 Sekunden. [D] Neben den einzeln auftretenden Clustern konnte ein weiterer Typ von repetitiven Dreifachblitzen beobachtet werden. Dabei treten mehrfach drei kurze Blitze der Kategorie I, die durchschnittlich 1,38±0,469 Sekunden (n=28, Range: 0,59-2,59 Sekunden) voneinander entfernt sind, auf. Diese Dreiergruppen werden durch ca. 13,95±2,64 Sekunden (n=8) lange Intervalle voneinander getrennt. Im Umfeld dieser Dreierblitze treten auch Zweierblitze auf, deren Abstand zueinander im Rahmen der Dreiergruppen liegen (1,774±0,68 Sekunden, n=9), und auch Einzelblitze, deren Abstände (13,34±2,48 Sekunden, n=18) zu den vorher- und nachfolgenden Leuchtereignissen im gleichen Rahmen liegen wie die Abstände zwischen den Dreierblitzen. Die Abstände zwischen den Blitzen in den Dreiergruppen zeigten keine Regelmäßigkeit, d.h. die Abstände innerhalb der Gruppen sind unterschiedlich lang. Es kann sowohl der erste als auch der zweite Abstand länger sein.

Planktonnetz gefangen wurde (bis 2 Meter Tiefe, v.a. Dinoflagellaten (unbestimmt)) nahm nach dem Fang die Spontanaktivität zu (Abbildung 99 [C]), und zur Morgendämmerung ab.

Ergebnisse - 189 -

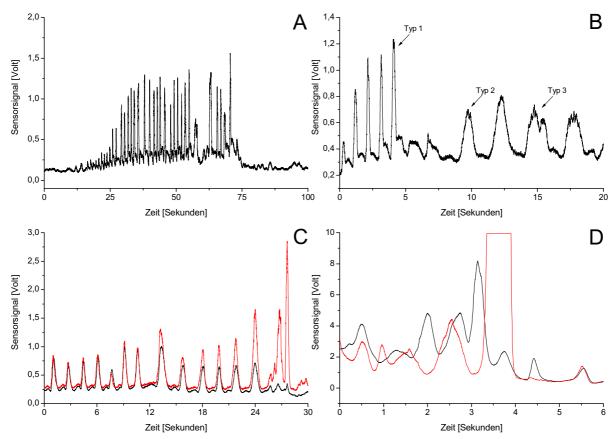


Abbildung 104. Einzelne Meganyctiphanes wurden durch Serotonininjektion zum Leuchten gebracht und anschließend in Dunkelheit in ein Becken mit Photomultiplier (auf dem Boden) gesetzt. In den daraus hervorgegangenen Aufzeichnungen finden sich folgende Merkmale: [A] Entweder verändert sich das Signal über längere Zeiträume nur sehr wenig (wie in den ersten dargestellten 10 Sekunden und den letzten 25 Sekunden), oder aber es sind viele aufeinander folgende repetitive Elemente zu beobachten. Diese haben einen Abstand von 1,86 Sekunden (unsymmetrisch; SD=0,5, N=47) oder 1,57 Sekunden (besonders symmetrisch mit starkem Anfangspeak; SD=0,49, N=66) zueinander. Betrachtet man diese genauer [B], fallen drei Grundtypen auf: I. Auf einen kurzen starken Blitz folgt ein langsam abfallendes Plateau. 2. Einzelgipfel. 3. Doppelgipfel, die wie im ersten Grundtyp wirken, nur dass der starke Blitz am Anfang kaum ausgeprägt ist. In [C] ist der Grundtyp 2 ein weiteres mal zu sehen, wo er in einem Becken mit zwei gegenüberliegenden Photomultipliern aufgezeichnet wurde. Interessanterweise zeichnen diese Photomultiplier die Signale nicht um 50% zeitversetzt auf, wie es zu erwarten wäre, wenn das Tier sich kontinuierlich um die Längsachse dreht. Solche phasenverschobenen Aufzeichnungen sind eher die Ausnahme, in [D] ist eine der wenige Aufzeichnungen abgebildet, in der dieses antizyklische Signal teilweise gefunden wurde; die meisten Fluktuationen sind aber ebenfalls wieder synchron.

- 190 - Ergebnisse

3.3.9 Spontane und stimulierte Biolumineszenz im Oberflächenwasser

Ungefiltertes Oberflächenwasser des Fjords (im Januar 2006 vom Bootssteg aus geschöpft) weist eine hohe Konzentration von biolumineszenten Organismen auf, v.a. Dinoflagellaten. In einem 5-Liter-Eimer, in den ein in eine 1-Liter-Weithalsglasflasche eingebauter Photomultiplier getaucht wurde, konnten ca. 100-150 spontane Blitze der Kategorie 1 pro

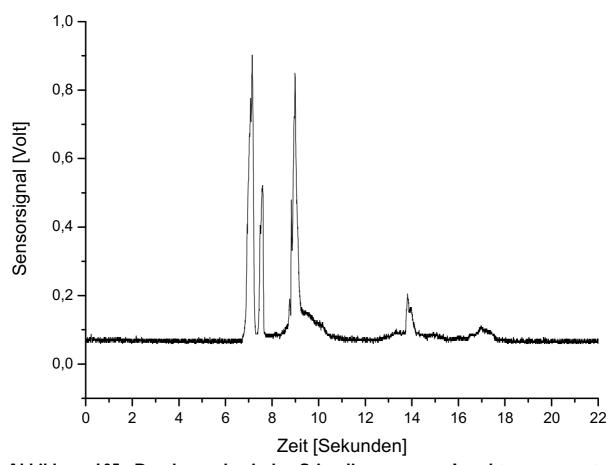


Abbildung 105. Durch mechanische Stimulierung zum Leuchten angeregte Meganyctiphanes (mit der Hand aus dem Aquarium genommen; N=15) wurden einzeln in ein Becken vor einen Photomultiplier gesetzt und das Leuchten der freigelassenen schwimmenden Tiere aufgezeichnet. Die Abbildung zeigt eine beispielhafte Aufzeichnung. Es wurden in diesen 15 Messungen keine charakteristischen Merkmale gefunden: die Leuchtmuster der einzelnen Tiere unterscheiden sich stark voneinander. Bei einigen konnte keiner oder nur ein einzelner kurzer Blitz aufgezeichnet werden (N=7), andere leuchteten fast minutenlang (N=2), und wieder andere blitzten einige Male in mehr oder weniger rhythmischen Abständen (N=6). Bei einer Messung der Spitzenwerte von letztgenannten 6 Tieren wurden folgende drei Cluster von Abständen gefunden: 0,577 Sekunden (SD=0,116, N=23), 1,177 Sekunden (SD=0,54, N=47) und 13,45 Sekunden (SD=2,17, N=14).

Ergebnisse - 191 -

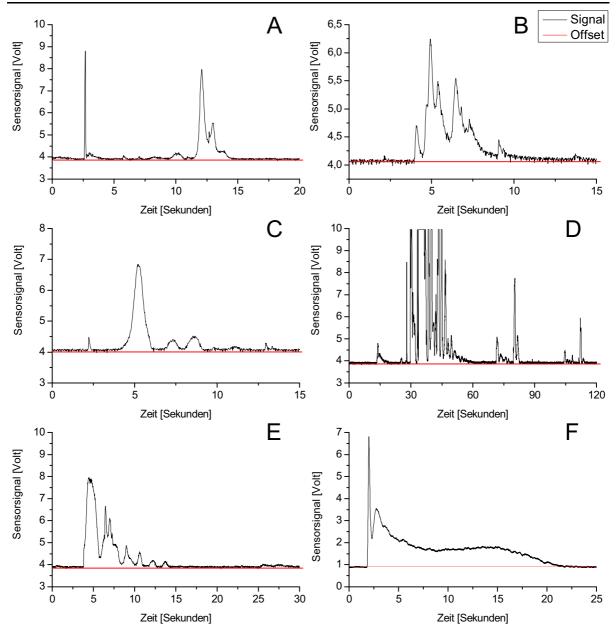


Abbildung 106. Einige Beispiele für komplexe Leuchtereignisse im Freiwasser des Gullmarfjords. Es ist unbekannt, welche Organismen diese Biolumineszenz produzieren, ob es sich jeweils um ein einzelnes oder mehrere Tiere handelt, und ob die Signale einfach oder komplex, also aus mehreren unterschiedlichen Signalen zusammengesetzt sind. Offset=Grundrauschen des Photomultipliers (da verschiedene Photomultiplier mit unterschiedlichen Nachverstärkern verwendet wurde, unterscheidet sich das Niveau des Grundrauschens).

Stunde aufgezeichnet werden (Abbildung 99 [C], 101). Diese Blitze waren relativ schwach und nicht stark genug, um den verwendeten Photomultiplier in Sättigung zu bringen. Die stärksten Blitze haben eine Dauer von 0,188±0,03 Sekunden (n=24), schwächere Blitze sind kürzer.

In einem quadratischen 250-Liter-Becken im April 2005 mit ungefültertem Oberflächenwasser (nur Mikroplankton wie z.B. Dinoflagellaten), wurde ein Experiment zur stimulierten

- 192 - Ergebnisse

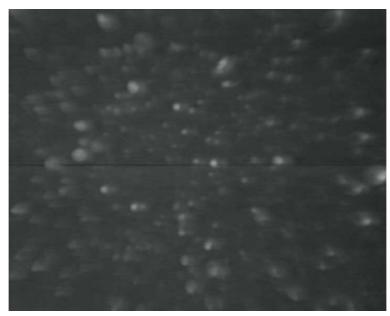


Abbildung 107. Einzelnes Bild aus einer Videosequenz, gefilmt im Gullmarfjord unter Rotlichtbeleuchtung (rote Leuchtdioden). Jeder helle Punkt ist ein im Wasser schwebender Partikel; in ihrer Gesamtheit werden diese Partikel "Meeresschnee" ("marine snow") genannt. Sie behindern massiv Videoaufnahmen unter Rotlicht. Der Strich in der Mitte des Bildes ergibt sich aus dem Zeilensprungverfahren bei PAL-VHS-Aufnahmen.

Biolumineszenz durchgeführt. Dazu wurde ein Photomultiplier seitlich im Becken positioniert und anschließend im Abstand von einigen Minuten einzelne kleine Kieselsteine (insgesamt 22 Stück) in der Mitte des Beckens in das Wasser geworfen und die dabei ausgelöste Lichtproduktion aufgezeichnet (Abbildung 102). In 15 von 22 Messungen wurde dabei eine doppelgipflige Lichtproduktion festgestellt. Diese Gipfel hatten einen Abstand zueinander von 0,447 Sekunden (niedrigster Wert: 0,41 Sekunden, höchster Wert 0,50 Sekunden). Nach den Doppelgipfeln nahm die Biolumineszenz schnell stark ab, insgesamt dauerte ein durch einen Steinwurf ausgelöstes Leuchtereignis ca. 10 Sekunden.

3.3.10 Besonderheiten spontaner Biolumineszenz in Tiefenwasser (ohne Krill)

In ungestörten Wasserbecken mit ca. 250 Liter Volumen wurde der Beifang, der beim Fang vom Krill angefallen ist, gehältert und die Biolumineszenz mittels submersen Photomultipliern, wie bereits weiter oben berichtet aufgezeichnet (Abbildung 99 [B]). Die Aufzeichnungen wurden nach besonders auffälligen Lichtsignalen hin untersucht, also z.B. Cluster von

Ergebnisse - 193 -

Aktivität. Die meisten Blitze in diesen Aufzeichnungen sind Blitze der Kategorie 1, und stehen in keinem zeitlichen Zusammenhang miteinander. Es wurden allerdings einige wenige Besonderheiten gefunden (Abbildung 103). In einigen Fällen wurden eine größere Anzahl von Blitzen (bis zu einige Dutzend) gehäuft in einem Zeitraum von 15-60 Sekunden gefunden (Abbildung 103 [A]), bei denen aber die Abstände der Einzelblitze (und meist auch ihre Intensität) zueinander keinen Rhythmus zeigten. Dann wurden einige Cluster von 4-8 Sekunden Dauer gefunden, in denen ähnlich intensive Blitze relativ rhythmisch schnell nacheinander kommend vorhanden waren (Abbildung 103 [B], [C]). Eine weitere erwähnenswerte Beobachtung sind Häufungen von Gruppen, die jeweils aus drei Blitzen der Kategorie 1 bestehen (Abbildung 103 [D]), die relativ rhythmisch nacheinander entstehen. Die Blitze der Dreiergruppe sind ca. 1,38±0,469 Sekunden voneinander entfernt (N=28, Bereich: 0,59-2,59 Sekunden), allerdings sind die Abstände immer unterschiedlich (mal ist der erste, mal der zweite länger). Zwischen zweien dieser Dreiergruppen liegen meist Intervalle von 13,95±2,64 Sekunden (N=8). Im Umfeld dieser Dreiergruppen finden sich auch Zweiergruppen und Einzelblitze, deren zeitliche Abstände zu den Dreiergruppen in einem ähnlichen Rahmen liegen (13,34±2,48 Sekunden, N=18). Die Blitze der Zweiergruppen haben einen zeitlichen Abstand zueinander von 1,774±0,68 Sekunden, N=9).

3.3.11 Aufzeichnung von leuchtendem, frei im Labortank schwimmendem Krill

Da mit der Methode "spontanes Leuchten von Krill im Aquarium" nicht in Erfahrung gebracht werden konnte, ob Krill spontan leuchtet, und auch nicht bekannt ist, wie ein eventuelles Leuchten aussieht (um es als Schablone für eine Untersuchung der Messungen im Freiwasser des Fjords zu verwenden), wurden behelfsweise einzelne Tiere, die durch Serotonininjektion leuchteten, in ein Becken mit Photomultiplier gesetzt, und diese Signale analysiert. Idealerweise wurden die Tiere direkt über dem, auf dem Boden des Beckens liegenden, Photomultiplier in das Wasser gesetzt. Die meisten Tiere schwammen daraufhin schnell in engen Trajektorien, sich um die Längsachse drehend, bis sie gegen die Wand oder den Boden des Beckens kamen. Einige Tiere blieben auch ruhig an der Stelle, wo sie ins Wasser gesetzt wurden, und drifteten langsam. Einige Tiere schwammen auch minutenlang im Becken herum, wie es von anderen gehälterten Tieren ohne Serotonininjektion bekannt ist.

Das Signal des Photomultipliers zeigt dementsprechend sehr unterschiedliche Signale, die von Dauerglimmen über vereinzelte schwache Blitze bis zu rhythmisch aufeinander folgende Blitze - 194 - Ergebnisse





Abbildung 108. Biolumineszenz bei Periphylla periphylla. Zwei Einzelbilder aus einer 40 Sekunden langen Videosequenz, in der eine Kronenqualle Periphylla periphylla bei ihrer Biolumineszenz gefilmt wurde. [A] Der Habitus des Gesamttieres mit beginnender Biolumineszenzwelle, die über die gesamte Körperoberfläche verläuft. [B] Einzelne biolumineszente Partikel, die zwischen den Tentakeln abgegeben werden und sekundenlang leuchten. Videobilder reproduziert mit Erlaubnis von Ulf Båmstedt Universität Bergen/Universität Umeå.

reichen (Abbildung 104). Ein einzelnes Muster war daraus nicht abzuleiten. Bei vielen der Aufzeichnungen wechseln sich längere Phasen (mehrere Sekunden) ohne Helligkeitsveränderungen (eine mehr oder weniger leicht erhöhte Basislinie des Photomultipliers) mit Phasen hoher Aktivität ab (Abbildung 104 [A]). In diesen sind viele einzelne Blitze vorhanden, die eher symmetrisch oder unsymmetrisch sein können. Erstere haben dann einen Abstand von 1,57±0,49 Sekunden (N=66) voneinander, letztere einen Abstand von 1,86±0,5 Sekunden (N=47). Generell lassen sich drei Grundtypen beschreiben (Abbildung 104 [B]): Bei Typ 1 folgt auf einen starken Blitz ein langsam abfallendes Plateau. Bei Typ 2 handelt es sich um Einzelpeaks mit langsam ansteigenden und abfallenden Flanken, und bei Typ 3 um Doppelpeaks, die dem Typ 1 ähneln, nur dass der starke Anstieg am Anfang fehlt.

Beobachtet man diese durch Serotonininjektion leuchtenden Tiere mittels zweier im Becken angebrachter Photomultiplier, die sich um 180° versetzt gegenüber angebracht sind, zeigen diese oftmals keine um 180° phasenversetzten Leuchtereignisse (Abbildung 104 [C], [D]), wie es bei sich in der Ebene zwischen den Photomultipliern schwimmende und sich dabei um die Längsachse drehenden Tieren zu erwarten wäre. Im Gegenteil zeichnen die beiden Photomultiplier Leuchtmaxima und Minima meistens gleichzeitig auf. Nur in Ausnahmefällen zeigen die beiden Geräte gleichzeitig ein Minimum und ein Maximum.

Ergebnisse - 195 -

In einem weiteren Experiment wurde Krill, der durch die mechanische Stimulierung bei manuellem Umsetzen aus einem Becken in ein anderes (mit Photomultiplier) leuchtete, ("Ergriffen-Effekt") beobachtet. Die mit dem Photomultiplier aufgezeichneten Signale (Abbildung 105) zeigen keine oder nur schwach ausgeprägte Muster. Meistens folgen in unregelmäßigen Abständen mehrere Helligkeitsschwankungen von 0,3 bis 2 Sekunden Dauer. Viele davon haben schnell an- und wieder absteigende Maxima, die aber in unterschiedlichen Abständen zueinander stehen. Misst man diese Abstände zueinander aus, scheint es drei Cluster zu geben: 0,577±0,116 Sekunden (N=23), 1,177±0,54 Sekunden (N=47) sowie 12,34±2,17 Sekunden (N=14).

3.3.12 Komplexe Leuchtereignisse im Freiwasser des Gullmarfjords

Die Aufzeichnungen zeigten, dass nicht nur einfache Leuchtereignisse vorhanden sind, wie sie in den fünf oben genannten Kategorien vorkommen, sondern es finden sich auch komplexe, länger andauernde Leuchtaktivitäten (Abbildung 106). Diese können teilweise mehrere Sekunden andauern, einige Aufzeichnungen zeigten auch anhaltende Biolumineszenz über eine halbe Minute. Wer diese Muster verursacht, ist nicht bekannt. Im Vergleich mit dem im Labor aufgezeichneten Leuchtverhalten von *Meganyctiphanes* sind keine großen Übereinstimmungen zu finden.

3.3.13 Versuch der Beobachtung von Krill mittels Kamera im Freiwasser

Eine industrielle Schwarzweißkamera (Abbildung 37), die in einem druckfesten Gehäuse untergebracht war und deren Gesichtsfeld mittels hochleistungsfähiger roter Leuchtdioden ausgeleuchtet wurde, konnte erfolgreich genutzt werden, um bei Dunkelheit Tiere im Freiwasser zu beobachten. In einem ersten Test konnten in einem Süßwassersee sich nachts auf dem Boden ausruhende Barsche gefilmt werden, die sich durch das Rotlicht größtenteils nicht gestört fühlten. Im Fjord selbst konnte der gesamte Wasserkörper von der Oberfläche bis zum Grund in 120 m Tiefe beobachtet werden. Dabei wurden in mehrstündigen Aufnahmen keine Tiere beobachtet, weder im Wasserkörper noch auf dem schlammigen Grund des Fjords. Krill wurde nicht gefilmt, auch wenn die Kamera durch die laut Echolot dichten Schichten, die eine erhöhte Aufenthaltswahrscheinlichkeit von Krill bedeuten, geführt wurde. Die Sichtweite im Seewasser war durch marinen Schnee ("marine snow") massiv eingeschränkt (Abbildung 107), der vor allem dicht vor dem Gehäuse im Unschärfebereich der Linse stark das Rotlicht

- 196 - Ergebnisse

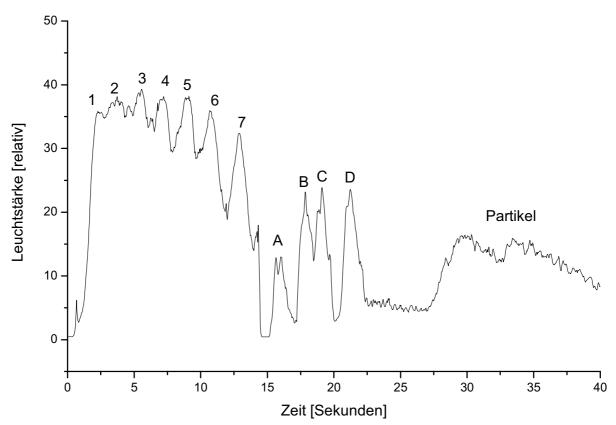


Abbildung 109. Für eine 40 Sekunden lange Sequenz aus einem Video, in dem die Biolumineszenz der Kronenqualle Periphylla periphylla in einem norwegischen Fjord in Dunkelheit von einem Tauchboot aus zu sehen war, wurde für jedes Einzelbild die Gesamthelligkeit über alle Pixel bestimmt und normalisiert. Es wird postuliert, dass ein Photomultiplier im Fjord ein ähnliches Signal geliefert hätte. In der Videosequenz ist zunächst für 15 Sekunden das gesamte Tier zu sehen. Die Biolumineszenz läuft dabei in 7 Wellen (1-7) von verschiedenen, benachbarten Körperpunkten ausgehend über die gesamte Körperoberfläche des Tieres, wobei eine neue Welle beginnt, bevor die vorhergehende komplett abgeklungen ist. Anschließend (nach einem Schnitt ab Sekunde 15) ist das Tier nur noch teilweise im Kamerabild zu erkennen. Zunächst laufen noch 4 Wellen (A-D) über die Körperoberfläche, danach bleibt das Tier dunkel, und es sind nur noch einzelne biolumineszente Partikel, die sich anscheinend vom Tier gelöst haben, zu sehen. Dann beginnt das Tier (bei Sekunde 27) sich zu bewegen, und es werden vermehrt diese biolumineszenten Partikel im Wasser verwirbelt. Die über die Körperoberfläche laufenden Wellen haben einen Abstand zueinander von ungefähr 1,8 Sekunden.

reflektiert. Zusätzlich ist das Auflösungsvermögen der Kamera nicht ausreichend, um tote Partikel von kleinen lebenden Tieren zu unterscheiden. Durch die Digitalisierung des auf VHS aufgezeichneten Videosignals ist die Qualität von Einzelbildern eingeschränkt. Teilweise war auch die Linse beschlagen, obwohl im Druckgehäuse Trocknungsmittel vorhanden war.

Ergebnisse - 197 -

3.3.14 Anwendung der Analysetechnik auf andere Arten

Es stellt sich die Frage, ob mittels einer einfachen Messung der (möglichst unstimulierten) Biolumineszenz mit einem Photomultiplier die Artenzusammensetzung in einem Biotop analysierbar ist und ob neue, invasive Arten so schnell mit hoher Zuverlässigkeit entdeckt werden können. Zur Beantwortung dieser Frage wurde eine Videosequenz, die aus einer Fernsehdokumentation stammte und die Biolumineszenz der Kronenqualle *Periphylla periphylla* zeigt, in Einzelbilder zerlegt und die relative Helligkeit der Bilder zueinander vermessen. Die Biolumineszenz dieser Tiere läuft von einem Punkt ausgehend undulierend über die gesamte Körperoberfläche der Tiere (Abbildung 108 [A]); außerdem geben die Tiere biolumineszente Partikel in das Wasser ab (Abbildung 108 [B]). Die so gewonnenen Daten liefern ein Signal, welches analog zu dem eines Photomultipliers sein dürfte, wenn auch mit veränderten Amplituden (Abbildung 109).

- 198 - Ergebnisse

3.4 Verfolgung und Auswertung der Schwimmtrajektorien von Krill in Aquarien mittels 3D-Videosystem

Um das Schwimmverhalten von Krill in Gefangenschaft zu beobachten, wurden Exemplare von *Meganyctiphanes norvegica* in Becken an der Station Kristineberg gehältert. Zunächst wurden sie unter Rotlicht beobachtet. Da die Tiere unter dieser Beleuchtung allerdings fast keinen Kontrast bilden und schwer erkennen wären, wurde die Beleuchtung auf Infrarotlicht umgestellt. Dieses hat einen Vor- und einen Nachteil: Die Mitteldarmdrüse der Tiere fluoresziert stark unter Infrarotlicht, so dass die Tiere immer gut zu lokalisieren sind; bei Verwendung von Schwarz-Weiß-Kameras ist die Mitteldarmdrüse als sehr heller weißer Punkt erkennbar (Abbildung 110 [A], [B]). Andererseits hat Infrarotlicht im Wasser nur eine sehr kurze Reichweite, da es schnell absorbiert wird. Somit waren der Größe des ausleuchtbaren Wasserkörpers Grenzen gesetzt. Neben gut ausgeleuchteten Teilbereichen direkt vor den in den Ecken der Becken lokalisierten Unterwasserscheinwerfern gab es auch schlecht oder fast gar nicht beleuchtete Areale in den Becken (Abbildung 110 [A]), v.a. im zentralen Bereich der Becken, wo fast nur noch das Fluoreszieren der Mitteldarmdrüse erkennbar war.

Das Schwimmverhalten der Tiere unter Infrarotlicht wurde mittels zweier stereoskopisch orientierter, direkt über dem Becken angebrachter Schwarz-Weiß-Kameras unter zwei verschiedenen Versuchsansätzen gefilmt: einerseits wurden die Tiere ungestört über Stunden gefilmt (0 Lux Raumlicht), um ein "normales Verhalten" innerhalb der Becken zu messen. Andererseits wurden mittels einer in der Mitte des Beckens orientierten blauen Leuchtdiode Lichtblitze in den Wasserkörper abgegeben, um das Verhalten der Tiere dem künstlichen Lichtstimulus gegenüber zu registrieren. Ursprünglich sollte der Lichtstimulus eine künstliche Darstellung des natürlichen Leuchtens der Tiere widerspiegeln. Da allerdings die Tiere in Gefangenschaft keinen einzigen von im Wasserkörper vorhandenen Photomultipliern registrierbaren spontanen Lichtblitz abgaben, und somit eine Vorlage bzw. Schablone ("template") für natürliches Leuchten fehlte, wurden Einzelblitze mit 100 ms Dauer und einer im Videomaterial erkennbaren Amplitude in den Wasserkörper abgegeben. Während des Versuchs wurde die Biolumineszenz im Becken mit einem durch einen IR-Sperrfilter geschützten Photomultiplier registriert.

Außerdem wurden die Tiere bei starker Umgebungshelligkeit (Leuchtstoffröhren des Raumlichts; ca. 20 kLux im Becken) sowie im Zeitintervall 30 Minuten nach dem Ausschalten

Ergebnisse - 199 -

des Raumlichts gefilmt. Des weiteren wurden Tiere bei Raumlicht in das Wasser geworfen und ihr Verhalten in dieser Situation untersucht. Als letztes wurden 60 Tiere nach Serotonininjiektion (Hämolymphkonzentration 10^{-5} M) und unter Infrarotlicht während der Zeit, in der sie leuchten, im Becken beobachtet (nur mit einer Kamera). Insgesamt wurde auf 16 Videobändern mit bis zu 4 Stunden Aufnahmezeit aufgezeichnet. Diese wurden visuell ausgewertet und die beobachteten Verhaltensweisen kategorisiert. Die Geschwindigkeiten der Tiere wurden visuell geschätzt. Die Verhaltenskategorien sagen auch nichts über die Dauer des jeweiligen Verhaltens aus.

Für die oben genannten Analysen wurde nur eins der beiden Videosignale verwendet. Für einige Schwimmtrajektorien, die ein interessantes Verhalten zeigten, wurden hingegen beide Videosignale verwendet, um die Raumpositionen der Tiere und die Trajektorie in 3D darzustellen sowie die genauen Schwimmgeschwindigkeiten zu bestimmen. Abbildung 110 [C] zeigt eine Trajektorie eines langsam vor sich hin schwimmenden Tieres, welches zunächst in Spiralen schwimmt, sich dann passiv absinken lässt und danach schnell die Position verändert. Abbildung 110 [D] zeigt die in der Trajektorie auftretenden Geschwindigkeiten.

Die beobachteten Verhaltensweisen wurden in folgende Kategorien eingeteilt:

A Das Tier schwimmt langsam ohne spiralförmige Bewegungen oder lässt sich treiben und dreht sich dabei nicht um die Körperlängsachse

B Das Tier schwimmt langsam in sprialförmigen/korkenzieherartigen Bewegungen und kann sich dabei um die Körperlängsachse drehen

C Das Tier schwimmt schnell auf einer geraden Linie oder einem weit gestreckten Bogen

D Das Tier schwimmt schnell und schlägt dabei Haken, die durch starke Bewegungen des Abdomens ("tail flip") ausgelöst werden - 200 - Ergebnisse

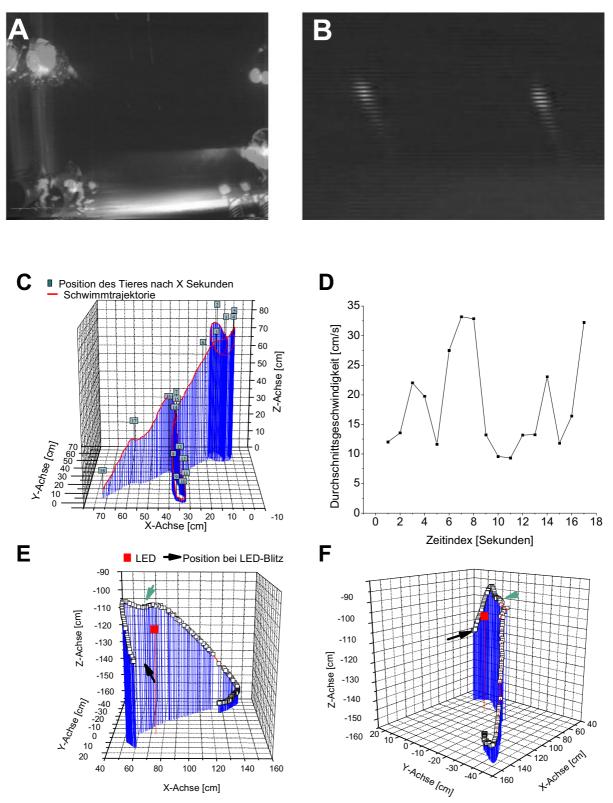


Abbildung I I 0. Darstellung der Schwimmtrajektorien von Krill im Aquarium unter Infrarotbeleuchtung. [A] Rohbild einer Aufzeichnung mit dem Stereokamerasystem. Die Halbbilder der beiden nebeneinander angeordneten Kameras werden in einem einzelnen Bild zusammengefasst (immer abwechselnd gerade und ungerade Zeilen). Zu sehen ist das Testbecken mit den an den Seiten angeordneten Infrarotscheinwerfern und der blauen Leuchtdiode (LED) am oberen Bildrand, sowie einem vorbei schwimmenden Krill in der Bildmitte.

(Fortsetzung der Legende auf der folgenden Seite)

Ergebnisse - 201 -

Weitere Verhaltensweisen wurden nicht in relevanter Anzahl beobachtet oder nicht ausgewertet. Zum Beispiel schwimmen vereinzelt Tiere an der Wasseroberfläche (mit den Antennen im Oberflächenhäutchen) oder an den Wänden der Becken entlang. Einige schwammen über längere Zeiträume in Kreisen auf dem Boden des Beckens (mit Bodenberührung). Diese atypischen Verhaltensweisen wurden nicht ausgewertet.

Die Tabelle 9 zeigt die Häufigkeit der einzelnen Verhaltensweisen unter den gegebenen Versuchsbedingungen. Unter den ungestörtesten Bedingungen, die unter den gegebenen Laborbedingungen am nächsten an die natürliche Umgebung im Fjord heranreichten (Tiere über längere Zeit im Dauerdunkel), schwimmen die Tiere in 88% der beobachteten Verhaltensweisen sehr langsam vor sich hin, lassen sich schweben, oder schwimmen in langsamen Spiralen. Schnelles Schwimmverhalten, ob in gerader Linie oder Haken schlagend (zusammen 12%), war eher selten zu beobachten. In den Fällen, wo die Tiere diese Verhaltensweisen zeigten, kamen sie in der Regel aus den von den Kameras nicht erfassten Bereichen der Tanks; daher ist nicht bekannt, was das Verhalten ausgelöst haben könnte.

Fortsetzung Abbildung 110. [B] Ausschnitt (ca. 150x100 Pixel) aus einer Videoaufzeichnung (unbearbeitet) eines Tieres unter Infrarotlicht in 50 cm Abstand (Tiergröße ohne Antennen ca. 3 cm). Infrarotlicht bringt die Mitteldarmdrüse zu starkem Fluoreszieren, der restliche Körper ist kontrastarm und kaum vor dem Hintergrund zu erkennen. Der Abstand zwischen den beiden Bildern der zwei Kameras (die in den geraden bzw. ungraden Bildzeilen eines einzelnen Videobildes gespeichert werden) ergibt sich aus der Disparität und damit dem Abstand des Tieres von den Kameras. [C] Eine typische Schwimmtrajektorie (Dauer 18 Sekunden; Startpunkt durch schwarzen Pfeil gekennzeichnet) eines Tieres im Becken mit den "Verhaltensweisen" I) Rollen schwimmen b) schnell gradeaus schwimmen c) sich sinken lassen (ohne Beinschlag) d) langsames schwimmen. Angegeben sind die Raumpunkte, wo sich das Tier jeweils am Ende eines Intervalls von einer Sekunde Dauer aufgehalten hat. [D] Die Verrechnung der Raumkoordinaten der Schwimmtrajektorien kann genutzt werden, um Schwimmgeschwindigkeiten und deren Veränderungen zu bestimmen, wie es hier beispielhaft für die Trajektorie in [C] gezeigt wird. [E] und [F] zeigen zueinander gedrehte Ansichten einer einzelnen Trajektorie (Dauer 7 Sekunden). Das Tier wurde mittels einmaligem Blinken einer blauen Leuchtdiode (das rotes Quadrat zeigt deren Position im Raum) stimuliert und schwamm daraufhin zwei Drittel der Strecke eines in einer Ebene liegenden Ovals um die Leuchtdiode herum, wobei es auf einem Stück (grüner Pfeilkopf) bei erhöhter Schwimmgeschwindigkeit (von 21 cm/s auf 53,8 cm/s beschleunigt) mehrfach um die Längsachse rotierte. Am Ende wurde das Tier wieder langsamer (wieder um die 20 cm/s) und ließ sich dann ohne Beinschlag schweben. Zahlenangaben an den Achsen entsprechen Zentimetern; jedes einzelne weiße Kästchen stellt einen aus einem Videoeinzelbild gewonnenen Raumpunkt dar (Aufzeichnungsrate der beiden synchronisierten Videokameras: 25 Bilder pro Sekunde).

- 202 - Ergebnisse

Tabelle 9: Beobachtetes Schwimmverhalten von Krill (M. norvegica) in Labortanks in 4 Kategorien unter verschiedenen künstlichen Umweltbedingungen

	A (langsam, grade)	B (langsam, in Spiralen)	C (schnell, grade)	D (schnell, Haken schlagend)	Σ (Gesamtanzahl der Verhaltens- beobachtungen unter den genannten Bedingungen)
Tiere im Dauerdunkel unter IR (>30 min nach dem Ausschalten des Raumlichts)	50,07% (n=649)	37,93% (n=492)	6,64% (n=86)	5,36% (n=69)	1296
Raumlicht an	25,98% (n=391)	31,77% (n=481)	18,27% (n=275)	23,98% (n=361)	1508
Tiere unter IR, Raumlicht weniger als 30 min ausgeschaltet	32,44% (n=475)	30,41% (n=445)	16,32% (n=239)	20,83% (n=305)	1464
Tiere im Dauerdunkel unter IR, zusätzlich stimuliert mit Blitzen einer blauen Leuchtdiode im Becken	43,75% (n=347)	33,54% (n=266)	14,88% (n=118)	7,83% (n=62)	793
Tiere im Dauerdunkel unter IR, mit 5HT (10 ⁻⁵ M) injiziert unter Rotlicht	36,63% (n=126)	21,51% (n=74)	20,35% (n=70)	21,51% (n=74)	344

Das eher passive Verhalten im Dauerdunkel ändert sich, wenn die Tiere unter Stress leiden. Wenn die Becken durch die Raumbeleuchtung (Neonröhren) erhellt sind, schwimmen die Tiere aktiver. Während sie vorher zu 50,07% langsam schwammen oder schwebten, geht dieses Verhalten um gut die Hälfte auf 25,98% zurück. Die schnellen Schwimmbewegungen hingegen sind viel häufiger zu beobachten. Waren sie unter ungestörten Bedingungen zusammen mit 12% der beobachteten Verhaltensweisen vertreten, nehmen sie jetzt 42,25% der beobachteten

Ergebnisse - 203 -

Verhaltensweisen in Anspruch. Da die Zeitdauer der Verhaltensweisen nicht bestimmt wurde, gibt dieses Ergebnis allerdings nicht den realen Zustand wieder: nach subjektivem Eindruck verhalten sich die Tiere viel kürzer passiv und schwimmen wesentlich häufiger schnell durch den Wasserkörper mit wenigen stationären Aufenthalten.

Betrachtet man die Situation im Tank nach dem Ausschalten der Raumlichter, beruhigt sich die Aktivität im Wasserkörper in den ersten 10 Minuten (nicht einzeln dargestellt) stark, ist aber bis zu 30 Minuten nach dem Ausschalten noch erhöht. Daher wurden die Ergebnisse der drei Intervalle 0-10, 11-20, 21-30 Minuten nach Ausschalten des Raumlichts zu einer Gruppe zusammengefasst und liegen zwischen den Bedingungen unter eingeschalteter Beleuchtung und Dauerdunkel.

Werden mittels einer im Wasserkörper positionierten blauen Leuchtdiode Blitze abgegeben, treten schnelle Schwimmverhalten gegenüber der Situation unter ungestörten Bedingungen häufiger auf (22,71% gegenüber 12%). Dabei sind vor allem gerade Trajektorien häufiger zu beobachten (14,88% gegenüber 6,64%); Trajektorien mit starken, unvorhersehbaren Änderungen der Bewegungsrichtung sind nur etwas häufiger zu registrieren (7,83% gegenüber 5,36%). Die beobachtete Erhöhung der Anzahl der schnellen Schwimmverhalten konnte nicht in einen zeitlichen Zusammenhang (im Sinne von Ursache bedingt Wirkung) mit dem Blitzen der Leuchtdiode gebracht werden: die Tiere, die sich im Aufnahmebereich der Kameras befanden, veränderten ihr Verhalten meist nicht.

Eine Ausnahme stellen zehn Tiere dar. Acht von diesen schwammen langsam vor sich hin, stoppten kurz nach dem Blitz, und schwammen dann langsam weiter. Zwei Tiere reagierten, indem sie eine ovale Trajektorie um die Leuchtdiode herum schwammen und sich dabei um die Längsachse drehten (Abbildung 110 [E], [F]). Ein Tier erreichte dabei eine Höchstgeschwindigkeit von 53,8 cm pro Sekunde. Eine biolumineszente Reaktion der Tiere wurde in keinem einzigen Falle registriert.

Vorher im Dunkel gehaltene Tiere, denen unter Rotlicht eine serotoninhaltige Ringerlösung injiziert wurde, wurden leuchtend in die Becken gesetzt und zeigten eine stark erhöhte Schwimmaktivität. Sie schwammen fast so häufig Haken schlagend durch das Becken wie bei eingeschaltetem Raumlicht (21,51% gegenüber 23,98%) und häufiger schnell auf geraden

- 204 - Ergebnisse

Bahnen durch das Becken (20,35% gegenüber 18,27%). Sie schwimmen allerdings weniger in symmetrischen Spiralen (21,51% gegenüber 31,77%).

Insgesamt unterscheiden sich alle Schwimmverhalten unter veränderten Bedingungen gegenüber der Situation, in der die Tiere im Dauerdunkel gehalten wurden, signifikant (Chi-Quadrat-Homogenitätstest).

Um das Verhalten der Tiere unter einer extremen Stresssituation zu beobachten, wurden 50 Tiere bei Raumlicht in einem Becken mit der Hand ergriffen und in ein anderes Becken, unterhalb der Videokameras, geworfen. Davon waren 41 Sequenzen auswertbar (die übrigen waren nicht oder nur ungenügend im Video dokumentiert). Fünfundzwanzig der Tiere schwammen schnell auf einer geraden Trajektorie vom Ausgangspunkt fort. Siebzehn Tiere bewegten sich schnell, Haken schlagend vom Ausgangspunkt fort. Vier Tiere fingen an, langsam in Spiralen durch das Wasser zu schwimmen, und die restlichen fünf Tiere blieben zunächst am Ausgangspunkt, von dem sie sich nur langsam, treibend oder langsam schwimmend, entfernten.

3.5 Elektrophysiologische Messungen

Auf einer Forschungsreise 2002 nach Schweden wurde ein elektrophysiologischer Arbeitsplatz aufgebaut. Zwei verschiedene Experimente wurden durchgeführt.

Der Versuch elektrophysiologischer Ableitungen der Leuchtnerven bei durch Serotonininjektion zum Leuchten angeregten Tieren abzuleiten erbrachte keine Ergebnisse. Intrazelluläre Ableitungen waren praktisch nicht möglich, da die Nerven sehr dünn und kurz sind und außerdem zwischen Ganglien und Leuchtorganen eingezwängt liegen; auch war die Lage der Somata nicht bekannt. Extrazelluläre Ableitungen mittels Hakenelektroden waren ebenfalls nicht erfolgreich; wenn Signale vorhanden waren, wurden sie durch die Hintergrundaktivität der Beinmuskulatur überdeckt.

Außerdem wurde in der Ganglienkette nach extrazellulär registrierbaren Antworten auf den Raumlicht-Aus-Effekt gesucht. Diese Experimente wurden von Julia Werner (2010) im Rahmen einer Diplomarbeit auf einer Forschungsreise nach Schweden 2009 sowie an Messungen an mitgebrachten Tieren in Hamburg fortgeführt.

Diskussion - 205 -

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die Euphausiaceen, stellvertreten durch den Nordischen Krill, *Meganyctiphanes norvegica*, in Bezug auf Fragestellungen zu Form und Funktion der Leuchtorgane hin untersucht. Dabei wurden verschiedene Techniken eingesetzt, die in den nachfolgenden Kapiteln zusammen mit den Ergebnissen der Experimente diskutiert werden.

Der Krill nimmt eine wichtige Stellung in den marinen Nahrungsketten ein, und entsprechend wurde seine Ökologie in den letzten Jahrzehnten intensiv untersucht (Tarling et al., 2010). In einem derart langen Zeitraum werden regelmäßig neue Techniken entwickelt, deren Anwendung auf schon ältere Fragestellungen aufschlussreiche neue Erkenntnisse liefern kann. So ist bis heute nicht bekannt, wofür der Krill seine Leuchtorgane verwendet.

Daher wurden in einem ersten (morphologisch-histologischen) Teil u.a. rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Leuchtorgane mit 3D-Rekonstruktionen aus
Semidünnschnittserien kombiniert, um die Beweglichkeit der thorakalen und abdominalen
Leuchtorgane erklären zu können. Des Weiteren wurden pharmakologische Versuche
durchgeführt, um die Steuerung des Leuchtvorgangs durch das Nervensystem zu verstehen.
Diese Untersuchung wurde erweitert durch Immunfärbungen zur zellulären Lokalisation der
am Leuchtvorgang beteiligten Botenstoffe. Außerdem wurden einige weitere Stimuli, die Krill
kontrolliert zum Leuchten bringen können, untersucht.

In einem zweiten Teil wurde die natürlich vorkommende Biolumineszenz im Lebensraum des Krill mittels Aufzeichnung von Leuchtereignissen mit Lichtvervielfacherröhre (Englisch "Photomultipliertube, PMT") untersucht. Dazu wurden mit diesen Geräten ausgestattete Messsonden in verschiedenen Tiefen zu verschiedenen Jahreszeiten im Gullmarfjord an der Westküste Schwedens positioniert. Flankiert wurden diese Messungen mit Laboruntersuchungen, die prinzipiell die Bedingungen im Fjord nachstellen sollten, um eine Verbindung zwischen individuellem Verhalten und Lichterzeugung herstellen zu können.

- 206 - Diskussion

4.1 Morphologische und histologische Untersuchungen der Leuchtorgane

Im Kapitel über die Geschichte der histologischen Untersuchungen an den Leuchtorganen von Krill habe ich versucht, in einer Schemazeichnung (Abbildung 9), basierend auf den Modellen nach Petersson (1969) bzw. Herring und Locket (1978), die bekannten Informationen zu präsentieren und auf Fragestellungen bezüglich der Verbindung der Leuchtorgane zu ihrem peripheren Umfeld sowie ihrer Beweglichkeit hinzuweisen. Mit den in dieser Arbeit dargestellten Ergebnissen kann ich dieses Modell nun erweitern (Abbildung 111).

4.1.1 Bewegungsapparat der thorakalen Leuchtorgane

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, wie die Drehung der thorakalen Leuchtorgane um ihre Rotationsachse höchstwahrscheinlich realisiert ist (Abbildung 112). Das einzelne Leuchtorgan ist beiderseitig lateral befestigt; zentral durch diese Anknüpfungspunkte direkt an der Kutikula bzw. lateral bei den Leuchtorganen des zweiten thorakalen Segments an einem Apodem führt die Rotationsachse. Eine Bewegung durch Muskel wird nur auf einer der beiden Seiten realisiert; auf der gegenüberliegenden ist nur ein sehnenartiges Ligament vorhanden, welches vermutlich über Torsionskräfte das Leuchtorgan in einer Ausgangsposition hält.

Die zwei Muskel laufen halbkreisförmig aufeinander zu und treffen sich an der Stelle, durch welche die Rotationsachse verläuft. Dorsal um sie herum verläuft haubenförmig ein relativ dickes Ligament, welches sowohl mit den beiden Muskeln als auch dem Leuchtorgan und der Kutikula bzw. dem Apodem fest verbunden ist. Dieses Ligament ist vermutlich sehnenartig bzw. gummiartig und hält das Leuchtorgan in einer Ausgangsposition. Bei Kontraktion eines der beiden Muskeln wird das Ligament verformt und baut dabei höchstwahrscheinlich eine Torsionskraft auf, welche das Leuchtorgan bei Erschlaffung des Muskels wieder in die Ausgangslage zurückdreht. Inwieweit die beiden Muskeln als Strecker und Beuger interagieren, ist nicht bekannt. Da die Leuchtorgane des siebten Thoraxsegments in prominenten Ausbuchtungen der Kutikula liegen und der Muskel-Ligament-Komplex lateral angeordnet ist (bei den Leuchtorganen des zweiten Segments liegt er median), könnte die Kontraktion unter visueller Beobachtung durch elektrische Stimulierung höchstwahrscheinlich überprüft werden.

Diskussion - 207 -

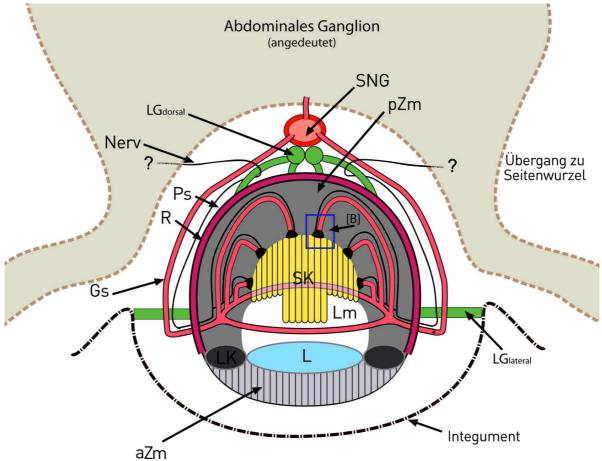


Abbildung III. Schemazeichnung für die Verbindungen der abdominalen Leuchtorgane mit dem peripheren Umfeld. Gegenüber der Ausgangslage (skizziert in Abb. 9 in der Einleitung) konnten eine große Anzahl offener Fragen beantwortet werden. Die Leuchtorgane werden von zwei lateralen Ligamenten (LGlat), durch welche die Rotationsachse verläuft, an Ort und Stelle gehalten; sie enden am Integument. Ein weiteres Ligamentsystem (LGdorsal), dorsal zwischen Leuchtorgan und Subneuralgefäß (SNG) gelegen, ist für die Bewegung um die Rotationsachse verantwortlich (siehe dort); es entsendet zwei Seitenarme von anterior und zwei Seitenarme von posterior zum Leuchtorgan. Zwei Gefäße (Gs) laufen vom SNG zum Leuchtorgan und treten seitlich ein. Vorher vereinigen die Gefäße sich mit den zwei Leuchtnerven (Nerv), die von der ventralen Oberfläche des Ganglions zum Leuchtorgan verlaufen und dabei einen Haken um einen Ligamentseitenstrang schlagen. Wo die Somata der Nervenzellen liegen, ist unbekannt (daher Markierung mit "?"). Vom SNG verläuft ein unpaares Gefäß zur Medianlinie der Ganglienventralseite und tritt dort in das Ganglion ein. Im Inneren der Leuchtorgane bilden die beiden Blutgefäße ein Ringgefäß, von dem Kapillaren abgehen. Sie laufen durch die posteriore Zellmasse (pZm) mehr oder weniger weit zum distalen Pol des Leuchtorgans und münden in den zentralen Sinus des Leuchtorgans (Lm), in dem sich der Streifenkörper (SK) befindet. Dabei läuft jeweils eine Axonkollaterale der Nervenzellen parallel zu einer Kapillare und endet nahe der Verdickung, welche das Endstück der Kapillare umgibt (die genauere Anordnung im Bereich [B] siehe Abbildung 115). L Linse; aZm anteriore Zellmasse; LK. R Reflektor; Ps.

- 208 - Diskussion

4.1.2 Bewegungsapparat der abdominalen Leuchtorgane

Die Realisierung der Drehung der Leuchtorgane des Abdomens um ihre Rotationsachse ist kompliziert aufgebaut (Abbildung 113). Eine ähnliche biomechanische Konstruktion ist mir aus dem Tierreich nicht bekannt.

Die vier Leuchtorgane liegen in Ausbuchtungen der Kutikula und sind seitlich über dünne Ligamente mit ihr verbunden. Zwischen diesen Verbindungen verläuft die Rotationsachse. Die Leuchtorgane werden nicht einzeln von Muskeln gedreht. Vielmehr sind sie über ein Ligamentsystem, welches vom ersten bis zum fünften Abdominalsegment zwischen Subneuralgefäß und Leuchtorganen verläuft, miteinander verbunden. Eine horizontale Verschiebung dieses Ligamentssystems (bestehend aus zwei Strängen, die teilweise getrennt, teilweise aneinander gedrückt, möglicherweise fest miteinander verbunden sind) führt zur synchronen Rotation der Leuchtorgane, da sie jeweils über vier Seitenligamente mit dem Hauptligament verbunden sind (Abbildung 114).

Die Bewegung des Hauptligaments ist noch nicht zufriedenstellend erklärbar. Diese wurde von Hardy (1964) beschrieben und auf der Tagung der Physiologischen Gesellschaft in Oxford des selben Jahres praktisch demonstriert. Im wesentlichen kann ich seine Beobachtungen über den Bewegungsapparat der abdominalen Leuchtorgane bestätigen und muss sie nur in drei Punkten korrigieren; in einem vierten Falls besteht eine Unklarheit zwischen seinen und meinen Beobachtungen. Anders als von ihm beschrieben verlaufen zwei Seitengefäße vom Subneuralgefäß zum jeweiligen Leuchtorgan, und es führen jeweils zwei feine Nerven zu jedem Leuchtorgan. Richtig von ihm beschrieben ist, dass das Subneuralgefäß im letzten Leuchtorgan endet und dass das Ligamentsystem hinter dem vierten Leuchtorgan die Ganglienkette umkreist. Es endet dort allerdings nicht frei, sondern ist median mit der dorsalen Muskulatur verbunden. Auch hat er den unpaaren Ast des Subneuralgefäßes nicht erwähnt, welcher median in die segmentalen Ganglien eintritt.

Richtig wurde von ihm (und auch von Chun, 1896) beschrieben, dass pro Leuchtorgan vier Seitenligamente vorhanden sind, die vom anterior-posterioren Ligamentsystem zu den Leuchtorganen verlaufen. Für ein Verständnis der Funktionalität des Gesamtsystems ist es wichtig hinzuzufügen, dass jeweils zwei dieser vier Seitenligamente von anterior und zwei von posterior zum Leuchtorgan laufen, wobei sie sich kreuzen und an unterschiedlichen Enden des

Diskussion - 209 -

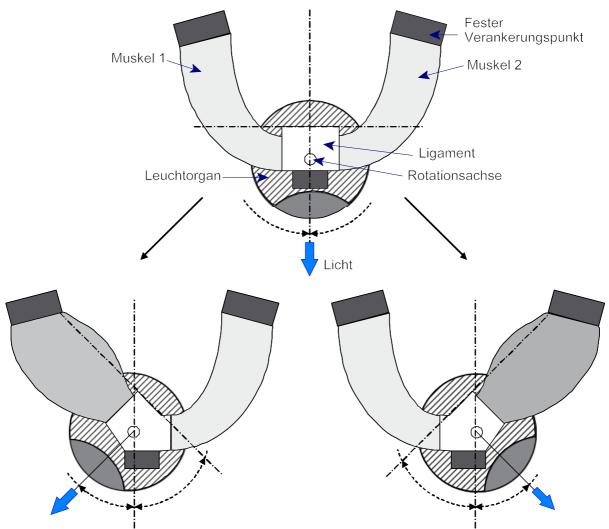


Abbildung I12. Schemazeichnung für die Rotationsbewegung der thorakalen Leuchtorgane. Zwei Muskeln, die fest an der Kutikula verankert sind (symbolisiert durch zwei feste, unbewegliche Verankerungspunkte), laufen bogenförmig aufeinander zu und treffen sich im Bereich der Rotationsachse des Leuchtorgans. Sie sind fest verbunden mit einem Ligament, welches sich dorsal um die beiden Muskelenden herum windet. Außerdem ist das Ligament auf der medianen Seite fest mit dem Leuchtorgan und auf der lateralen Seite fest mit der Kutikula bzw. Bindegewebe verbunden. Des weiteren wird die Rotationsachse durch ein Apodem abgestützt (nicht eingezeichnet). Die feste Verbindung des Ligaments mit Kutikula/Apodem/Bindegewebe wird durch einen weiteren festen, unbeweglichen Verankerungspunkt symbolisiert. Kontrahiert jetzt einer der Muskeln, wird das Ligament, welches gummiartige Beschaffenheit haben müßte, deformiert und dreht seinerseits das Leuchtorgan. Dabei wird die Austrittsachse des Lichtes in die Richtung zum Muskel hin bewegt. Erschlafft der Muskel, kehrt das Ligament in seine Ausgangsform zurück und dreht das Leuchtorgan ebenfalls in seine Ausgangslage zurück.

Leuchtorgans inserieren. Dadurch wird, bei Längsbewegung des Ligamentsystems, eine entgegengesetzte Rotation der Leuchtorgane (bzw. ihrer Leuchtachse) bewirkt.

- 210 - Diskussion

Ebenfalls bestätigen kann ich die zwei kleinen Muskeln, die im ersten Abdominalsegment von lateral posterior nach anterior zur Medianebene verlaufen und sich dort mit dem rostralen Ende des Ligamentsystem verbinden. Hinzuzufügen ist, dass das Subneuralgefäß an dieser Stelle ebenfalls von den Ligamenten umgeben ist. Anscheinend ist es mit den Muskeln und den Ligamenten fest verbunden, so dass alle drei Teile einen einheitlichen, festen Komplex bilden.

Hardy (1964) schreibt weiterhin, dass er als Antagonisten gegen die beiden Muskeln feine, elastische Bindegewebsfasern gefunden hat, die in allen vier abdominalen Segmenten mit Leuchtorganen von einer anterior-ventralen Position aus zu den Ligamenten verlaufen. Ein Antagonist ist dringend nötig für das Gesamtsystem. Leider war es mir nicht möglich, diese von Hardy beschriebenen Bindegewebsfasern nachzuweisen. Weder waren sie in unfixierten, frisch präparierten Tieren, noch in (unterschiedlich) fixierten und mit verschiedenen Methoden behandelten Tieren (Kunststoffeinbettung / Semidünnschnittserie, rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen, Paraffinschnitte, Blockpräparate für Konfokalmikroskopie) zu entdecken. Woran es liegen könnte, dass ich diese Fasern nicht entdecken konnte, ist schwer zu sagen. Entweder sie sind vorhanden und mit den verwendeten Methoden nicht beobachtbar, vielleicht habe ich sie in den Frischpräparaten übersehen und bei der Fixierung gehen sie verloren, oder aber sie sind nicht vorhanden. In letzterem Fall stellt sich die Frage, was an ihrer Stelle die Funktion des Antagonisten übernehmen könnte. Die einzige Struktur, die anterior des ersten abdominalen Leuchtorgans einen Zug nach rostral auswirken könnte, ist das Subneuralgefäß. Aber es ist relativ dünnwandig und es ist zweifelhaft, dass es die beiden Funktionen Sauerstoffversorgung und Antagonist gleichzeitig erfüllen könnte. Andererseits ist aus der dreidimensionalen Rekonstruktion des Subneuralgefäßes sowie der übrigen Hauptgefäße bis zum Herz und nach anterior in den Thorax hinein zu sehen, dass es unter Spannung steht: die segmental abzweigenden Seitengefäße des siebten und achten Thoraxsegments haben einen leichten Verlauf von median nach lateral in anteriore Richtung. Außerdem knickt das Subneuralgefäß relativ stark von der Aorta descendens nach posterior ab und ist zusätzlich durch den Durchtritt durch die Ganglienkette gesichert.

Diskussion - 211 -

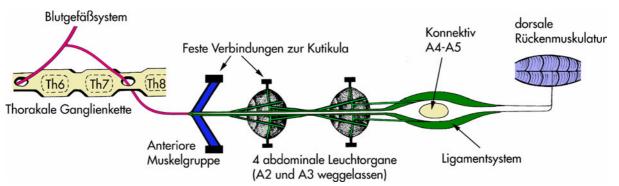


Abbildung 113. Schematische Modellzeichnung der an der Rotation der abdominalen Leuchtorgane möglicherweise beteiligten Strukturen. Ganglienbereich mit Blutgefäßsystem dorso-laterale Ansicht, posterior davon Dorsalansicht, die dorsale Rückenmuskulatur ist von ventral gezeichnet. Die Zeichnung gibt nicht die realen Größenverhältnisse wieder. Von der Aorta descendens spaltet sich an der Grenze zwischen fünftem und sechstem Thorakalsegment ein nach posterior laufender Ast ab (Arteria abdominalis inferior bzw. abdominales Subneuralgefäß), der zwischen den Thorakalganglien der Segmente sieben und acht durch das Nervensystem hindurchtritt und bis zum vierten Abdominalsegment läuft. Im ersten Abdominalsegment treten, von der Kutikula horizontal nach anterior verlaufend, zwei Muskel an das Gefäß heran; an der gleichen Stelle bildet sich ein Ligamentsystem aus, welches das Gefäß zunächst komplett umhüllt und mit ihm und den Muskeln fest verbunden zu sein scheint. Das Ligament spaltet sich in zwei Äste, die parallel nebeneinander durch das Abdomen verlaufen und im Bereich des vierten und fünften Abdominalsegments verdicken und um das Konnektiv herum nach dorsal ziehen. Daraufhin verdünnen die beiden Fasern sich zusehends, bis sie median in die dorsale Rückenmuskulatur eintreten und dort anscheinend enden. Oftmals sind die beiden Hauptäste von einer Membran umhüllt, so dass sie in REM-Aufnahmen als einheitlicher Strang erscheinen. Segmental laufen vier Seitenäste von anterioren bzw. posterioren Bereichen (relativ vom Leuchtorgan gesehen) von den Hauptsträngen zu den Leuchtorganen. Die Leuchtorgane selbst sind lateral fest mit der Kutikula verbunden und bilden dort eine horizontale Rotationsachse.

4.1.3 Immunfärbungen

Die Regulierung der Biolumineszenz bei Krill wird schon seit vielen Jahren diskutiert. Es sind prominente Nerven beschreiben worden ("Leuchtnerven"), die von den segmentalen Ganglien durch den Extrazellulärraum zu den jeweils zugehörigen Leuchtorganen verlaufen (Chun, 1883). Petersson (1986) fand in Paraffinschnitten axonähnliche Strukturen, die sich um die Kapillaren winden sollten. Einen ersten Hinweis auf die Beteiligung biogener Amine fand Kay (1963), als er Serotonin in das Wasser von Aquarien gab, in denen Exemplare von Meganyctiphanes norvegica schwammen: die Tiere begannen zu leuchten. In einer elektronenmikroskopischen Arbeit fanden Harvey (1976) und später Herring und Locket (1978), dass es um die Endstücke der Kapillaren, die im Inneren der Leuchtorgane in einer Lakune enden und von Bassot als "bâttonets" bezeichnet werden (Bassot, 1960), eine

- 212 - Diskussion

Ansammlung von elektronendichtem Material (filamentöse tubuläre Elemente) gibt und das Innere der Kapillaren stark in Längsrichtung gefaltet ist. Dadurch ist das Lumen stark verkleinert. Sie vermuteten, dass es sich um eine Art "Sphinkter" mit kontraktilen Elementen handeln könnte, welcher den Durchfluss der Hämolymphe reguliert.

Die chemische Reaktion, bei der Lichtquanten freigesetzt werden, benötigt Sauerstoff (Shimomura & Johnson, 1967). Der Ort der Quantenfreisetzung ist bisher nicht bekannt. Es ist möglich, dass es sich bei den Zellen, die den Streifenkörper bilden, welcher den größten Teil der Lakune im Zentrum des Leuchtorgans einnimmt, um Leuchtzellen handelt und die chemische Reaktion in oder am Streifenkörper abläuft. Wenn die chemische Reaktion über die Zufuhr von Sauerstoff geregelt wird, dürften die Leuchtorgane bei geschlossenen Sphinktern nicht leuchten.

In den elektronenmikroskopischen Aufnahmen fanden Herring und Locket (1978) auch eine große Anzahl von intrazellulären Vesikeln, die sie als synaptische Vesikel mit Neurotransmitterfüllung ansprachen. In der Folgezeit konnte mittels Antikörperfärbungen gezeigt werden, dass es im Inneren der Leuchtorgane ein Netzwerk von serotonergen Nervenendigungen gibt (Fregin, 2001; Krönström et al., 2007), die parallel zu den Kapillaren laufen und an den Kapillarendköpfchen enden (Krönström et al., 2009). Des Weiteren scheint Stickstoffmonoxid (NO) an der Regulierung innerhalb der Leuchtorgane beteiligt zu sein (Krönström et al., 2007): NO-Spender, in die Hämolymphe injiziert, senkten die durch Serotonininjektion ausgelöste Lichtproduktion signifikant, wohingegen Inhibitoren der NO-Synthetase (NOS) eine stimulierende Wirkung hatten. NOS-artige Immunreaktivität wurde in den Leuchtorganen in den Kapillarbereichen gefunden (Krönström et al., 2007).

Die Injektion von muskelrelaxierenden Stoffen führt zur Auslösung der Biolumineszenz, auch ohne zusätzliche Gabe von 5-HT; verschiedene muskelkontrahierende Substanzen ergaben hingegen ein uneinheitliches Bild (Krönström et al., 2009): sie selbst lösen kein Leuchten aus. Mit Serotonin zusammen appliziert hingegen können sie das Leuchten gegenüber der Kontrolle verstärken oder abschwächen. Wo diese Substanzen wirken, ist nicht bekannt. Da sie aber über die Hämolymphe im Tier verteilt wurden, ist möglicherweise sämtliche Muskulatur im Körper beeinflusst worden.

Diskussion - 213 -

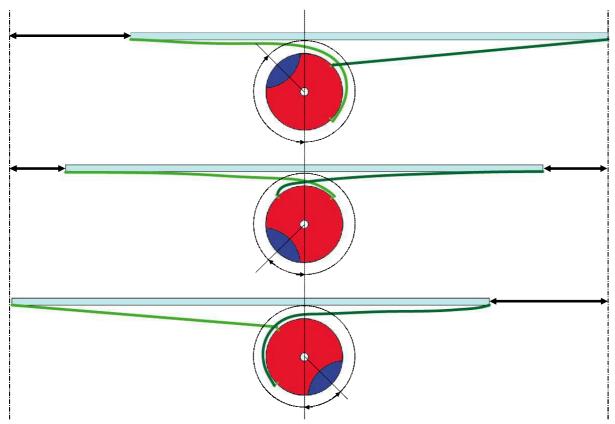


Abbildung II4. Schemazeichnung für die Rotationsbewegung der abdominalen Leuchtorgane. Eine Verschiebung des Hauptstrangs (hellblau) des Ligamentsystems in anteriore Richtung (links in der Abbildung) würde über die Umlenkfunktion der je zwei anterioren und posterioren Seitenäste (hier nur zwei in hell- und dunkelgrün schematisch dargestellt) eine Rotation des Leuchtorgans um seine Rotationsachse bewirken. Dabei würde die Richtung des ausgestrahlten Lichtes gegenläufig in ventral-posteriore Richtung umgelenkt werden. Da die vier Leuchtorgane alle am selben Hauptstrang hängen, würden alle vier Leuchtorgane synchron rotieren.

In einer weiteren elektronenmikroskopischen Arbeit (Krönström et al., 2009) wurde die Sphinkterregion erneut untersucht. Sie zeigt im wesentlichen die gleichen Ergebnisse wie die von Herring & Locket (1978). Die von beiden Gruppen als Kapillare bzw. Kapillarlumen angesprochene Struktur hat einen Durchmesser von 1,5-2 µm, um sie herum ist ein dichtes Netz an Filamenten. Auch Harvey (1976) zeigt den Querschnitt einer von ihm als Kapillare angesprochenen Struktur, sie ist aber bei weitem nicht so fingerförmig ausgebildet wie die auf den Abbildungen in den beiden vorher genannten Publikationen. Er zeigt auch zwei Kapillaren in unterschiedlichem Kontraktionszustand (kontrahiert, expandiert). Harvey zeigt auf einer anderen Abbildung eine Struktur, die eher der von Krönström et al. bzw. Herring & Locket gezeigten entspricht, und die er als "rod mass", also als Teil des Streifenkörpers, definiert. Abbildungen vergleichbarer Strukturen sind bei Arbeiten über Arterien von Krebsen nicht zu

- 214 - Diskussion

finden (vergleiche z.B. Taylor & Taylor, 1986; Chan et al., 2006; Cavey et al., 2008). In einer elektronenmikroskopischen Arbeit von Bassot (1960) über die Leuchtorgane bei *Euphausia pellucida* ist eine Kapillare im Querschnitt zu sehen. Sie weist ebenfalls die große Oberflächenvergrößerung durch Invaginationen der Oberfläche auf, verfügt aber noch über ein relativ großes Volumen und ist nicht von vielen Strukturelementen umgeben, wie es für die Sphinkterregion gezeigt wurde. In ihrer Umgebung sind viele Nervenendigungen zu finden.

Die großen Arterien der Krebse bestehen normalerweise aus drei Schichten (siehe auch Abbildung 59 A); die Kapillaren in den Leuchtorganen stellen stark reduzierte Strukturen dar, bei denen anscheinend nur noch Basillarmembran und umgebende Perizyten vorhanden sind (Harvey, 1976). Am ehesten ähneln sie den kontrahierten, peripheren Typ-2-Blutgefäßen bei Cephalopoden (Barber & Graziadei, 1965) oder feinen Arterien zur Versorgung von Nerven, ebenfalls bei Cephalopoden dokumentiert (Barber & Graziadei, 1967a). Eine starke Innervierung ist bei diesen Blutgefäßen häufig vorhanden (Barber & Graziadei, 1967b). Auch die kollabierten Gefäße in Embryonalstadien bei Nemertini haben eine ähnliche sternförmige Figur (McClintock-Turbeville, 1986). Bei größeren Strukturen, die zur Durchleitung von Flüssigkeiten dienen und über Absperrmechanismen verfügen, sind oftmals ähnliche sternförmige Formen zu finden (z.B. bei der menschlichen Speiseröhre oder beim Harnleiter) (Bargmann, 1959; Freeman & Bracegirdle, 1971; Bucher & Wartenberg, 1989; Fiedler & Lieder, 1994). Das die Kapillaren in den Leuchtorganen kontraktil sein könnten, ist daher rein funktionell möglich. Es könnte aber auch sein, dass es sich um rein strukturverstärkende Elemente handelt, die zur Verankerung der Kapillaren beim Übergang zum Sinus dienen.

In der vorliegenden Arbeit habe ich verschiedene Techniken, unter anderem Immunfärbungen verwendet, um die oben genannten Befunde zu überprüfen und gegebenenfalls weitergehende Betrachtungen zu liefern. Die Antikörperfärbungen gegen Serotonin bestätigen, dass einzelne Axone entlang der kleinen Kapillaren der Leuchtorgane (mit fluoreszenzmarkiertem Phalloidin gefärbt) verlaufen und sowohl Axone als auch Kapillaren am Übergang zwischen Gewebe und zentralem Sinus gemeinsam enden. Im Augenleuchtorgan scheint es sich um ein einzelnes Axon zu handeln, welches sich von ventral kommend in mehrere Dutzend Kollaterale aufspaltet, welche um das Leuchtorgan herum nach dorsal verlaufen. Dabei sind sie gleichmäßig über die Oberfläche des Sinus verteilt. Die seitlich endenden Kollateralen knicken teilweise leicht ab. Bei ihnen enden die möglicherweise Synapsen darstellenden globulären Endstrukturen aber nicht an bzw. um die Verdickung am Ende der Seitenäste, sondern bilden

Diskussion - 215 -

einen Kragen in Form einer Halskrause um die Kapillare vor der Verdickung. Bei den proximal endenden Kollateralen ergibt sich ein anderes Bild: sie enden nicht homogen in einem Kragen, sondern ihre Synapsen sind über 30-50 µm um das Endstück der Kapillare verteilt, mit besonders dichten Ansammlungen um die Verdickung der Kapillare herum. Ob die Axonendigungen auf der Oberfläche der Blutgefäße oder den sie umgebenden Zellen enden, ist nicht zu erkennen.

Eines der Axone, welche durch die pro abdominalen Leuchtorgan paarig vorhandenen Leuchtnerven ziehen, ist serotonerg. Ein weiteres könnte octopaminerg sein.

Aufschlussreich ist eine Färbung mit einem Antikörper gegen einen 5-HT₁-Rezeptor in Krebsen, 5-HT_{1crust}. Er färbt eine einzelne Struktur in den Leuchtorganen von Auge, Thorax (nicht gezeigt) und Abdomen gleichermaßen an: den Streifenkörper und teilweise die ihn bildenden Zellen, nicht aber die Verdickungen an den Endigungen der Kapillaren. Letzteres wäre zu erwarten gewesen, wenn das Serotonin auf die Sphinkterzellen einwirkt und ihre Kontraktion moduliert, um den Hämolymphdurchfluss zu regulieren. Hier sieht es hingegen so aus, als ob die Serotoninrezeptoren direkt auf dem Streifenkörper lokalisiert wären. Sollte es sich dabei nicht um ein Artefakt handeln oder um eine Fehlfärbung handeln, z.B. durch eine Einlagerung des Antikörpers in die parakristalline Struktur des Streifenkörpers, könnte aus diesem Befund geschlossen werden, dass das Serotonin nicht auf den Sphinkterbereich, sondern auf die postulierten Leuchtzellen selbst wirkt. Es wird dann möglicherweise nur in der Sphinkterregion in die Hämolymphe abgegeben; die sternförmige Struktur könnte dann eventuell einer besseren Durchmischung dienen.

Eine von mir durchgeführte Antikörperfärbung gegen acetyliertes a-Tubulin erbringt ein etwas zwiespältiges Ergebnis. Tubulin kommt in verschiedener Form in Mikrotubulistrukturen der Zellen vor (Hammond et al., 2008). Der verwendete Antikörper färbt normalerweise posttranslational veränderte mikrotubuläre Strukturen und wird routinemäßig verwendet, um Nervenzellen bzw. Neurite und ganze Nervensysteme zu markieren (Harzsch et al., 1997; Mittmann & Scholtz, 2003; Duman-Scheel et al., 2007; Kirsch & Richter, 2007; Brenneis & Richter, 2010; Rothe et al., 2011). Daher war ich überrascht, dass innerhalb der Leuchtorgane die Axonkollateralen keine Färbung zeigten. Eine zur Kontrolle durchgeführte Inkubation des verwendeten Antikörpers mit Blockpräparaten ganzer Ganglien des Krill zeigte hingegen eine starke Färbung, unter anderem auch der (teilweise abgerissenen) Leuchtnerven auf der

- 216 - Diskussion

Ventralseite der Ganglien und der Seitenwurzeln. In den Leuchtorganen selbst zeigt der Antikörper eine ähnliche Anfärbung wie der Antikörper gegen 5-HTR: der Streifenkörper und die ihn bildenden Zellen sind stark markiert. Anscheinend erkennt der Antikörper kein Epitop in den serotonergen Nervenzellen, welche die Leuchtorgane innervieren.

Da Octopamin in den pharmakologischen Versuchen eine (wenn auch kleine) Wirkung zeigte, habe ich Gefrierschnitte mit einem Antikörper gegen Octopamin inkubiert. In den Präparaten zeigt sich eine Markierung, welche der des Serotonins ähnelt: mutmaßliche Nervenseitenäste verlaufen innerhalb der Leuchtorgane und terminieren mit leichten Verdickungen an der Oberfläche der Lakune. Eine Doppelfärbung mit Serotonin wurde bisher nicht durchgeführt, es wäre interessant zu sehen, ob jeweils Paare der octopaminergen und serotonergen Axonkollateralen an den Endköpfen der Kapillaren gemeinsam terminieren. Eine Immunfärbung der Leuchtorgane gegen Synapsin jedenfalls erbrachte ein Muster, welches der Verteilung der Endköpfchen bzw. der Sphinkterregionen entspricht, andere Regionen mit Synapsen lassen sich in den Leuchtorganen nicht nachweisen. Dass in diesen Bereichen eine erhöhte metabolische Aktivität vorhanden ist, zeigt eine Anfärbung mit einem Antikörper gegen Na+-K+-ATPase. Neben einer leichten Markierung der gesamten Zellmembranen, wie es zu erwarten ist, da dieses Enzym zur Aufrechterhaltung des Grundmembranpotentials bzw. der Verteilung und Konzentration von Natrium- und Kaliumionen im Zytosol hauptsächlich beiträgt, sind besonders starke, regional separierte Lokalisationen erkennbar, die vermutlich im Bereich der Endköpfchen liegen. Solche starken Signale sind bekannt von Zellen, die in Transportepithelien liegen und z.B. für den Ionentransport verantwortlich sind (Hwang & Lee, 2007).

Aufgrund der pharmakologischen und immunhistologischen Befunde schlage ich ein neues Modell für die Regulation der Biolumineszenz bei Krill vor (Abbildung 115), welches vor allem durch die Markierungen der Serotoninrezeptoren beruht. Im alten Modell nach Krönström et al. (2009) moduliert das Serotonin kontraktile Elemente, die einen Durchfluss der Hämolymphe durch das Leuchtorgan verhindern. Die Zellen in den Leuchtorganen müssen allerdings auch mit Nährstoffen versorgt werden, wofür ein sporadischer Durchfluss möglicherweise nicht ausreichend ist. Ich schlage daher vor, dass es einen ständigen Strom von Hämolymphe durch die Leuchtorgane gibt und die Versorgung mit Sauerstoff nicht der regulierende Faktor ist. Das Serotonin wird in die Hämolymphe abgegeben, bevor sie die Kapillaren verlässt. Durch die große Anzahl gleichmäßig verteilter in die Lakune mündender

Diskussion - 217 -

Kapillaren wird eine relativ homogene Konzentration innerhalb der Leuchtorgane bewirkt. Die Serotoninrezeptoren sitzen direkt auf den Zellen, welche den Streifenkörper bilden. Durch einen bisher unbekannten Mechanismus regulieren die Rezeptoren den Leuchtvorgang. Eine Steuerung über Gi/Go des G-Proteins mit einer Absenkung des zellulären cAMP-Spiegels und einer Beeinflussung der Proteinkinase-A-Aktivität ist rein spekulativ, weitere Untersuchungen wünschenswert. Insbesondere eine genauere Lokalisation von Serotonin und Octopamin, möglichst auf subzellulärer Ebene mittels für die Elektronenmikroskopie geeigneter Immunhistochemie (Immuno-Gold-Markierungen) und einer 3D-Rekonstruktion der gesamten Sphinkterregion wären hilfreich. Auch die Anwendung anderer Serotoninrezeptorantikörper zur Bestätigung oder Widerlegung der hier gezeigten Befunde ist wünschenswert. Des Weiteren könnte die Gefrierbruchtechnik bei der Entschlüsselung der inneren Struktur der Leuchtorgane weiterhelfen.

4.2 Auslösung und Steuerung der Lichtproduktion durch Pharmaka und externe Lichtstimuli

Vor Beginn der vorliegenden Arbeit war bekannt, das Serotonin und Analoga bei Applikation in das Aquariumwasser die Leuchtproduktion bei Krill auslösen können, und das die Injektion von Serotonin in die Hämolymphe ebenfalls ein Dauerleuchten verursacht (Kay, 1965; Fregin, 2001). Außerdem löst ein schneller Übergang zwischen heller und dunkler Umgebung (Lichtintensität weit außerhalb der normalen Lebensverhältnisse des Krill; "Raumlicht ausschalten") ein Leuchten aus, welches mit durchschnittlich 90 Sekunden Latenz (30-210 Sekunden) durchschnittlich 6-8 Minuten anhält (Kay, 1965; Fregin, 2001). Zunächst diskutiere ich die Wirkung verschiedener Pharmaka auf die Lichtproduktion, anschließend die Wirkung des starken Lichtgradienten. Die Untersuchung des Verhaltens der Tiere auf Änderungen der Umgebungshelligkeit (im Rahmen der normalen Umweltbedingungen des Krill) in Bezug auf die Gegenlichthypothese werden unter 4.3.3. diskutiert.

4.2.1 Wirkung von Pharmaka auf die Lichtproduktion

Viele der biogenen Aminrezeptoren haben Kreuzreaktivitäten, d.h. sie rezeptieren mehr als ein Amin (oder ähnlichen Substanzen). So sind Dopamine, Noradrenalin, Tyramin und Octopamine, zwar in unterschiedlicher Konzentration, in der Lage, die selben Dopaminrezeptoren bei *Drosophila* zu stimulieren und damit die intrazelluläre cAMP-

- 218 - Diskussion

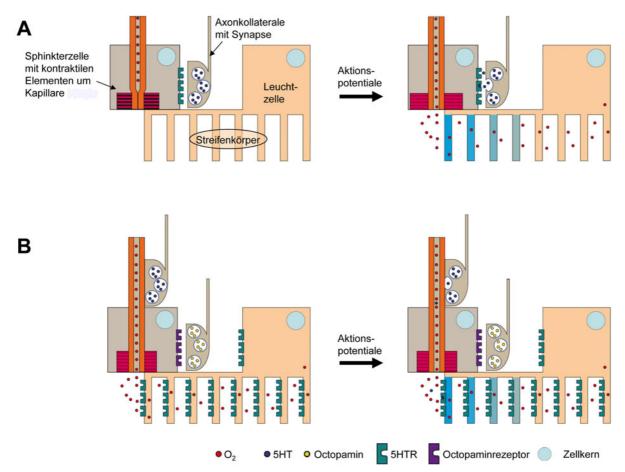


Abbildung 115. Modelle für die Lichtbildungsauslösung und Leuchtstärkeregulierung der Leuchtorgane. [A] Das Modell nach Krönström et al. (2009) postuliert, dass die serotonergen Nervenendigungen mit einer Zelle Kontakt aufnehmen, die kontraktile Elemente enthält und um die Kapillare herumliegt. Die Freisetzung des Serotonins in den Synapsen führt zu einer Aufhebung der Kontraktion und damit zu einer Öffnung der Kapillare zum Blutsinus im Zentrum des Leuchtorgans. In diesem Sinus liegt der sogenannte Streifenkörper, in welchem Luciferase und Luciferin vorhanden sein dürften, und der von den postulierten Leuchtzellen gebildet wird. Da Sauerstoff für den Leuchtvorgang benötigt wird, leuchten die Leuchtorgane bei verschlossener Kapillare nicht. [B] Modifiziertes Modell, welches die in dieser Arbeit neu hinzugewonnenen Daten einschließt. Die serotonergen Nervenzellen nehmen nicht mit der Sphinkterzelle Kontakt auf, sondern geben das Serotonin schon in die Kapillare ab, bevor sie von der Sphinkterzelle umschlossen wird. Im Normalzustand ist die Kapillare nicht verschlossen, sondern die Hämolymphe fließt kontinuierlich durch das Leuchtorgan hindurch. Da der Antikörper gegen 5HTRcrust neben dem Streifenkörper auch das Soma der Leuchtzellen markiert, könnte es auch direkt synaptische Kontakte von Nerven und Leuchtzellen geben. In den Leuchtorganen vorhandenes Octopamin könnte für die Regulierung des Hämolymphdurchflusses durch das Leuchtorgan dienen. Kurze Blitze kann keines der beiden Modelle erklären.

Konzentration zu erhöhen - Serotonin und Histamin haben in diesem Falle keine Wirkung (Han et al., 1996). Bei der Biene *Apis mellifera* hingegen wirkt Serotonin ähnlich potent wie Tyramin (Blenau et al., 1998). Bei dem Krebs *Panulirus interruptus* gilt ähnliches für Agonisten und Antagonisten der Serotoninrezeptoren 5-HT_{2bPAN} und 5-HT_{1aPAN} (Spitzer et al., 2008a).

Diskussion - 219 -

Daher habe ich einige Substanzen, die regelmäßig in Untersuchungen zu biogenen Aminrezeptoren in Invertebraten verwendet werden, getestet und ihre Wirkung auf das Leuchten bei Krill untersucht. Dabei wurde ein besonderer Augenmerk gelegt auf Substanzen, die einen Einfluss auf die intrazelluläre Konzentration von cAMP haben, da die verschiedenen Serotoninrezeptortypen unterschiedliche Wirkungen darauf haben können (also den Spiegel anheben oder absenken; Übersicht in Tierney, 2001).

Wünschenswert wäre es, wenn die Wirkung von Serotonin auf die Lichtproduktion auf einen bestimmten Rezeptortyp eingegrenzt werden könnte. Bisher wurden in Krebsen die erwähnten zwei Serotoninrezeptoren gefunden, die beide zu den G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) gehören, zu denen bis auf die 5-HT₃-Rezeptoren alle bisher bekannten Serotoninrezeptoren gehören. Rezeptoren des Typ 5-HT₁ haben einen Einfluss auf die Adenylylzyklase und führen bei Aktivierung zu einer Absenkung des internen cAMP-Spiegels. Bei 5-HT₂-Aktivierung kommt es zu einem Anstieg des freien Ca²⁺ im Zytosol. 5-HT₃-Rezeptoren sind unspezifische Kationenkanäle. Die Aktivierung der Rezeptoren der Familien 4, 6 und 7 führen zu einem Anstieg des intrazellulären cAMP-Spiegels, bei der Familie 5 scheint es hingegen wie bei der Familie 1 zu einer Absenkung des cAMP-Spiegels zu kommen (Bockaert et al., 2004; Costall & Naylor, 2004; Lanfumey & Hamon, 2004; Leysen, 2004; Nelson, 2004; Thomas & Hagan, 2004; Woolley et al., 2004).

Zunächst habe ich Krill in serotoninhaltiges Meerwasser (10-4M) überführt. Wie von Kay (1962) beschrieben, beginnen die Tiere nach einige Minuten an zu leuchten. Die Lichtproduktion nimmt ungefähr linear zu, das Signale des Photomultipliers fluktuiert aber stark. Der lineare Anstieg könnte darauf hinweisen, dass das Serotonin über normale Diffusion in die Tiere eindringt und die Konzentration am Wirkort linear zunimmt. Da die Tiere nach Überführung von serotoninhaltigen in normales Meerwasser nicht sofort aufhören zu leuchten, ist anzunehmen, dass die Wirkung durch in die Tiere diffundiertes Serotonin ausgelöst wird. Anzumerken ist, dass die in Hamburg verwendeten Tiere großenteils beschädigte Antennen hatten, wodurch eine zusätzliche Diffusionsbarriere gestört sein könnte (Wundfläche), und was eine Ursache für die große Variabilität bei der Latenz sein könnte. Setzt man die Tiere in Meerwasser ohne Serotonin, nimmt die Leuchtstärke zunächst scheinbar linear ab, ähnlich wie bei der Auslösung des Leuchtens. Es scheint so, als ob das in der Hämolymphe der Tiere gelöste Serotonin zurück in das umgebende Meerwasser diffundiert, ein aktiver Prozess zur Entfernung des Serotonins wäre in diesem Falle nicht nötig.

- 220 - Diskussion

Anders als bei der Exposition zum Serotonin ist bei der Diffusionsverdünnung allerdings kein linearer, sondern ein exponentieller Verlauf zu erwarten, und genau dieses zeigt die Aufzeichnung des Leuchtens. Die Amplitude der Lichtproduktion nimmt zunächst relativ schnell scheinbar linear ab, aber dann wird ein nur noch sehr langsam absinkendes Plateau erreicht und die Tiere leuchten noch für viele Stunden weiter (nach 7,5h wurde der Versuch abgebrochen). Eine ähnliche Abbaurate konnte für ³H-5HT in *Humarus americanus* gezeigt werden (Peeke et al., 2000), gleiches gilt für Catecholamine in Eriocheir sinensis (Hoeger & Florey, 1989). Ob es einen aktiven Prozess zur Entfernung des 5-HT in den Tieren gibt, ist bei den von mir verwendeten Konzentrationen im Gesamtkörper nicht erkennbar, da dieser bei den verwendeten Mengen weit außerhalb seiner Leistungsfähigkeit sein dürfte. Eine Bestimmung der Serotoninkonzentration in der Hämolymphe zu verschiedenen Zeitpunkten des Experiments könnte hier Aufschluss geben, ob das Serotonin wirklich in das Tier eindringt und wie es sich im Tier verteilt. Generell wird Serotonin relativ schnell aus der Hämolymphe von Krebsen entfernt (Hoeger, 1990). ABC-Transporter wurden vor kurzem im Genom von Daphnia pulex nachgewiesen (Sturm et al., 2009), eine Beteiligung von aktiven Transportmechanismen ist daher wahrscheinlich.

Die in den Messungen registrierten Schwankungen der Leuchtstärke ergeben sich aus der Schwankung der Intensität der einzelnen Leuchtorgantypen durch Rotation der Leuchtorgane sowie der Körperhaltung der Tiere, also der Krümmung des Abdomens.

Bei der Untersuchung der Wirkung von in die Hämolymphe der Tiere injizierter Substanzen wurde zunächst die Verteilungsgeschwindigkeit im Körper untersucht. Dazu wurde ein vitaler Farbstoff in die Tiere injiziert und seine Verteilung dokumentiert. Der Injektionsort war der Übergang von Thorax zu Abdomen. Der Farbstoff löst sich augenblicklich in der Hämolymphe und wird mit ihr durch den gesamten Körper verteilt. In den vier Abdominalsegmenten mit Leuchtorganen ist er in weniger als 4,4 Sekunden angekommen, für die der Thorakalsegmente benötigt er weniger als 2,2 Sekunden, und im Augenstiel ist er nach gut 7,5 Sekunden nachweisbar. Zu diesem Zeitpunkt dürfte er auch im Gehirn vorhanden sein. Vergleicht man nun die Latenz der Lichtproduktion nach Serotonininjektion an der gleichen Körperstelle, die zwischen ca. 55 und 100 Sekunden liegt (je nach Serotoninkonzentration, Unterschiede aber statistisch nicht signifikant), dauert es ungefähr eine Minute, bis das Serotonin seine Wirkung zeigt. Dies kann mehrere Ursachen haben. Zunächst muss das Serotonin an seinen Wirkort gelangen. Dazu wird es erst über die Hämolymphe im gesamten Körper verteilt. Sein Wirkort

Diskussion - 221 -

kann einerseits zentralnervös in Gehirn oder Bauchmark liegen. Dann müsste das 5-HT zunächst durch die Blut-Hirn-Schranke bzw. die Bindegewebshülle/Perineurium diffundieren.

Krebse besitzen solch eine solche Blut-Hirn-Barriere (Abbott et al., 1975; Abbott & Pichon, 1987), aber es ist nicht bekannt, ob und wenn ja mit welcher Geschwindigkeit biogene Amine oder ähnliche Substanzen sie durchdringen können. Tracer auf Proteinbasis sind nach Einbringung in die Hämolymphe bei *Astacus astacus* in Gehirn und Ganglien nachweisbar (Kristensson et al., 1972). Die Diffusionskonstanten verschiedener Substanzen durch die Blut-Hirn-Schranke sind generell sehr unterschiedlich (Bonate, 1995).

Eine weitere Möglichkeit wäre, dass das Serotonin zusammen mit der Hämolymphe in die Leuchtorgane gepumpt wird und dort, peripher, wirkt. Es wird angenommen, dass die Konzentration von Sauerstoff in den Leuchtorganen die Lichtproduktion steuert, da die chemische Reaktion von Luciferase und Luciferin Sauerstoff benötigt (siehe Einleitung) und beim Übergang der Kapillaren in den Hämolymphsinus der Leuchtorgane ein möglicher Kontrollmechanismus über einen Sphinkter den Durchfluss reguliert (Herring & Locket, 1978; Kronström et al., 2007). Anhand der pharmakologischen Untersuchungen ist dieses nicht zu klären, einige Immunfärbungen zur Lokalisation des 5-HT_{1crust} im Leuchtorgan weisen aber auf eine andere Möglichkeit hin (siehe unten).

Die Leuchtdauer der Tiere nach Serotonininjektion entsprach der von Fregin (2001) gemessenen. Dabei leuchten die einzelnen Leuchtorgane in den Augenstielen, im zweiten Thoraxsegment und im ersten Abdominalsegment gleichlang. Bei der Latenz scheint es einen Trend zu geben, dass zunächst die Augenleuchtorgane, anschließend die Abdominalorgane und zuletzt die Thorakalorgane anfangen zu leuchten, aber dies ist statistisch nicht signifikant. Es würde auch den Ergebnissen der Verteilung von Substanzen in der Hämolymphe widersprechen, und wenn es zunächst eine zentrale Entscheidung im Gehirn gibt, bei der die Leuchtorgane seriell eingeschaltet werden, sollten die thorakalen vor den abdominalen leuchten. Die Varianz ist bei den Messungen sehr groß gewesen, einerseits zwischen den einzelnen Forschungsreisen, als auch innerhalb einer einzelnen Messperiode. Daher wurde teilweise auf eine Untersuchung der Varianz auf statistische Signifikanz verzichtet. Zwar liefert eine ANOVA (p<0,05) für einige der Paarungen signifikante Unterschiede der Mittelwerte. Aber sinnvoll erscheinen die Ergebnisse nicht: dafür, dass die Latenz bei niedrigerer

- 222 - Diskussion

Konzentration gleich, bei höherer aber in einem Jahr unterschiedlich, im nächsten aber nicht ist (Abbildung 75 A, B), gibt es keine sinnvolle Erklärung.

Die untersuchten potentiell antagonistisch wirkenden Substanzen wurden mit Serotonin zusammen injiziert. Falls sie unterschiedlich lange Zeiten für die Entfaltung ihrer Wirkung haben, da sie unterschiedliche Wirkorte oder Dissoziationskonstanten haben (KD₅₀), verfälscht dieses das Ergebnis. In anderen Publikationen wurden die Agonisten oder Antagonisten beispielsweise 10 Minuten vor der Gabe des Serotonins zugeführt (Spitzer et al., 2008b). Auch wäre es wünschenswert, mehr Messungen bei verschiedenen Konzentrationen der Agonisten und Antagonisten durchzuführen, als im Rahmen der Forschungsreisen möglich war. Ein erstes Screening mit der Gabe der Substanzen in das umgebende Meerwasser könnte hilfreich sein, eine größere Anzahl von Agonisten in kurzer Zeit zu testen.

Repetitive Injektion (n=3) von Serotonin in das gleiche Tier (n=10) erbrachte keine signifikanten Unterschiede bei Latenz und Leuchtdauer, wenn der zeitliche Abstand zwischen den Injektionen ungefähr der doppelten Zeit wie der Leuchtdauer selbst entsprach (dieser Zusammenhang wurde aber nicht weitergehend untersucht). Eine Habituation oder Sensitivierung war nicht feststellbar. Wenn die folgenden Injektionen dichter an der vorhergehenden lagen, kam es zu einer Verstärkung des einzelnen Leuchtvorgangs.

Da die durch Serotonininjektion ausgelöste Leuchtdauer zwischen den einzelnen Forschungsreisen sehr variabel war, lassen sich die Messergebnisse wohl nur innerhalb einer Messperiode sinnvoll miteinander vergleichen. Daher habe ich immer Serotonin in verschiedenen Konzentrationen als Kontrolle verwendet und verschiedene Pharmaka entweder rein oder mit 5-HT in der gleichen Konzentration wie in der Kontrolle gemischt injiziert. Bei der Latenz ist eher eine Vergleichbarkeit gegeben, da hier die Variabilität niedriger ist als bei der Leuchtdauer.

Serotonin plus Kalziumchlorid

Kalzium kommt intrazellulär in sehr geringen Konzentrationen vor und dient dort als sekundärer Botenstoff. Extrazellulär ist es in eher hohen Konzentrationen zu finden (12 mM), es liegt aber relativ wenig ionisiertes Kalzium vor, das meiste ist an Proteine gebunden (Wheatly, 1996). Falls Serotonin seine Wirkung über eine erhöhte Kalziumkonzentration

Diskussion - 223 -

entfalten sollte, die durch einen Einstrom von Kalzium aus dem Extrazellulärraum bewirkt wird, sollte eine Erhöhung der extrazellulären Kalziumkonzentration einen Einfluss auf die Wirkung auf Serotonin haben. Auch könnte das Serotonin mit dem Kalzium in der Hämolymphe in Wechselwirkung treten und dann eventuell in geringerer Konzentration vorliegen, als angenommen wird. Ich habe daher Serotonin zusammen mit Kalziumchlorid in eher geringer Konzentration (0,1 mM und 1 mM) gelöst und gemeinsam injiziert. Die gefundenen Ergebnisse sind etwas schwierig zu interpretieren. Bei der Forschungsreise im Dezember 2001 ist bei Gabe von 0,1 mM Kalzium mit 10-6 M 5-HT die Latenz unverändert, die Leuchtdauer aber signifikant verringert. Dies würde darauf schließen lassen, dass die gelöste und damit wirksame Konzentration von Serotonin in der Hämolymphe niedriger ist als die für die durch Injektion theoretisch berechnete zu erwarten wäre. Bei der erhöhten Konzentration 1 mM Kalzium sind hingegen keine signifikanten Unterschiede zum Serotonin zu finden, auch wenn die Latenz scheinbar verkürzt und die Leuchtdauer gegenüber der niedrigen Kalziumkonzentration verlängert ist. Die Unterschiede zwischen den beiden Versuchen mit Kalzium zeigen hingegen sowohl bei Latenz als auch Leuchtdauer einen signifikanten Unterschied an (p<0,05). Bei der darauffolgenden Forschungsreise im März 2003 versuchte ich diesen Befund mit der Gabe von 10-5 M 5-HT zusammen mit 1 mM Kalziumchlorid zu überprüfen. Es ergab sich ein signifikanter Unterschied mit einer fast verdoppelten Latenzzeit, aber kein Unterschied bei der Leuchtdauer. Es zeigt sich also im Frühjahr das gegenteilige Bild von der Messung im Winter. Ohne weitere Untersuchungen, möglichst mit weitaus erhöhten Kalziumkonzentrationen, ist es meines Erachtens nicht möglich, diese Befunde sinnvoll zu erklären. Auch die Wirkung von EGTA, in die Hämolymphe injiziert zur Absenkung des Kalziumspiegels, sollte überprüft werden (Turetta et al., 2002).

5-HT plus Fluoxetin

Fluoxetin ist ein Serotoninwiederaufnahmehemmer (SSRI selective serotonin reuptake inhibitor), der in der Behandlung von Krankheitsbildern des serotonergen Systems bei Menschen verwendet wird, v.a. bei der Behandlung von Depressionen. Es wirkt selektiv auf den Serotonintransporter SERT (serotonin reuptake transporter) (Wolfel & Graefe, 1992) sowie auch auf den humanen Serotoninrezeptor 5-HT_{2C} (Chen et al., 1995). Ausserdem führt die Gabe von Fluoxetin wie auch die Gabe von Serotonin bei dekapoden Krebsen zu einem Anstieg der Glukosekonzentration in der Hämolymphe (Santos et al., 2001). Daher war es interessant zu testen, ob diese Substanz auch auf das Leuchten bei Krebsen wirkt. Die Messergebnisse

- 224 - Diskussion

zeigen eine signifikante Reduktion der Leuchtdauer beim durch injiziertes Serotonin ausgelösten Leuchten, aber keinen Unterschied bei der Latenz der Auslösung des Leuchtens. Zu erwarten wäre eine Verlängerung des Leuchtens gewesen, wenn das Fluoxetin auf die Abbaumechanismen des Serotonins einwirken würde.

Bei dem Krebs *Chasmagnathus granulata* bewirkt die Gabe von Fluoxetin allein eine wesentlich niedrigere Erhöhung des Blutglukosespiegels als die Gabe von Serotonin; die gemeinsame Gabe ergibt einen intermediären Wert (Santos et al., 2001). Bei dem Krebs *Orconectes limosus* ergibt sich ein ganz anderes Bild: hier wird die Glukosehämolymphkonzentration von Fluoxetin wesentlich stärker erhöht als durch Serotonin, bei gemeinsamer Gabe beider Substanzen ergibt sich nochmals eine Steigerung (Santos et al., 2001). Diese beiden Ergebnisse zeigen, dass beides möglich ist: Fluoxetin allein kann in kurzer Zeit auf physiologische Parameter einwirken, und es kann den Einfluss von Serotonin verstärken oder abschwächen.

Inwieweit meine Ergebnisse tragfähig sind, ist schwer zu beurteilen. Einerseits wurde die Substanz nicht rein verwendet, sondern aus einer Kapsel extrahiert, wo nicht ganz klar war, ob im Pulver noch andere Füllstoffe vorhanden waren, welche die Reaktivität verändern können. Außerdem sind die Unterschiede bei den Messwerten der Forschungsreise bei allen Substanzen sehr groß, die Variabilität ist hoch und die Standardabweichungen auch. Längere Inkubationszeiten vor Gabe des Serotoninstimulus sollten bei weiteren Untersuchungen in Betracht gezogen werden. Es ist auch bisher nicht untersucht worden, ob die Leuchtstärke durch die Gabe verändert wird, und ob Forskolin alleine in der Lage ist, das Leuchten auszulösen. Bei einer erneuten Untersuchung wäre auch ein Vergleich mit der Wirkung der Substanz Tianeptin interessant. Deren Wirkung als möglicher Serotoninwiederaufnahmeverstärker (SSRE selective serotonin reuptake enhancer) wird derzeit diskutiert (Kasper & McEwen, 2008). Auch Imipramine, als Inhibitor von Serotonintransportern (Wolfel & Graefe, 1992), wäre eine Überprüfung wert.

Forskolin

Forskolin diffundiert in das Zytosol von Zellen und erhöht den intrazellulären cAMP-Spiegel durch Aktivierung der Adenylylzyklase (Seamon et al., 1981) und hat bei verschiedenen Echinodermen Wirkung auf die Biolumineszenz (De Bremaeker et al., 2000; Vanderlinden et al., 2003). Auch bei biolumineszenten Haien (Etmopteridae), bei denen die Lichtproduktion

Diskussion - 225 -

durch die Hormone Melanin und Prolactin gesteuert zu werden scheint, wirkt es sich auf die Biolumineszenz aus (Claes & Mallefet, 2009). Da die meisten Serotoninrezeptoren eine Wirkung auf den cAMP-Spiegel haben, untersuchte ich die Wirkung von in die Hämolymphe injizierten Forskolin. Forskolin löst, ebenso wie Serotonin, die Biolumineszenz bei Krill aus. Dabei zeigte sich eine dosisabhängige Wirkung sowohl auf Latenz als auch Leuchtdauer. Die Latenzen von Forskolin sind unabhängig von der Konzentration (10-5 bis 10-3 M) gegenüber der von Serotonin (10-6 M) nicht signifikant verschieden. Vergleicht man aber die Wirkung der verschiedenen Forskolinkonzentrationen miteinander, ist eine signifikante Abnahme der Latenz vorhanden (einseitige ANOVA p<0,05 mit Mittelwertevergleich nach Tukey). Bei der Leuchtdauer sieht es ähnlich aus: sie steigt mit zunehmender Forskolinkonzentration an. Die Wirkung ist gut zwei Größenordnungen geringer als die von Serotonin; zwischen der Leuchtdauer 10-5 M 5-HT und 10-3 M Forskolin ist kein signifikanter Unterschied zu finden.

Es wurde berichtet, dass Serotonin in Homogenaten von Bienengehirnen (*Apis mellifera*) nicht nur die [cAMP]_i anhebt, sondern auch die von Forskolin ausgelöste Erhöhung des [cAMP]_i inhibiert (Blenau & Baumann, 2001). Eine Wechselwirkung der beiden Substanzen habe ich nicht untersucht.

Calcimycin (A23187)

Calcimycin ist ein Ionophor für Kationen, welches eine höhere Spezifität für divalente als für monovalente Ionen besitzt (Reed & Lardy, 1972), und daher gerne in Studien verwendet wird, bei denen die intrazelluläre Kalziumkonzentration unabhängig von zellulären Mechanismen erhöht werden soll. Ich konnte zeigen, dass es bei der Injektion in die Hämolymphe von Krill die Lichtproduktion auslösen kann. Da die Konzentration der Stammlösung nicht bekannt war, kann ich keine genauen Aussagen zur Potenz dieser Substanz machen. Die Latenz scheint gegenüber Serotonin verkürzt zu sein, aber der Unterschied ist nicht statistisch signifikant. Die Anhebung des intrazellulären Kalziumspiegels scheint in der Auslösung und Aufrechterhaltung des Leuchtens involviert zu sein, die Frage bleibt, an welcher Stelle dies geschieht.

5-HT plus Diazepam

Diazepam ist ein klassisches Benzodiazepine ("Valium"). Neben seiner Wirkung auf den GABA-Rezeptor (was bei Aktivierung eine Erhöhung des Einstroms von Chlorid bewirkt)

- 226 - Diskussion

(Möhler, 2001), blockiert es ähnlich wie Magnesium und Kobalt Kalziumkanäle (Taft & Delorenzo, 1984). Es wäre also, falls es für den Leuchtvorgang notwendige Kanäle blockieren könnte, mit einer Veränderung, vermutlich einer inhibierenden Wirkung durch die Blockade eines Kalziumeinstroms, zu rechnen. Dieses ist nicht der Fall, die Unterschiede zur Kontrolle sind nicht signifikant.

5-HT plus Pimozide

Pimozide ist eine Substanz, welche diverse postsynaptische Rezeptoren und verschiedene Kanaltypen blockiert, unter anderem GIRK-Kanäle (G-proteingekoppelte einwärtsgleichrichtende Kalium-Kanäle) (Kobayashi et al., 2000) und Kalziumkanäle des L-Typs (in nanomolaren Konzentrationen) (Ito et al., 1996). Es soll 5-HT_{2A}- Kanäle relativ stark, 5-HT_{1A}-Kanäle schwach blockieren (Richelson & Souder, 2000), was aber auch an der Aktivierung von 5-HT₇-Kanälen liegen könnte, die ein ähnliches pharmakologisches Profil aufweisen (Neumaier et al., 2001). Von mir zusammen mit Serotonin (10-5 M) in gleicher Konzentration verabreicht, hat Pimozide keinen signifikanten Einfluss auf die Biolumineszenz des Krill, auch wenn Latenz und Leuchtdauer verkürzt erscheinen.

5-HT plus Propanolol

Propanolol wird aufgrund seiner Blockierung von β_1 - und β_2 - adrenergen Rezeptoren ("Betablocker") verwendet, um die Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin zu beeinflussen. Es ist aber auch ein potenter 5-HT₁-Antagonist (Cazalets et al., 1992). Zusammen mit Serotonin (10-5 M) in zehnfach höherer Konzentration in Krill injiziert, ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle, auch wenn die Leuchtdauer ein wenig verringert erscheint.

5-HT plus Methiothepin

Methiothepin ist ein nichtselektiver Antagonist der 5-HT-Rezeptoren in Vertebraten (Monachon et al., 1972; Restrepo et al., 2010). Die Wirkung von Serotonin wird von Methiothepinmesylatsalz in HEK-Zellen, welche die aus dem dekapoden Krebs *Procambarus clarkii* klonierten 5-HT_{2bPro} exprimieren, geblockt, jedoch nicht in Zellen, die 5-HT_{1aPro} exprimieren (Spitzer et al., 2008b). In Krill verkürzt Methiothepin, in zehnfachhöherer

Diskussion - 227 -

Konzentration als Serotonin (10-5 M) gegeben, signifikant die Leuchtdauer der vom Serotonin ausgelösten Biolumineszenz; die Latenz ist nicht signifikant verändert.

5-HT plus Tyramin

Tyramin ist ein biogenes Amin, welches in Invertebraten weit verbreitet vorkommt. Es ist nicht nur ein Vorprodukt in der Octopamin-Synthese (Lange, 2009), sondern ein eigenständiger Botenstoff mit eigenen, spezifischen G-Protein gekoppelten Rezeptoren (Blenau et al., 2000). Es löst einen Anstieg des intrazellulären Kalziumspiegels aus und kann den von Forskolin ausgelösten Anstieg von [cAMP]_i inhibieren (Poels et al., 2001). Zusammen mit Serotonin appliziert, hat es auf die Biolumineszenz von Krill keinen signifikanten Einfluss.

8-OH-DPAT

8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin, kurz 8-OH-DPAT, ist in Vertebraten ein spezifischer 5-HT₁-Agonist (Tricklebank et al., 1984). Bei gleicher Konzentration erreicht er ungefähr 40-80% der Wirkung von Serotonin auf die cAMP-Produktion, und kann auch die Wiederaufnahme von Serotonin hemmen (Cazalets et al., 1992; Assie & Koek, 1996). Er scheint auch agonistisch auf den 5-HT₇-Rezeptor zu wirken (Sprouse et al., 2004). In *Panulirus* und *Procambarus* ist seine Wirkung auf 5-HT_{2bPan} und 5-HT_{2BPro} sowie auf 5-HT_{1aPan} und 5-HT_{1aPro} in etwa gleichartig wie Serotonin selbst und die Substanz damit kein spezifischer Agonist oder Antagonist für diese beiden Rezeptortypen in dekapoden Krebsen (Spitzer et al., 2008b). Bei meinen Messungen in Krill löste er zuverlässig das Leuchten aus, es war aber eine wesentlich höhere Konzentration nötig (10-3 M gegenüber 10-5 M 5-HT). Bei der um zwei Größenordnungen höheren Konzentration kam es zu einer signifikant verkürzten Latenz und einer signifikant verkürzten Leuchtdauer.

5-Methoxytryptamine

5-Methoxytryptamine (5-MT) ist ein nichtselektiver Serotoninagonist, der bis auf den 5HT₃-Kanal für alle bisher bekannten Serotoninrezeptoren wirksam ist, wenn auch mit unterschiedlicher Affinität (Wu et al., 1988; Craig et al., 1990; Cazalets et al., 1992; Amemiya et al., 1996; Yamada et al., 1997; Hemedah et al., 1999). Bei Krill löst diese Substanz das Leuchten aus, ist dabei aber weniger wirksam als Serotonin. Die Latenzen sind nicht signifikant

- 228 - Diskussion

verändert, was darauf schließen lässt, dass 5-MT am gleichen Ort wirksam ist wie Serotonin. Die Leuchtdauer ist kürzer als bei vergleichbaren Serotoninkonzentrationen, eine mindestens zehnfach größere Menge ist nötig, um einen ähnlich starken Effekt zu bewirken.

5-HT plus Octopamin

Octopamin fungiert in Invertebraten als Neurotransmitter, Neuromodulator und auch als Neurohormon (Orchard, 1982; Lange, 2009). In vielen Fällen ist es ein Gegenspieler des Serotonins, serotonerge und octopaminerge Nervenzellen lösen unterschiedliche Antworten bei den Zielorganen aus (Livingstone et al., 1980; Kravitz et al., 1984; Claassen & Kammer, 1986; Linn & Roelofs, 1986; Erber et al., 1993; Antonsen & Paul, 1997; Djokaj et al., 2001). In einer vorherigen Untersuchung (Fregin, 2001) hatte ich einen negativen Einfluss von Octopamin auf die durch Serotonin ausgelöste Biolumineszenz bei Krill gefunden, bei der ich das Octopamin in schon leuchtende Tiere injizierte. Daraufhin kam es zu einer Abnahme der Leuchtstärke. In der vorliegenden Untersuchung habe ich Octopamin und Serotonin gleichzeitig injiziert und Latenz als auch Leuchtdauer der biolumineszenten Reaktion gemessen. Dabei zeigte sich kein signifikanter Unterschied bei beiden Parametern, das Octopamin scheint keinen Einfluss auf Latenz und Leuchtdauer zu haben.

4.2.2 Zusammenfassende Betrachtung der pharmakologischen Experimente

Das Modellsystem der Biolumineszenz bei Krill zur Untersuchung von Wirkstoffen, die auf das serotonerge System wirken, ist bis heute eine Black Box, da die Wirkorte der Substanzen nicht bekannt sind. Sie könnten sowohl zentral als auch peripher wirken, und da die Substanzen bei Injektion über die Hämolymphe im gesamten intakten Tier verteilt werden, können auch mehrere Mechanismen miteinander interagieren. Alle neuroaktiven Substanzen haben mehr als eine einzelne Wirkung; ihre Bedeutung haben sie nicht aufgrund ihrer Struktur, sondern durch den Schaltkreis, in welchen sie integriert sind. In der Homöostase liegen Wirkkonzentrationen, sieht man von Hormonen ab, meist nur im synaptischen Spalt vor. Wird die Substanz über das Blutgefäßsystem verteilt, können sämtliche Schaltkreise, in denen der jeweilige Wirkstoff verwendet wird, beeinflusst werden. Dieses führt z.B. bei der Anwendung von Medikamenten beim Menschen regelmäßig zu mehr oder weniger ausgeprägten Nebenwirkungen. Ähnliches ist bei der Anwendung von Substanzen *in vivo* und *in situ* beim Biolumineszenzsytem des Krill zu erwarten und muss immer mit in Betracht gezogen werden. Andererseits ist die Wirkung auf

Diskussion - 229 -

den Effektor in diesem System immer relativ einfach und in kurzen Zeiträumen messbar, was bei anderen Modellsystemen (z.B. die Wirkung von Serotonin und Octopamin auf die Dominanzhierarchie bei dekapoden Krebsen) nicht der Fall ist und einen höheren Aufwand der Analyse bedingt. Außerdem ist der Effekt am intakten Tier zu beobachten und benötigt keine Präparation wie z.B. bei Untersuchungen am stomatogastrischen System.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Pharmaka auf zwei Parameter der Biolumineszenz bei Krill untersucht, der Latenz (also der Zeitspanne zwischen Injektion der Substanz in die Hämolymphe bis zum Beginn einer messbaren Lichtproduktion der Leuchtorgane) und der Leuchtdauer. Da die Lichtproduktion oftmals die Photomultiplier in Sättigung brachte, war ein Vergleich über die Amplitude leider nicht möglich.

Bis auf in zwei Fällen ist die Latenz, mit der das Leuchten ausgelöst wird, nicht signifikant unterschiedlich bei Serotonin und den übrigen Substanzen. Kalziumchlorid, in eher niedriger Konzentration im Verhältnis zur schon in der Hämolymphe vorhandenen zusammen mit dem Serotonin injiziert, verlängerte in einem Experiment die Latenz, mit der Serotonin das Leuchten des Krill *Meganyctiphanes norvegica* auslöste. Die einzige andere signifikant veränderte Latenz ergab sich bei der Verwendung von 8-OH-DPAT, einem Agonisten, der eigentlich auf 5-HT₁-Rezeptoren wirkt. Dieser löst ebenfalls, rein ohne zusätzliches Serotonin in die Tiere injiziert, das Leuchten aus, wenn auch in wesentlich geringerer Potenz. In einer Untersuchung bei dekapoden Krebsen wirkte er allerdings unspezifisch und in fast ähnlicher Potenz wie Serotonin selbst sowohl auf 5-HT₁- als auch auf 5-HT₂-Rezeptoren (Spitzer et al., 2008b). Ich betrachte ihn daher als eher unspezifischen Agonisten, der, ähnlich wie 5-Methoxytryptophan, die Wirkung von Serotonin substituieren kann. Diese beiden Agonisten lösen das Leuchten aus, sind aber wesentlich weniger Potent als 5-HT selbst.

Calcimycin und Forskolin sind zwei weitere Substanzen, die das Leuchten verlässlich auslösen. Calcimycin bildet unspezifische Kationenkanäle in der Plasmamembran von Zellen, wodurch der intrazelluläre Kalziumspiegel ansteigt. Eine ähnliche Wirkung haben die 5-HT₂-Rezeptoren, die daneben auch zu einer Erhöhung von Inositoltrisphosphat (IP₃) und Diacylglycerol (DAG) führen. Forskolin dringt direkt durch die Plasmamembran in das Zytosol der Zellen ein und führt zu einer Erhöhung der [cAMP]_i durch Aktivierung der Adenylylzyklase. Diese wird normalerweise von G-Proteinen aktiviert, zu denen auch die Serotoninrezeptoren der Familien 4, 6 und 7 gehören und die ebenfalls eine Erhöhung der

- 230 - Diskussion

Problematisch an beiden Substanzen ist in diesem Modellsystem, in welchem die Pharmaka über die Hämolymphe im gesamten Tier verteilt werden, dass ihre Wirkung nicht auf eine Subpopulation der Zellen (mit Serotoninrezeptoren) beschränkt bleibt, sondern im Prinzip sämtliche Zellen im Tier eine Erhöhung von [Ca²+]_i und [cAMP]_i aufweisen müssten. Da die Latenz allerdings nicht signifikant unterschiedlich ist zu der von Serotonin, ist anzunehmen, dass die Auslösung des Leuchtens in den gleichen Zellen bewirkt wird.

Die von mir verwendeten Antagonisten des serotonergen Systems, Diazepam, Pimozide und Propanolol, zeigen keine signifikante Wirkung auf die Latenz und Leuchtdauer bei durch Serotonin ausgelöstem Leuchten. Sie helfen daher nicht, die einzelnen Serotoninrezeptorklassen zu differenzieren. Ähnliches gilt für Tyramin, welches keine Wirkung zeigte.

Fluoxetin ist ein Serotoninwiederaufnahmehemmer, von dem ich erwartet habe, dass er die Leuchtdauer verlängert, wenn er einen Einfluss auf die Biolumineszenz zeigt. Da er die Entfernung des Serotonins aus dem System verzögert, erhöht er bei medizinischer Anwendung beim Menschen die extrazelluläre Serotoninkonzentration. Bei gleicher Wirkung wäre auch im Krill mit einer Erhöhung der Konzentration zu rechnen, bzw. mit einer verringerten Abnahmegeschwindigkeit. Im Experiment kam es aber zu einer, wenn auch nur knapp signifikant verringerten Leuchtdauer, für die ich keine Erklärung bieten kann.

Als letzte direkt auf Rezeptorniveau mit dem serotonergen System interagierende Substanz bleibt Methiothepin zu diskutieren. Bei dekapoden Krebsen zeigte sich, dass Methiothepin als Antagonist bei 5-HT₁-Rezeptoren unwirksam ist und nur auf 5-HT₂-Rezeptoren wirkt (Spitzer et al., 2008b). Bei den Experimenten mit Krill zeigt sich eine starke Reduktion der Wirkung von Serotonin, was auf eine Beteiligung eines Serotoninrezeptors hinweisen würde, der zur 5-HT₂-Familie gehört und die intrazelluläre Kalziumkonzentration erhöht und über die sekundären Botenstoffe IP₃ und DAG wirkt. Die Wirkung von Calcimycin, welches ebenfalls wirksam ist und auch die intrazelluläre Kalziumkonzentration erhöht, scheint dies zu bestätigen. Dem widersprechen allerdings von mir durchgeführte Immunfärbungen, bei denen Gefrierschnitte der Leuchtorgane mit einem Antikörper inkubiert wurden, welcher gegen 5-HT₁-Rezeptoren in Krebsen gerichtet ist (5-HT_{1crust}) (Sosa et al., 2004). Eine Färbung mit

Diskussion - 231 -

Antikörpern gegen 5-HT₂-Rezeptoren (Spitzer et al., 2008b) könnte hier weitere Aufschlüsse liefern.

Bisher konnten bei weitem nicht alle effektiven Agonisten und Antagonisten von Serotoninrezeptoren untersucht werden. Für eine abschließende Betrachtung unter pharmakologischen Gesichtspunkten wäre es notwendig, eine Reihe von interessanten Substanzen (z.B. 5-Carboxamidotryptamin, Spiperone, Ketanserin, Ritanserin, Mianserin, EMDT, 2-Methyl-Serotonin, 1-(m-Chlorophenyl)-Piperazine, Quipazine) ebenfalls zu testen. Eine schlüssige Methode, welche helfen könnte, den Wirkort der Substanzen zu bestimmen, ist mir nicht bekannt. Den meisten Experimentatoren, die mit den Leuchtorganen gearbeitet haben, ist es nicht gelungen, ein Leuchten außerhalb der Tiere ohne Verbindung zum Blutgefäßsystem zu dokumentieren. Nur Kay (1966) berichtet, dass isolierte Photophoren in Seewasser stundenlang leuchten würden (es wird aber nicht klar, was er mit "isoliert" meint). Eventuell ist es möglich, die Leuchtorgane des Abdomens teilweise frei zu präparieren (also die Kutikula lokal von ventral her zu öffnen) und einzeln mit den genannten Substanzen zu inkubieren. Eine andere Möglichkeit wäre zu testen, ob ein Hämolymphdurchfluß durch die Leuchtorgane kontinuierlich vorhanden ist oder nur unter Gabe von 5-HT von statten geht.

Dies könnte getestet werden, indem kleine, chemisch inerte Moleküle in die Hämolymphe injiziert werden und nach einiger Zeit bei einigen Tieren zusätzlich 5-HT appliziert wird. Wenn die Tiere längere Zeit geleuchtet haben, müsste nach Fixierung überprüft werden, ob der Marker im Inneren der Leuchtorgane vorhanden ist oder nicht. [Nötig wäre eine schnelle Schockgefrierung z.B. in -80°C kaltem Aceton mit anschließender gewebeerhaltenden Fixierung, da die Tiere bei direkter Überführung in Paraformaldehydlösungen noch Leuchten können und die Abtötung relativ lange dauert.] Mit dem Wirkort steigt und fällt die Beurteilung der Wirkungen von in die Hämolymphe injizierten Pharmaka. Viele Substanzen haben viele Wirkorte, und die Hämolymphe dient als Transportsystem für alle Metabolite. Falls die Substanzen nicht in das Nervensystem eindringen sondern direkt in den Leuchtorganen wirken, kann der Krill als Modellsystem für die modulatorische Wirkung biogener Amine in Betracht gezogen werden.

- 232 - Diskussion

4.2.3 Hell-Dunkel-Reaktion

Der abrupte Übergang von einer hohen zu einer niedrigen Lichtintensität (Ausschalten einer normalen 60 W-Glühlampe kann beim Nordischen Krill eine biolumineszente Reaktion auslösen ("light/dark reaction") (Mauchline, 1960). Es gibt eine Latenzzeit nach dem Abschalten des Lichts, die Tiere leuchten unterschiedlich lange (unabhängig von Geschlecht und Größe), und das Stimuluslicht kann auch durch ein Blitzlichtgerät mit einer Einwirkzeit von wenigen Millisekunden ersetzt werden (Hardy & Kay, 1964).

In einer früheren Arbeit hatte ich einige dieser Befunde überprüft (Fregin, 2001) und unter anderem eine Abhängigkeit der Leuchtdauer und der Latenz von der Stimulusintensität gefunden: mit Abnahme der Intensität nimmt auch die Leuchtdauer ab, die Latenzzeit zeigte keine signifikante Veränderung. Bei der Überprüfung des Einflusses der Einwirkzeit des Stimulus auf diese Parameter fand ich damals keine Abhängigkeit bei der Leuchtdauer: wenn die Tiere leuchten, dann leuchten sie gleich lang. Bei der Latenzzeit fand sich eine Abnahme mit Dauer der Einwirkzeit. Da die Anzahl der getesteten Tiere aber relativ klein war (n=4 bis n=8), habe ich diesen Versuch mit zwei Lichtintensitäten (1 μW/cm² und 30 μW/cm²) wiederholt. Die hohe Lichtintensität entspricht der Intensität der Deckenbeleuchtung im Kühlraum, in dem die Tiere gehältert wurden. Wann immer möglich, wurden nebenbei Tiere getestet, wenn die Raumbeleuchtung eingeschaltet werden musste. Daraus ergibt sich die besonders große Anzahl von Tieren, die bei diesem Stimulus getestet wurde.

Innerhalb der beiden Kohorten (niedrige und hohe Lichtintensität) haben sich keine signifikanten Unterschiede sowohl bei Latenz als auch Leuchtdauer ergeben. Die Unterschiede zwischen einzelnen Tieren waren sehr groß, aber eine Abhängigkeit vom Körpergewicht war nicht vorhanden. Einen dritten Parameter, die "Gesamtenergieabgabe pro Leuchtvorgang" bzw. die Anzahl der emittierten Photonen, konnte ich nicht bestimmen, da die verwendeten Photomultiplier empfindlicher waren als in der älteren Arbeit verwendete Geräte und durch den Leuchtvorgang meistens in Sättigung gebracht wurden. Ich hatte sie gebaut, um spontane Biolumineszenz in Aquarien zu messen; um eine einheitliche und damit vergleichbare Sensitivität aller Geräte zu gewährleisten, wurden sie während einer einzelnen Forschungsreise nicht umgebaut.

Diskussion - 233 -

Bei der niedrigen Stimulusstärke ergab sich eine Abhängigkeit der Reaktivität der Tiere von der Einwirkzeit des Stimulus: sie nahm von 5% in der kürzesten Zeit bis auf 100% zu, um dann wieder abzunehmen. Bei der hohen Intensität reagierten schon zu Anfang 70% der Tiere, 100% wurden bei längeren Einwirkzeiten knapp erreicht (98,75%). Auch bei der hohen Intensität ergab sich eine Abnahme der Reaktivität mit weiter zunehmender Einwirkzeit. Anscheinend gibt es einen Schwellenwert, der überschritten werden muss (Reizsummengesetz): bei hoher Reizintensität wird die Schwelle in kürzerer Zeit erreicht.

Da sich innerhalb der beiden Kohorten keine Unterschiede ergeben haben, können alle Tiere innerhalb einer Kohorte zusammengefasst werden. Der Vergleich dieser beider Gruppen ergibt dann hoch signifikante Unterschiede (p<0,01) sowohl bei Latenz als auch Leuchtdauer: sowohl Latenzzeit als auch Leuchtdauer sind fast verdoppelt. Die Verlängerung der Leuchtdauer ist mit der Zunahme der Reizstärke erklärbar. Die Verlängerung der Latenzzeit könnte mit einer Inhibierung erklärt werden, die abhängig ist vom Reiz und deren Stärke mit der Reizintensität einhergeht und die erst überwunden werden muss, bevor das Leuchten beginnt. Da die verwendeten Lichtquellen (Weißlicht) und vor allem die Lichtintensitäten bei weitem nicht den im natürlichen Lebensraum vorhandenen Umweltbedingungen entsprechen, ist solch eine Inhibierung sehr wahrscheinlich. Sie könnte auch durch eine Schädigung der Rezeptorzellen in der Retina der Tiere bedingt sein. Werden die Tiere mit sehr niedrigen Intensitäten beleuchtet, reagieren sie nicht (Fregin, 2001), was aber mit einer Schädigung der Augen des Krill durch die Beleuchtung beim Fang bedingt sein könnte (siehe unten). Daher ist eine Überprüfung der Befunde wünschenswert, bei der Tiere verwendet werden, die bei Nacht gefangen wurden. Es sollte für die Aufzeichnung ein Photomultiplier mit variabler Empfindlichkeit verwendet werden (der bei Uberschreitung einer Schwelle automatisch in einen schwächeren Empfindlichkeitsbereich umschaltet). Eine gleichzeitige Aufzeichnung eines Elektroretinogramms (ERG) und der Schwimmaktivität (Pleopodenschlag) und der Herzschlagfrequenz bieten sich ebenfalls an. Auch ist nicht bekannt, ob Antagonisten von Serotoninrezeptoren einen Einfluss auf die Hell-Dunkel-Reaktion haben.

- 234 - Diskussion

4.3 Biolumineszenzmessungen in Fjord und Labor im Vergleich

Es war bekannt, dass im Lebensraum des Krill Biolumineszenz ubiquitär vorhanden ist. Die bisher publizierten Arbeiten konnten aber nicht gut zwischen spontaner und (unabsichtlich) stimulierter Biolumineszenz unterscheiden, weswegen in der Vergangenheit die spontane Biolumineszenz kaum beachtet wurde. Stimulierte Biolumineszenz hingegen hat sich als wertvolle Messmethode zur Charakterisierung des Meereswassers in Bezug auf Planktongehalt und anderer Parameter erwiesen (z.B. Moline et al., 2009).

Die letzten Untersuchungen zur unstimulierten, spontanen Biolumineszenz fanden zu Zeiten statt, als eine Langzeitaufzeichnung analoger Daten technisch noch recht schwierig war (Dennell, 1954; Dannell, 1955; Clarke & Wertheim, 1956; Kampa & Boden, 1956; Boden & Kampa, 1957; Clarke & Hubbard, 1959; Clarke & Backus, 1964; Hardy & Kay, 1964). Vorangetrieben wurden diese Messungen vor allem durch die Entwicklung leistungsfähiger Photomultiplier, welche die Messung von Biolumineszenz erst ermöglichten. Zur Aufzeichnung ihrer Signale musste allerdings teilweise noch auf kymographenähnliche Geräte zurückgegriffen werden (siehe Abbildung 5), was dazu geführt hat, dass die unstimulierte Biolumineszenz in diesen Untersuchungen nicht eingehender in Bezug auf Wassertiefe und Jahreszeit untersucht wurde. In allen Fällen wurde ein Messgerät von Bord eines Schiffes während einer Forschungsfahrt mehrfach in verschiedene Tiefen herab gelassen und gegebenenfalls vorhandene Biolumineszenz aufgezeichnet. Dabei zeigte sich, dass v.a. in den sonarreflektierenden Schichten viele biolumineszente Organismen vorhanden sind, die besonders zu den Zeiten der tageszeitlichen Vertikalmigration Lichtsignale aussenden.

Durch die Entwicklung von portablen Computersystemen, die mehrere analoge Kanäle mit hoher Abtastrate über sehr lange Zeiträume (gegebenenfalls monatelang) digitalisieren und aufzeichnen können, eröffnet sich die Möglichkeit, mit relativ einfachen Mitteln Langzeitbeobachtungen zu realisiseren. Dazu habe ich mehrere Lichtvervielfacherröhren in einfachen, druckfesten Gehäusen untergebracht und in verschiedenen Tiefen des Gullmarfjord positioniert. Die Aufzeichnung der Signale geschah vom Ufer aus, wo ein Computer in einem Zelt untergebracht werden konnte, wobei das Versorgungskabel jeweils von der Sonde auf den Meeresboden und dann ans Ufer führte.

Diskussion - 235 -

Im allgemeinen wird von einer starken Korrelation zwischen Blitzintensität und Blitzdauer ausgegangen (Lapota & Losee, 1984), da es sich dabei aber um stimulierte Biolumineszenz handelt, lässt sich diese Aussage nur sehr bedingt auf im Freiwasser gemessene unstimulierte Leuchtereignisse übertragen. Dinoflagellaten machen einen Großteil (oftmals 80-90%) der stimulierten Biolumineszenz aus (Lapota et al., 1988; Swift et al., 1995) und dürften auch immer eine ungefähr gleichstarke Lichtproduktion zeigen (da es sich um eine rein mechanische Stimulierung handelt, die eine ja/nein-Antwort auslöst). Da aber die Entfernung vom Ort der Lichtentstehung bis zum Sensor bei der Messung technisch stimulierter Biolumineszenz meist nur maximal 10 cm beträgt, ist eine Abnahme der Leuchtstärke in diesem Fall vernachlässigbar. Anders ist es bei unstimulierter Biolumineszenz im Freiwasser - hier nimmt die Leuchtstärke mit dem Quadrat der Entfernung ab. Aus theoretischen Überlegungen her (gleichstarke Punktlichtquellen statistisch normalverteilt im Wasserkörper) dürfte der größte Teil der aufgezeichneten Signale eher schwach sein und ins Grundrauschen der Messapparatur übergehen; nur ein kleiner Teil dürfte eine maximale Leuchtstärke aufweisen. Andernfalls müsste davon ausgegangen werden, dass es sich doch eher um stimulierte Biolumineszenz handelt, die durch die Messapparatur im Wasserkörper hervorgerufen wird.

Die Messungen zur stimulierten Biolumineszenz, kombiniert mit Messungen zu Temperatur, Photosyntheseaktivität, Fluoreszenzkapazität, Salinität und ähnlicher Parameter, können sehr wertvolle Aussagen machen zur Zusammensetzung der Lebensgemeinschaft im Plankton (Moline et al., 2009), hingegen sind Aussagen über die Wechselwirkungen der einzelnen Arten miteinander von diesem Typ an Messungen nur indirekt zu erwarten.

Das klassische Bild der Planktongemeinschaft, welche mit einem Minenfeld verglichen wurde, in dem jede örtliche Veränderung eines Organismus eine Vielzahl von Leuchtereignissen auslösen kann, baut auf der Beobachtung auf, dass – im Verhältnis zur potentiell stimulierbaren Biolumineszenz – fast keine Leuchtereignisse aufgezeichnet werden konnten. Die Frage ist, inwieweit dieses Bild stimmen kann, da eine große Anzahl von Organismen bei der tageszeitlichen Vertikalwanderung ständig Leuchtereignisse auslösen müsste. Da es sich dabei um ein Phänomen handelt, bei dem ein Großteil der vorhandenen Biomasse (der mehrzelligen Organismen) seine Position im Wasserkörper verändert, ist zu postulieren, dass eine ständige Stimulation vorhanden sein müsste. Krill, der mit seinem Fangkorb biolumineszente photoautotrophe und auch heterotrophe Organismen aus dem Wasser filtert, müsste ein großes Feuerwerk verursachen, was bisher aber noch nicht im Labor vermessen wurde. Ein

- 236 - Diskussion

Krillscharm, der sich zur Abweidung eines Planktonflecks aufgelöst hat und in einen Zustand unsynchronisierter Einzelindividuen übergegangen ist, müsste eine beträchtliche Lichtfreisetzung bewirken, die weit stärker ist als jene, die ein schnell schwimmender Krillschwarm in nahrungspartikelarmen Meerwasser auslöst.

Es gibt zwar immer mehr Forschungsunterseeboote und kabelgeführte Unterwasserfahrzeuge (ROV remote operated vehicle), welche eine ungestörte Beobachtung von Zooplankton in situ (besonders dreidimensionale Beobachtung von Krill) erleichtern sollten (Price et al., 1988), was sich aber nur zum Teil bewahrheitet hat. Und dabei war die Aufklärung des Individualverhaltens von Zooplankton ("small-scale behavior of individual zooplankters") als wichtige Perspektive für zukünftige Zooplanktonforschung bei den beiden Konferenzen "Marine Zooplankton Colloquium I & II" (Paffenhofer, 1989; Bathmann et al., 2001) an erster Stelle ("issue 1") genannt worden.

Diese eher großen und schweren Geräte, die im allgemeinen von Forschungsschiffen aus operiert bzw. gesteuert werden müssen, haben einige Nachteile (Nicol & Brierley, 2010): die Kosten für den Einsatz sind hoch, und Langzeitstudien an einer bestimmten geographischen Stelle sind nur schwer durchzuführen. Diese Gründe haben dazu geführt, dass kaum Langzeituntersuchungen durchgeführt werden bzw. nur in regelmäßigen Abständen an den gleichen Orten beprobt wird. Eine Alternative, wenn auch immer noch relativ teuer, stellt das aktuelle Konzept der fest im Meer verankerten Observatorien dar (z.B. "MarGate" von GKSS/AWI/BAH vor Helgoland, Nordsee (Pressemitteilung AWI vom 8.2.2010) oder "Polar Remote Interactive Marine Observatory PRIMO" vom Woods Hole Oceanographic Institution (WHOI) an der Palmer Station, Antarktis). Kleine, preiswerte Geräte, die fest an einer bestimmten Stelle im Ozean platziert für lange Zeiträume (Monate gegenüber Stunden oder wenigen Tagen) Messdaten liefern können, folgen dem gleichen Prinzip. Sie haben aber den Vorteil, dass sie relativ einfach in größerer Anzahl für Feldforschungen aufgebaut bzw. ausgebracht werden können (gegebenenfalls von einer einzelnen Person von einem kleinen Boot aus).

Durch meine Forschung zur unstimulierten Biolumineszenz im Gullmarfjord, Schweden, kann ich Datensätze vorlegen, die über längere Zeiträume aufgezeichnet, Aussagen über die Veränderungen der Biolumineszenz im Jahresverlauf und teilweise parallel in verschiedenen Tiefen gleichzeitig ermöglichen könnten.

Diskussion - 237 -

Die Aufzeichnungen aus dem Freiwasser wurden hinsichtlich der Anzahl der Leuchtereignisse pro Stunde in verschiedenen Tiefen zu verschiedenen Jahreszeiten hin untersucht, die einzelnen Leuchtereignisse nach Form kategorisiert, die Abstände zwischen einzelnen Leuchtereignissen gemessen und diese Parameter nach wiederkehrenden Mustern hin untersucht. Möglichst gleichzeitig zu einigen der Aufzeichnungen im Freiwasser des Gullmarfjord wurden an der am Fjord gelegenen marinbiologischen Station Kristineberg (mittlerweile umbenannt in "Sven Lovén Zentrum für marine Wissenschaften") in Tanks gehälterte Tiere ebenfalls mit Photomultipliern beobachtet.

4.3.1 Spontane Biolumineszenz im Freiwasser des Gullmarfjord und im Labor

Die Aufzeichnungen im Fjord haben eine große Datenfülle geliefert. Insgesamt wurde 602 Stunden lang aufgezeichnet. In dieser Zeit wurden 73436 Leuchtereignisse registriert. Ursprünglich sollte eine wesentlich längere Zeitspanne über gemessen werden, aber durch technische und andere, außerhalb der Einflußmöglichkeiten des Experimentators liegende Ereignisse und Probleme, waren längere Messungen nicht möglich. Da keine Eichlichtquelle zur Verfügung stand, sind die von den Photomultipliern gelieferten Signale alle unkalibriert. Eine ähnliche Fülle von Daten in einem ähnlichen Versuchsaufbau wurde bisher nur von Nealson et al. (1984) berichtet, deren Ergebnisse sich mit den hier gefundenen bestätigen lassen.

Ein Großteil der von mir aufgezeichneten biolumineszenten Signale dürfte in der Tat unstimuliert von den Messsonden gewesen sein. Zwar wurden die Amplituden nicht für alle Leuchtereignisse ausgewertet, weswegen keine entsprechenden Daten im Ergebnissteil präsentiert wurden, aber im Allgemeinen lagen gut 90% aller Blitze im Bereich 0,1-1,0 Volt (Sättigung des Photomultiplier liefert ein Signal von 10 Volt; unkalibriert). Blitze mit einer Amplitude kleiner 100 Millivolt wurden nicht ausgewertet. Lichtsignale, welche die Photomultiplier in Sättigung bringen konnten, waren im Freiwasser eher selten zu registrieren, wohingegen sie in den Laboraquarien wesentlich häufiger aufgezeichnet wurden.

Eine Ausnahme stellen die Aufzeichnungen im Flachwasser (30 Meter Tiefe) im Frühjahr 2005 dar, wo eine große Anzahl starker Blitze der Kategorie 1, vermutlich von Dinoflagellaten verursacht, registriert werden konnte. Viele dieser Blitze waren in der Amplitude vergleichbar mit den im Labor in Oberflächenwasser gemessenen Blitzen (Abbildung 101). Letztere wurden

- 238 - Diskussion

nicht vom Experimentator stimuliert, sondern vermutlich von anderen im Wasser vorhandenen Organismen ausgelöst. Mechanische Stimulierung (Klopfen gegen Aquarium) im Labor verursachte eine Lichtfreisetzung, welche die Photomultiplier sofort in Sättigung brachte.

Generell lassen sich drei Aussagen machen: biolumineszente Signale sind in großem Umfange vorhanden und in großen Teilen nicht durch die Beobachtung stimuliert. Je näher man der Oberfläche ist, um so mehr Leuchtereignisse lassen sich registrieren, was sich mit der höheren Anzahl der biolumineszenten photoautotrophen Organismen in oberflächennahen Schichten erklären lässt. Außerdem wurden im Frühjahr mehr Blitze pro Stunde aufgezeichnet als im Herbst. Darüber hinaus gehende Aussagen über rhythmisch wiederkehrende Muster lassen sich nicht machen, dafür ist die Anzahl der Messungen zu gering und ihre Variabilität zu groß. So wurde beispielsweise keine gehäufte Biolumineszenz zu bestimmten Zeiten wie der Abendbzw. Morgendämmerung gefunden. Zwar gibt es einzelne Datensätze, die solch einen Verlauf aufweisen (z.B. Abbildung 91), aber schon eine Aufzeichnung einer anderen Nacht kann das genaue Gegenteil aufweisen. Nur Langzeitaufzeichnungen über mehrere Monate könnten zeigen, ob generelle biologische Muster vorhanden sind, oder aber die Muster rein zufällig entstehen (Nealson et al., 1984).

Auch die Untersuchung der registrierten Blitze, sowohl auf Muster innerhalb der Blitzformkategorien (als Surrogatmarker für unterschiedliche Arten) als auch auf Muster in den zeitlichen Abstände zwischen den Blitzen, erbrachte keine Ergebnisse. Im Rahmen der Forschungsreisen war es nicht vorgesehen, die Biolumineszenz auf Artebene zu untersuchen, da es nur um die Frage ging, wieviel der Biolumineszenz im Freiwasser vom Krill stammt (und ob Krill über Blitze innerartlich kommuniziert). Eine diesbezügliche Bearbeitung der Fragestellung, wer da genau welche Signale produziert, wäre daher wünschenswert, da ihre Beantwortung zeigen könnte, ob verschiedene Arten in einem gemeinsamen zeitlichen Rahmen aktiv sind und sich ihre Biolumineszenz bzw. ihr Verhalten gegenseitig bewirkt.

Dass es zwischen einzelnen Blitzen einen Zusammenhang geben wird, ist wahrscheinlich, da gut 58% aller Blitze in einem zeitlichen Abstand von weniger als einer Sekunde zueinander lagen (durchschnittlich hätten 21,1 Sekunden zwischen ihnen liegen müssen). Ob ein einzelner Organismus mehrere Blitze nacheinander abgab oder mehrere Organismen nacheinander einzelne Blitze produzierten, ist nicht bekannt. Wenn man sich den Kurvenverlauf von stimulierter Lumineszenz (Abbildung 102) anschaut, in der sich ein Gegenstand linear durch

Diskussion - 239 -

das Wasser bewegt und dabei biolumineszente Einzeller mechanisch stimuliert, ergeben sich mehrere Sekunden lange Signale. (Ähnlich dürfte Signale aussehen, die durch einzelne durch das Freiwasser schwimmende Krillgarnelen oder Fische ausgelöst werden, was aber leider nicht im Labor durchgeführt und gemessen wurde). Diese sehen anders aus als die unregelmäßigen Blitzfolgen, die im Freiwasser registriert wurden, weswegen anzunehmen ist, dass aufeinander folgende Einzelblitze eine andere Ursache haben dürften. Generell scheinen die Histogramme der zeitlichen Abstände der Blitze eine größere Konstanz aufzuweisen als die der Blitzkategorien.

Hardy & Kay (1964) fanden in ihren Aufzeichnungen aus schottischen Fjorden einerseits nur vereinzelte Blitze, andererseits minutenlange Blitzfolgen (bis zu fünfzehn Minuten lang). Bei letzteren vermuteten sie, dass es sich um Schulen oder Schwärme von biolumineszenten Organismen wie Megaynctiphanes oder Thysanoessa, handeln könnte, die ab und zu an der Meßapparatur vorbei schwimmen. Etwas ähnliches konnte ich in den Aufzeichnungen aus dem Gullmarfjord nicht finden. Klusterartige Leuchtereignisse waren einzeln über 30 Sekunden und länger zu finden, die meisten waren aber kürzer (Abbildung 106). Sie sind generell sehr selten und ohne Regelmäßigkeit zu finden. Allerdings ist ein Vergleich der Messungen schwierig, da die von Hardy & Kay publizierten Abbildungen kaum eine Aussage über Blitzform und temporale Charakteristika zulassen. Prinzipiell lassen sich die biolumineszenten Mitglieder von Planktongemeinschaften bei der stimulierten Biolumineszenz anhand ihrer Biolumineszenzsignaturen artspezifisch bestimmen (Nealson et al., 1986).

Wie das Leuchten von Krill aussieht, ist immer noch nicht zu beantworten. Publiziert sind bisher nur einzelne kinetische und spektrale Parameter von stimulierter Biolumineszenz (Nealson et al., 1986), die Publikationen mit Berichten spontaner Lichtblitze haben die Blitze nicht dokumentiert. Spontan waren die Tiere bei meinen Untersuchungen im Labor nicht aktiv; auf keiner der Messreisen konnte eine Spontanaktivität festgestellt werden (zu den möglichen Ursachen siehe unten). Die Signale, die von stimuliertem Krill (entweder pharmakologisch oder mechanisch-taktil ausgelöst) aufgezeichnet wurden, haben kaum oder nur eine geringe Ähnlichkeit mit im Freiwasser gefundenen Mustern. Sie scheinen sich vor allem aus den Kategorien 1 und 2 zusammenzusetzen und aus repetitiven Elemente mit einem Abstand von 1,6-1,9 Sekunden zu bestehen. Dies wird vermutlich durch die Drehung der Tiere um ihre Längsachse bedingt. Da die Injektion von Serotonin sich aber auch auf die Muskulatur der Tiere und damit auch auf das Schwimmverhalten oder das Bewegungsvermögen generell

- 240 - Diskussion

auswirken dürfte (Livingstone et al., 1980; Harris-Warrick & Kravitz, 1984; McPhee & Wilkens, 1989; Antonsen & Paul, 1997), war eine Videoauswertung des freischwimmenden induziert-leuchtenden Krill und ein Vergleich mit nicht leuchtendem wünschenswert und wurde daher von mir durchgeführt. Es zeigte sich, dass sich das Schwimmverhalten des serotonininjizierten Krill vom nichtinjizierten unterscheidet: die Tiere schwammen wesentlich schneller und schlugen mehr Haken (siehe unten bei der Diskussion der Schwimmtrajektorien).

Prinzipiell dürfte die Messung der Biolumineszenz in küstennahen Regionen auch hilfreich sein, um die Ausbreitung invasiver Arten wie der biolumineszenten Kronenqualle *Periphylla periphylla* dokumentieren zu können.

Bei erneuten Messungen spontaner Biolumineszenz im Meer sollten die Sonden zusätzlich zu den Eigenschaften der Geräte, die in dieser Arbeit verwendet wurden, sowohl über einen Strömungsmesser als auch über einen Beschleunigungssensor (zur Klärung der Bewegung der Sonden in der Dünung) verfügen (Nealson et al., 1984). Auch wäre eine gleichzeitige Messung des senkrecht von oben kommenden Lichts und des Trübungsgrades des Wassers wünschenswert. Wellengang, Tidenhub und Windgeschwindigkeit sind weitere registrierbare Parameter. Die regelmäßige Messung der Planktondichte (und damit der Distanz der einzelnen Tiere bis zum nächsten Nachbar "nearest neighbour distance NND") und damit der Protokollierung der Planktonblüten im Frühjahr und Herbst ist ebenfalls wünschenswert. Eventuell könnten die Photomultiplier auch in näherer Zukunft gegen besonders lichtsensitive Kameras ausgetauscht werden (s.u.).

Wie dicht die Sonden am Ufer positioniert werden, könnte sich auch auf die Messergebnisse auswirken. Meine Messungen waren durch die Kabellänge (250m) zwischen Versorgungsstation am Ufer und der Sonde begrenzt. Zwar war es möglich, die Sonden bis in 100 m Tiefe zu positionieren, und die Sonaraufzeichnungen vom Fjord an der Messstelle lassen vermuten, dass die Bedingungen dort dem normalen Umfeld im Tiefenwasser in der Mitte des Fjords einige hundert Meter weiter entsprechen dürften. Eine Überprüfung dieser Annahme würde eine größere Kabellänge voraussetzen. Damit würde die Kabellänge aber einen kritischen Wert annehmen, und die Kommunikation mit der Sonde über diese Länge wäre mit den vorhanden Geräten nicht mehr ohne weiteres möglich. Sinnvoller wäre der Einbau von Kleincomputern in jedem Druckgehäuse und eine Kommunikation über das 10-Base-2-Netzwerkprotokoll. Dieses lässt Kabellängen bis 185 m zwischen den einzelnen Sonden zu und

Diskussion - 241 -

kann über Repeater bis auf eine Gesamtlänge von 925 m ausgebaut werden. Das 10-Base-5-Protokoll würde sogar bis 2500 Gesamtkabellänge zulassen, was für den Einsatz in küstennahen Gebieten ausreichend sein dürfe und durch die Verwendung von Standardkomponenten sehr preiswert ist.

4.3.2 Weitere Untersuchungen zur Biolumineszenz

Dieser und die folgenden Abschnitte behandeln die Ergebnisse vorläufiger Experimente. Diese wurden meist nebenbei und nicht als Hauptthema bei den Forschungsreisen durchgeführt und es standen nur Tiere zur Verfügung, die vermutlich geschädigt waren und kein normales Verhalten mehr gezeigt haben dürften (siehe unten). Zunächst werden die Ergebnisse in Bezug auf die Hypothese der Gegenlichterzeugung als Mittel gegen Fraßfeinde diskutiert, anschließend geht es um die innerartliche Verwendung von Biolumineszenz zur Übermittelung von Information.

4.3.2.1 Biolumineszenz als Gegenlichterzeugung zur Auflösung des eigenen Schattenwurfs

Lichterzeugung zur Auflösung des eigenen Schattenwurfs ("selfshadow concealment SSC", (Kiltie, 1988)) wird häufig angenommen, es gibt bisher aber kaum Experimente dazu (siehe Einleitung). In der vorliegenden Arbeit wurde Krill in einer vorläufigen Untersuchung (s.u.) von dorsal mit unterschiedlichen Lichtintensitäten in verschiedenen Wellenlängen beleuchtet und gleichzeitig mit einem Photomultiplier die Aktivität der ventral ausgerichteten Leuchtorgane aufgezeichnet.

In keinem Falle konnte eine Auslösung des Leuchtens durch langsame Erhöhung der Umgebungshelligkeit bewirkt werden. Außerdem haben Tiere, die künstlich durch Injektion zum Dauerleuchten bzw. kurzzeitigen Leuchten (durch abrupte Änderung der Umgebungshelligkeit - "Hell-Dunkel-Reaktion") angeregt worden waren, in keinem Falle ihre Leuchtintensität in Abhängigkeit von Veränderungen der Umgebungshelligkeit moduliert.

Ich führe dieses Messergebnis auf eine Schädigung der Tiere durch die Lichtintensitätsbedingungen beim Fang zurück. Die in den geschilderten Experimenten verwendeten Tiere wurden am hellichten Tag, meist am späten Vormittag oder am frühen Nachmittag, gefangen. Der Grund dafür war, dass um die Mittagszeit herum die

- 242 - Diskussion

Oberflächenhelligkeit am größten ist, was eine Konzentrierung des Krill in bodennahen Schichten des Gullmarfjords bewirkt. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass viele Tiere beim Fang ins Netz gehen (einige hundert Tiere gegenüber Einzelexemplaren). Außerdem kann die Zeit, die das Netz im Wasser ist, verringert werden, was zu einer geringeren Belastung der gefangenen Tiere führt. Desweiteren reduziert sich die Gefahr, dass Medusen ins Netz geraten und den Fang unbrauchbar machen.

Diese Fangprozedur wird schon lange an der Marinbiologischen Station am Gullmarfjord angewendet und gilt m.W. für alle Tiere, die in Publikationen der Station bzw. der dort arbeitenden Gastwissenschaftler Verwendung fanden (J. Strömberg, persönliche Mitteilung).

Der Hintergrund dafür ist, dass der Nordische Krill *M. norvegica* sehr empfindlich ist und es bisher nicht gelungen ist, ihn für längere Zeiträume im Labor zu halten. Darum sollte die Belastung der Tiere im Netz möglichst niedrig gehalten werden und andererseits eine möglichst große Anzahl an Tieren gefangen werden, um Verluste durch die hohe Letalität im Labor ausgleichen zu können.

Ein Nachteil der Fangmethode ist, dass die Tiere an Bord des Fangschiffes bei Überführung aus dem Auffangbehälter am Ende des Schleppnetzes in einen Transportbehälter kurzzeitig dem hellen Sonnenlicht ausgeliefert sind. Dabei kann es zu einer Schädigung der Sehpigmente bzw. der Augen der Tiere kommen. Dieser Aspekt konnte von mir bisher nicht eingehender untersucht werden (eine ERG-Messung auf einer Forschungsreise scheiterte an unvorhergesehenen technischen Problemen). Andere Wissenschaftler haben, da sie nicht auf eine funktionsfähige Sehstärke bei den Tieren angewiesen waren, meines Wissens nach diesem Punkt keine Beachtung geschenkt. Ein Fang während der Nacht, der die starke Beleuchtung verhindern könnte, war aus finanziellen Gründen nicht möglich. Bei einer einzelnen Forschungsreise wurde ein dunkles Tuch über den Eimer gehalten, um so die Sonneneinstrahlung zu minimieren, was aber auf die Tiere im Labor keinen Einfluss hatte.

Starke Lichtintensitäten können bei dunkeladaptierten Tieren zu schweren Schäden in den Augen der Crustaceen führen, die auch noch teilweise nach Monaten histologisch nachweisbar sind (Loew, 1976; Shelton et al., 1985; Meyer-Rochow, 1994; Meyer-Rochow, 2001). Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass der Krill beim Fang einer zu intensiven Umgebungshelligkeit ausgesetzt war und es dadurch zu einer Schädigung der Photorezeptoren kam.

Diskussion - 243 -

Komplett blind sind die Tiere allerdings nicht, da sie den "Hell-Dunkel-Reaktion" zeigen. Andererseits scheinen sie nicht so sensitiv zu sein, wie die Tiere, die von anderen Forschern verwendet wurden. Z.B. gelang es mir nicht, mittels Blitzlicht die Tiere zum Leuchten zu bringen. Leider fehlen in den älteren Publikationen (Mauchline, 1960; David & Conover, 1961; Kay, 1965; Doyle, 1966; Doyle & Kay, 1967; Tett, 1972) meist genauere Angaben über die Fangmethode und zu welchen Zeiten und unter welchen Lichtbedingungen die Tiere gefangen und wie sie transportiert wurden (keinerlei Angaben oder ungenaue wie "später Nachmittag im September"). Es wäre empfehlenswert, in zukünftigen Publikationen auch diese Parameter anzugeben.

Eine Untersuchung zur Biolumineszenz des dekapoden Krebses Sergestes similis (Warner et al., 1979) berichtet, dass nur Tiere, die während der Nacht und anschließend unter Rotlicht verwendet wurden, brauchbare Ergebnisse lieferten (d.h. Gegenlicht erzeugten), tagsüber gefangene Tiere hingegen nicht. In einer anderen Publikation (Hardy & Kay, 1964) wird berichtet, dass Exemplare von Meganyctiphanes norvegica, die ca. 1 Stunde vor Sonnenuntergang gefangen wurden, spontan im Labor leuchteten. Daher ist es naheliegend, dass der Nordische Krill durch einen Fang bei starker Sonneneinstrahlung so geschädigt wird, dass er nicht mehr spontan leuchtet. Dieses müsste in einer späteren Untersuchung überprüft werden.

Es wäre empfehlenswert, die Schädigung der Augen des Krill mittels ERG zu untersuchen (Myslinski et al., 2005; Matsuda & Wilder, 2010) und die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente mit Tieren, die während der Nacht gefangen wurden, zu wiederholen. An der Station am Gullmarfjord wurden zur Untersuchung der Gegenlichthypothese bisher nur Messungen mit der älteren Messapparatur "A" durchgeführt, die über zwei Lochscheiben verfügt. Diese Apparatur hat aufgrund der großen Lochscheiben und ihrer insgesamt wuchtigeren Bauform eine stärkere Vibration, die nicht ganz vom Aquarium mit dem Tier ferngehalten werden kann. Eine neu entwickelte Apparatur "B", die nur über eine Lochscheibe verfügt, konnte bisher nur mit Tieren, die nach Hamburg transportiert worden waren, verwendet werden. Eine Schädigung der Tiere durch den langen Transport ist nicht auszuschließen (viele Tiere hatten beschädigte Antennen). Diese Tiere haben zwar auf Serotoningabe normal reagiert, aber eine Gegenlichterzeugung konnte nicht gemessen werden.

Es kann allerdings auch sein, dass die Tiere allein schon durch den Fang so geschädigt werden, dass der zusätzliche Lichtstress nicht weiter verschärfend wirkt. Daher wäre eine Durchführung

- 244 - Diskussion

der Experimente an anderen Krillarten, die im Labor leichter zu halten sind und dort ein normales Verhalten wie z.B. Schwarmbildung oder Fortpflanzungsverhalten zeigen (Kawaguchi et al., 2010), wünschenswert.

Eventuell wurden die Tiere aber auch durch die Reflexion des Lichts am Aquarienboden insoweit gestört, dass sie nicht reagiert haben, ähnlich wie es für den dekapoden Krebs Sergestes similis beschrieben ist (Warner et al., 1979). Dieser Krebs variiert die Helligkeit seiner Leuchtorgane analog zur Intensität von dorsal kommendem Licht, reagiert aber kaum auf von ventral kommendes Licht.

Einige andere Tiergruppen wie z.B. biolumineszente Kalmare sind in der Lage, die Wellenlänge bzw. ihr Spektrum zu verändern, um die von ihnen emittierte Biolumineszenz an das veränderte Lichtklima in unterschiedlichen Tiefen (aufgrund der Filterwirkung des Wassers) anzupassen (Young & Mencher, 1980). Eine ähnliche Adaptation des Emissionsspektrums ist bei Krill nicht bekannt, wäre für ein "background matching", also eine optimale Anpassung an das Umgebungslichtklima aber von Vorteil. Allerdings ist solch eine Anpassung wohl eher die Ausnahme, da etwas ähnliches für biolumineszente Fische, die über Leuchtorgane mit biolumineszenten Bakterien verfügen, ebenfalls nicht berichtet wurde (Harper & Case, 1999).

Es stellt sich des Weiteren die Frage, wie sinnvoll eine Gegenlichterzeugung bei Tieren ist, die sich im Schwarm bewegen. Da die Tiere auf der dem Meeresgrund zugewandten Seite des Schwarms von den über ihnen schwimmenden Tieren abgeschattet werden, fehlt ihnen die Information über die reale Helligkeit. Eine unregulierte Biolumineszenz könnte in diesem Falle negative Begleiterscheinungen haben, wenn sie zu hell ist und Fraßfeinde anlocken könnte. Keine Biolumineszenz der Tiere würde zu einer Abschattung eines größeren Meeresbereichs führen. Predatoren dürften in diesem Falle Probleme haben, den Schattenwurf von einer generellen Abdunkelung z.B. durch Wolken zu unterscheiden (bei großen Schwärmen). Eine dritte Möglichkeit wäre, dass alle Tiere des Schwarms leuchten und so die Information von der Oberseite des Schwarms bis zur Unterseite kontinuierlich propagiert würde. Da bisher keine Berichte von Tauchern vorliegen, die einen leuchtenden Schwarm beobachtet haben, ist aber vermutlich anzunehmen, dass der Krill im Schwarmverhalten nicht leuchtet (außer bei mechanischer Stimulation).

Diskussion - 245 -

4.3.2.2 Biolumineszenz bei Krill als Kommunikationskanal

Um überhaupt die Grundlagen der Signalentdeckungstheorie (Green & Swets, 1966) auf die Verwendung von Biolumineszenz anwenden zu können, müssen eine Reihe von Parametern bestimmt werden. Ein Signal muss, um als Überträger von Information in biologischen Systemen genutzt zu werden, verschiedene Parameter erfüllen (Wiley, 1983): Redundanz, Auffälligkeit (bzw. Kontrast), kleines Signalrepertoire sowie ein "Wecksignal" ("alerting signal") zu Beginn der Informationsübertragung.

Für drei der vier Parameter können keine Angaben bezüglich der Biolumineszenz bei Krill gemacht werden. Lediglich die Auffälligkeit eines Lichtsignals im dunklen Wasserkörper des Ozeans darf als gesichert angenommen werden. Krill dürfte, wenn man die im Laborexperiment gemessene maximale Helligkeit der Leuchtorgane zugrunde legt, Signale über mehrere Meter (eventuell bis zu 30 m) wahrnehmen können.

Über das Signal-Rausch-Verhältnis lassen sich keine direkten Angaben machen. Wie in dieser Arbeit gezeigt wurde, ist Biolumineszenz im Lebensraum des Krill ubiquitär vorhanden, und sie ist, je nach Jahreszeit und Wassertiefe, mehr oder weniger intensiv ausgeprägt. Ob die gemessene Biolumineszenz spontan war oder durch Stimulation der Organismen durch den Experimentator ausgelöst wurde, ist nicht eindeutig zu belegen (aber aufgrund der Leuchtstärke ist erstes naheliegend, s.o.). Da aber die Messungen nur mittels Photomultiplier durchgeführt wurden, die keine Rauminformationen liefern, kann über die Verteilung der Leuchtereignisse im Wasserkörper (nahe am Photomultiplier oder weiter entfernt) keine Aussage getroffen werden.

Möglich sind eine Normalverteilung der Leuchtereignisse im Wasserkörper als auch eine örtliche Gruppierung. Aus technischen Gründen liefern mehrere Photomultiplier, die gleichzeitig den selben Wasserkörper vermessen, keine messbaren Laufzeitverschiebungen von Lichtereignissen. Daher ist auch keine Triangulation möglich. Umgehen ließe sich dieses technische Problem mit der Verwendung von sehr sensitiven Kameras, die in der Lage sind, biolumineszente Signale aufzuzeichnen. Solche Kameras standen aber während der in dieser Arbeit vorgestellten Messungen nicht zur Verfügung.

- 246 - Diskussion

Die einzige mir bekannte publizierte Arbeit, welche die Verteilung biolumineszente Organismen im dreidimensionalen Raum des Wasserkörper untersucht hat (Widder & Johnsen, 2000), verwendete eine restlichtverstärkende Kamera. Diese filmte die stimulierte Biolumineszenz an einem durchs Wasser geschobenen (vor einem U-Boot her) mit Gaze überspannten Rahmen. Dieses Experiment zeigte eindrucksvoll die dreidimensionale Verteilung von biolumineszenten Dinoflagellaten und Copepoden im Wasserkörper, die eine reguläre Normalverteilung mit gleichmäßigen Abständen zwischen den einzelnen Organismen von 3-4 cm bei den Dinoflagellaten und 9,5-13 cm bei den Copepoden nahelegte.

Mittlerweile gibt es Farbkameras, die eine lichtverstärkende Funktion bereits auf Sensorchipebene besitzen (z.B. Toshiba IK-1000 "Starlight") und ähnlich leistungsfähig sind wie restlichtverstärkende Kameras der dritten Generation. Diesen gegenüber haben sie die Vorteile, sehr kompakt zu sein, eine hohe Bildrate zu ermöglichen und Farbinformationen zu liefern. Ein Versuchsaufbau mit zwei oder mehreren dieser Kameras im Freiwasser, die ein dreidimensionales Bild des Wasserkörpers liefern, könnte Aussagen über die Häufigkeit und die Verteilung von spontaner Biolumineszenz liefern. Sie wären vermutlich auch hervorragend geeignet, Krillschwärme zu beobachten. Andere aktuelle Untersuchungen beschäftigen sich mit der Anwendung von holographischen Techniken zur 3D-Darstellung von Organismen in relativ kleinen, möglichst ungestörten Wasserkörpern (Malkiel et al., 2006) oder mit der Identifizierung der Organismen in situ auf Artniveau als Alternative zum Netzfang (Schulz et al., 2010). Die weitere Entwicklung neuer Filmtechniken lässt für die kommenden Jahre viele Neuerungen erwarten, die Experimente im Freiwasser ermöglichen könnten, die bisher undenkbar erschienen.

Eine einfache Messung von mir, bei der eine Schwarz-Weiß-Kamera, die unter Rotlichtbeleuchtung am Kabel durch den Wasserkörper bis zum Grund des Gullmarfjords abgesenkt wurde, zeigte keine Lebewesen. Einerseits war die Kamera nicht besonders lichtstark, und Rotlichtbeleuchtung (oder auch UV-Licht) ist nicht besonders kontrastreich, andererseits schweben im Wasserkörper viele große und kleine Partikel (der "marine Schnee"). Dieser ist von kleinen Organismen, die bewegungslos im Wasser schweben, nur schwer zu unterscheiden. Eine weitere Messung mit einem neueren Dualkamerasystem (für 3D-Aufnahmen) konnte nicht durchgeführt werden, da das Druckgehäuse (für Kameras und Aufzeichnungscomputer) sehr schwer ist und nur mit Seilwinde und damit nicht mehr von einem Ruderboot aus ins

Diskussion - 247 -

Wasser abgelassen werden könnte. Dieses System dürfte in der Lage sein, verschiedene Organismen im Wasserkörper zu filmen.

Es handelt sich dabei um ein digitales System. Es verfügt über eine wesentlich höhere Auflösung (zwei Megapixel statt 0,4 Megapixel) und eine höhere Bildfrequenz (50 Vollbilder pro Kamera statt 25 Vollbilder pro Sekunde). Der größte Vorteil ist, dass durch das digitale System die Umwandlung des Signals in das VHS-Format und eine Abspeicherung auf entsprechenden Videokassetten und somit ein wesentlicher Schritt zur Verschlechterung der Bildqualität wegfällt. Insgesamt können damit minimal zehnmal mehr Informationen aufgezeichnet werden, wobei die höhere Empfindlichkeit (und die Farbempfindlichkeit) der Kameras noch nicht berücksichtigt ist.

Wünschenswert wäre die Anwendung eines solchen Systems auch für die Aufzeichnung von Schwimmtrajektorien im Labor. Zwar ist es auch mit dem alten System möglich, Trajektorien des Krill im Aquarium aufzuzeichnen. Dieses wird begünstigt durch die starke Autofluoreszenz der Mitteldarmdrüse dieser Tiere unter UV-Licht (was auch bei Aufzeichnungen im Freiwasser hilfreich sein dürfte). Allerdings lassen sich bisher (jedenfalls in größeren Wasserkörpern) die Tiere nicht sehr detailliert darstellen, so dass Informationen über die Stellung der Tiere im Raum (z.B. bei Drehung um die Längsachse) nur schwer zu gewinnen sind und einen großen Messfehler aufweisen dürften.

4.3.3. Beobachtung von Schwimmtrajektorien im Labor

Das Schwimmverhalten der Tiere im Labortank wurde von mir unter verschiedenen Versuchsbedingungen mit einem 3D-Kamerasystem aufgezeichnet und dokumentiert. Da aber keine spontane Biolumineszenz gemessen werden konnte, wurden die Aufzeichnungen bis auf in wenigen Ausnahmefällen nur in 2D ausgewertet (Tabelle 9). Durch die Infrarotbeleuchtung konnte nur ein kleiner Wasserkörper ausgeleuchtet werden. Dieser war meist zu klein, um die Tiere komplette Trajektorien schwimmen zu lassen. Oftmals stießen sie dabei entweder gegen die Wände oder den Boden oder kamen an die Wasseroberfläche. Auch war die Qualität der Videoaufzeichnungen nicht besonders gut (s.o.), und die Parallaxenverschiebung durch den Brechungsindex des Wassers machte eine genaue Berechnung der Schwimmgeschwindigkeiten anhand des 3D-Materials aufwändig. Zur Verbesserung der Bildqualität wurde von mir ein

- 248 - Diskussion

neues 3D-Kamerasystem zusammengestellt (s.o.), es konnte aber nicht mehr auf einer Forschungsreise eingesetzt werden.

Die beobachteten Verhaltensweisen und Schwimmtrajektorien entsprechen zum Teil denen, die in der Literatur beschrieben sind (Kay, 1965; Hamner et al., 1983; Price, 1989; Tarling & Johnson, 2006). Schwarmbildung wurde nicht beobachtet. Aufgrund der Bildqualität des Videomaterials war nicht beobachtbar, ob die Tiere den mit Beinen gebildeten Fangkorb zur Filtrierung des Wassers eingesetzt haben. Es ist aber unwahrscheinlich, da keine Nahrungspartikel im Aquarienwasser vorhanden waren. Es wurde von mir bisher kein Experiment mit erhöhter Nahrungspartikelkonzentration durchgeführt: da es in den Untersuchungen um die spontane Biolumineszenz bei Krill ging, schwammen die Tiere in Becken mit gefiltertem Wasser, in dem keinerlei andere Organismen vorhanden waren. Für viele weitere, wünschenswerte Experimente war im knapp bemessenen Zeitrahmen der Forschungsreisen leider kein Raum.

Die von mir beschriebenen Ergebnisse sind noch in einem sehr vorläufigen Zustand ("preliminary"). Da vorher niemand in der Arbeitsgruppe Erfahrungen mit den verschiedenen hier präsentierten Techniken gesammelt hatte, ging es bei vielen der Experimente darum, einen Erfahrungsschatz aufzubauen und die Methoden zu etablieren. Dabei erwies es sich als Nachteil, dass viele der Verbesserungsarbeiten an den Geräten erst nach Rückkehr von den Forschungsreisen in Hamburg durchgeführt werden konnten und eine Überprüfung erst auf einer weiteren Forschungsreise möglich war. Die Forschungsreisen selbst waren meist zu kurz (meist eine Woche bis vierzehn Tage), um vor Ort Auswertungen und Umbauten vorzunehmen. Im nachhinein erscheint die Durchführung dieser Art von Experimenten als Gastwissenschaftler aus Hamburg mit sehr begrenztem Zeitbudget an der marinbiologischen Station Kristineberg als wenig sinnvoll.

Die durchgeführten Experimente zeigen wenig überraschendes. Das die Tiere unter hellem Dauerlicht anders, vermutlich gestresst reagieren, ist zu erwarten gewesen. Dass sie über eine halbe Stunde benötigen, um wieder zu einem normalen, per Definition ungestressten Verhalten zurückzukehren, ist für die Durchführung von zukünftigen Experimenten wichtig. Bisher wurden die Tiere, nachdem sie z.B. in ein Experimentierbecken überführt wurden oder die Biolumineszenz durch den "Hell-Dunkel-Reaktion" stimuliert worden war, nur 20 Minuten lang ungestört vor weiteren Experimenten gelassen (z.B. Injektion von Pharmaka).

Diskussion - 249 -

Die Tiere, die unter IR-Licht mittels blauer Leuchtdioden stimuliert werden sollten, verhielten sich fast unverändert gegenüber den Tieren, die nicht stimuliert wurden. Da nicht klar ist, inwieweit die Augen der Tiere durch die Lichtbelastung bei Fang und Transport geschädigt wurden, ist es möglich, dass die meisten Tiere die Blitze gar nicht mehr wahrnehmen konnten und daher auch nicht reagierten. Ähnliche Probleme sind auch schon bei Experimenten mit Antarktischem Krill aufgetreten (Strand & Hamner, 1990).

Die genaue Dokumentation des 3D-Schwimmverhaltens ist für ein grundlegendes Verständnis der Biologie von Tieren im Wasserkörper sehr wichtig (Price et al., 1988). Der Abstand zu den nächsten Nachbarn, die Konzentration der Nahrungspartikel, die Rate für Begegnungen mit Artgenossen oder anderen Organismen ("encounter rates") und wie das Zooplankton sich dabei verhält, wie wichtig physikalische gegenüber verhaltensbiologischen Parametern sind, wie die Zeitbudgets der Tiere aussehen, läßt sich mit dieser Technik gut untersuchen.

4.4 Fazit und Ausblick

In dieser Arbeit wurden verschiedene Teilaspekte der Biolumineszenz des Nordischen Krill, Meganyctiphanes norvegica, untersucht. Zu den einzelnen Themenkomplexen habe ich bereits in der Diskussion eine Reihe von Themengebieten und Methoden angesprochen, die erforscht werden könnten. Deswegen möchte ich hier nicht weiter auf diese Punkte eingehen, mit einer Ausnahme: Es gelang mir nicht, spontane Biolumineszenz von Krill in Gefangenschaft aufzuzeichnen. Da es allerdings in der Literatur eine ganze Reihe von publizierten Beobachtungen spontaner Biolumineszenz gibt, hat deren Untersuchung meines Erachtens die höchste Priorität. Nur mit ihrer Analyse kann die Verwendung der Biolumineszenz im Leben der Tiere aufgeklärt werden. Anhand der Ergebnisse meiner Experimente ist es mir nicht möglich zu sagen, ob diese Tiere einzelne Blitze (mit einer Dauer von weniger als einer Sekunde) überhaupt emittieren können, oder aber ob sie "nur" Dauerleuchten und der Eindruck eines Blitzes durch die Drehung um die Körperlängsachse entsteht.

Die Untersuchung biolumineszenter Schwarmtiere des Meeres, insbesondere der Tiefsee und/oder polarer Gebiete, ist kein leichtes Unterfangen. Vermutlich gibt es deswegen bisher keine derartigen Beobachtungen. Es bleibt zu hoffen, dass durch den Einsatz neuer Kameratechniken ein wenig mehr Licht in diese komplexe Fragestellung gebracht werden kann. Eine Blitzlichtkommunikation klingt zunächst plausibel, ist aber nicht leicht nachweisbar. Der

- 250 - Diskussion

Krill kann Licht mit einer hohen Intensität aussenden; die potentielle Helligkeit der Leuchtorgane geht bei weitem über das hinaus, was bei einer Verwendung "nur" für Countershading nötig wäre. Intuitiv ist es sehr eingängig, weitere Verwendungsmöglichkeiten zu postulieren. Aber man muss sich hüten, zu oft Hypothesen zu zitieren, ohne auf deren realen Hintergrund einzugehen, da sie sich sonst mit der Zeit in einem tautologischen Prozess in als Realität wahrgenommene Annahmen verwandeln, zumindestens in den Populärwissenschaften.

Generell ist die Biolumineszenz bei Hochsee- und Tiefseetieren noch voller unbeantworteter Fragestellungen aus allen Teildisziplinen der Biologie. Beispielsweise müsste das Licht der Anglerfische, wenn es genutzt wird um Beute anzulocken, theoretisch dazu führen, dass Individuen anderer Arten, die sich nicht anlocken lassen (und damit überleben), im klassischen darwinschen Sinne sich höchstwahrscheinlich häufiger vermehren als ihre nicht ganz so vorsichtigen Artgenossen. Es würde daher auf ein ähnliches Modell wie bei den Leuchtkäfern hinauslaufen, bei denen artfremde Weibchen ("Femme fatale") den Kode imitieren und die sie anfliegenden Männchen der anderen Art verspeisen. Dies funktioniert aber nur solange, wie das zahlenmäßige Verhältnis zwischen den beteiligten Arten in einem passenden Rahmen bleibt. Wenn man von den Insekten auf die Anglerfische zurückschließen würde, dürfte deren Individuenanzahl im Verhältnis zu ihrer Nahrung sehr gering sein. Trotzdem werden sie relativ häufig beobachtet. Eine Möglichkeit wäre, dass ihre Lumineszenz nicht zu unterscheiden ist von derjenigen leuchtender Kotpartikel oder anderer häufig genutzter Nahrungsquellen. Ähnlich wie beim Krill kann nur eine Beobachtung des normalen Verhaltens der Tiere über längere Zeiträume Auskunft über mögliche Antworten dieser Fragen geben.

Literaturverzeichnis - 251 -

5. Literaturverzeichnis

Abbott N.J., Moreton R.B. & Pichon Y. (1975). Electrophysiological analysis of potassium and sodium movements in crustacean nervous system. *Journal of Experimental Biology*, 63, 85-115.

Abbott N.J. & Pichon Y. (1987). The glial blood-brain-barrier of crustacea and cephalopods - a review. *Journal de Physiologie*, 82, 304-313.

Abrahams M.V. & Townsend L.D. (1993). Bioluminescence in dinoflagellates: A test of the burglar alarm hypothesis. *Ecology*, 74, 258-260.

Alcaraz M., Saiz E. & Calbet A. (2007). *Centropages* behaviour: Swimming and vertical migration. *Progress in Oceanography*, 72, 121-136.

Alonzo S.H. & Mangel M. (2001). Survival strategies and growth of krill: avoiding predators in space and time. *Marine Ecology-Progress Series*, 209, 203-217.

Amemiya N., Hatta S., Takemura H. & Ohshika H. (1996). Characterization of the contractile response induced by 5-methoxytryptamine in rat stomach fundus strips. *European Journal of Pharmacology*, 318, 403-409.

Andersen V. (1991). A model of the diel vertical migration of zooplankton based on euphausiids. *Journal of Marine Research*, 49, 153-175.

Anderson D.M., Nosenchuck D.M., Reynolds G.T. & Walton A.J. (1988). Mechanical stimulation of bioluminescence in the dinoflagellate *Gonyaulax polyedra* Stein. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 122, 277-288.

Andrews C.C., Karl D.M., Small L.F. & Fowler S.W. (1984). Metabolic activity and bioluminescence of oceanic fecal pellets and sediment trap particles. *Nature*, 307, 539-541.

Antezana T., Ray K. & Melo C. (1982). Trophic behaviour of *Euphausia superba* Dana in laboratory conditions. *Polar Biology*, 1, 77-82.

Antonsen B.L. & Paul D.H. (1997). Serotonin and octopamin elicit stereotypical agonistic behaviors in the squat lobster *Munida quadrispina* (Anomura, Galatheidae). *Journal of Comparative Physiology A - Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 181, 501-510.

Arneborg L. (2004). Turnover times for the water above sill level in Gullmar Fjord. *Continental Shelf Research*, 24, 443-460.

- 252 - Literaturverzeichnis

Arneborg L., Erlandsson C.P., Liljebladh B. & Stigebrandt A. (2004a). The rate of inflow and mixing during deep-water renewal in a sill fjord. *Limnology and Oceanography*, 49, 768-777.

Arneborg L., Janzen C., Liljebladh B., Rippeth T.P., Simpson J.H. et al. (2004b). Spatial variability of diapycnal mixing and turbulent dissipation rates in a stagnant fjord basin. *Journal of Physical Oceanography*, 34, 1679-1691.

Arneborg L. & Liljebladh B. (2001a). The internal seiches in Gullmar Fjord. Part I: Dynamics. *Journal of Physical Oceanography*, 31, 2549-2566.

Arneborg L. & Liljebladh B. (2001b). The internal seiches in Gullmar Fjord. Part II: Contribution to basin water mixing. *Journal of Physical Oceanography*, 31, 2567-2574.

Assie M.B. & Koek W. (1996). Possible in vivo 5-HT reuptake blocking properties of 8-OH-DPAT assessed by measuring hippocampal extracellular 5-HT using microdialysis in rats. *British Journal of Pharmacology*, 119, 845-850.

Atkinson A., Siegel V., Pakhomov E. & Rothery P. (2004). Long-term decline in krill stock and increase in salps within the Southern Ocean. *Nature*, 432, 100-103.

Backus R.H., Clark R.C. & Wing A.S. (1965). Behaviour of certain marine organisms during solar eclipse of July 20 1963. *Nature*, 205, 989-991.

Bagoien E., Kaartvedt S. & Overas S. (2000). Seasonal vertical migrations of *Calanus spp.* in Oslofjorden. *Sarsia*, 85, 299-311.

Ballerini M., Cabibbo N., Candelier R., Cavagna A., Cisbani E. et al. (2008). Empirical investigation of starling flocks: a benchmark study in collective animal behaviour. *Animal Behaviour*, 76, 201-215.

Bannister N.J. (1993). Innervation of luminous glands in the calanoid copepod *Euaugaptilus magnus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 73, 417-423.

Barange M., Miller D.G.M., Hampton I. & Dunne T.T. (1993). Internal structure of Antarctic krill *Euphausia* superba swarms based on acoustic observations. *Marine Ecology-Progress Series*, 99, 205-213.

Barber V.C. & Graziadei P. (1965). The fine structure of cephalopod blood vessels. I. Some smaller peripheral vessels. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie, 66, 765-781.

Barber V.C. & Graziadei P. (1967a). The fine structure of cephalopod blood vessels. 2. The vessels of the nervous system. Zeitschrift fur Zellforschung und Mikroskopische Anatomie, 77, 147-161.

Barber V.C. & Graziadei P. (1967b). The fine structure of cephalopod blood vessels. 3. Vessel innervation. Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie, 77, 162-174. Literaturverzeichnis - 253 -

Bargmann W. (1959). Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Stuttgart: G. Thieme.

Barnes A.T. & Case J.F. (1972). Bioluminescence in the pelagic copepod, *Gaussia princeps* (T. Scott). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 8, 53-71.

Barnes N.M. & Sharp T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, 38, 1083-1152.

Bassot J.M. (1960a). Données cytologiques et histochimiques sur les photophores d'Euphausiacés. I. Les cellules lumineuses et les structures en bâtonnets. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences*, 251, 444-446.

Bassot J.M. (1960b). Données cytologiques et histochimiques sur les photophores d'Euphausiacés. II. Les structures annexes du photophore. *Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des Sciences*, 251, 599-601.

Bassot J.M. (1966). Sur la structure des photophores d'euphausiacea. *Bulletin de la Société Zoologique de France*, 91, 445-467.

Bathmann U., Bundy M.H., Clarke M.E., Cowles T.J., Daly K. et al. (2001). Future marine zooplankton research - a perspective. *Marine Ecology-Progress Series*, 222, 297-308.

Beebe W. (1937). Preliminary list of Bermuda deep-sea fish. Zoologica, 22, 197-208.

Bergström B. & Strömberg J. (1997). Behavioural differences in relation to pycnoclines during vertical migration of the euphausiisa *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) and *Thysanoessa raschii* (M. Sars). *Journal of Plankton Research*, 19, 255-261.

Berteaux D., Reale D., Mcadam A.G. & Boutin S. (2004). Keeping pace with fast climate change: can arctic life count on evolution? *Integrative and Comparative Biology*, 44, 140-151.

Birmingham J.T. & Tauck D.L. (2003). Neuromodulation in invertebrate sensory systems: from biophysics to behavior. *Journal of Experimental Biology*, 206, 3541-3546.

Björk G. & Nordberg K. (2003). Upwelling along the Swedish west coast during the 20th century. *Continental Shelf Research*, 23, 1143-1159.

Blachowiak-Samolyk K., Kwasniewski S., Richardson K., Dmoch K., Hansen E. et al. (2006). Arctic zooplankton do not perform diel vertical migration (DVM) during periods of midnight sun. *Marine Ecology-Progress Series*, 308, 101-116.

- 254 - Literaturverzeichnis

Blenau W., Balfanz S. & Baumann A. (2000). Amtyr1: Characterization of a gene from honeybee (*Apis mellifera*) brain encoding a functional tyramine receptor. *Journal of Neurochemistry*, 74, 900-908.

Blenau W. & Baumann A. (2001). Molecular and pharmacological properties of insect biogenic amine receptors: lessons from *Drosophila melanogaster* and *Apis mellifera*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 48, 13-38.

Blenau W., Erber J. & Baumann A. (1998). Characterization of a dopamine D1 receptor from *Apis mellifera*: cloning, functional expression, pharmacology, and mRNA localization in the brain. *Journal of Neurochemistry*, 70, 15-23.

Bockaert J., Claeysen S. & Dumuis A. (2004). 5-HT₄ receptors. *Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders*, 3, 39-51.

Boden B.P. & Kampa E.M. (1957). Records of bioluminescence in the ocean. Pacific Science, 11, 229-235.

Boden B.P. & Kampa E.M. (1959). Spectral composition of the luminescence of the Euphausiid *Thysanoessa raschii*. *Nature*, 184, 1321-1322.

Boden B.P. & Kampa E.M. (1964). Planktonic bioluminescence. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 2, 341-371.

Boden B.P. & Kampa E.M. (1965). An aspect of euphausiid ecology revealed by echo-sounding in a fjord. *Crustaceana*, 9, 155-173.

Boden B.P. & Kampa E.M. (1974). Bioluminescence. In N.G.Jerlov & E.Steemann Nielsen (Hrsg.), *Optical aspects of oceanography* (Seiten 445-469). London, N.Y.: Academic Press.

Boden B.P., Kampa E.M. & Snodgras J.M. (1965). Measurements of spontaneous bioluminescence in sea. *Nature*, 208, 1078-1080.

Bollens S.M. & Frost B.W. (1989). Predator-induced diel vertical migration in a planktonic copepod. *Journal of Plankton Research*, 11, 1047-1065.

Bonate P.L. (1995). Animal models for studying transport across the blood-brain-barrier. *Journal of Neuroscience Methods*, 56, 1-15.

Bradshaw W.E. & Holzapfel C.M. (2006). Climate change - evolutionary response to rapid climate change. *Science*, 312, 1477-1478.

Brandt A., Gooday A.J., Brandao S.N., Brix S., Brokeland W. et al. (2007). First insights into the biodiversity and biogeography of the Southern Ocean deep sea. *Nature*, 447, 307-311.

Literaturverzeichnis - 255 -

Brenneis G. & Richter S. (2010). Architecture of the nervous system in Mystacocarida (Arthropoda, Crustacea) - an immunohistochemical study and 3D reconstruction. *Journal of Morphology*, 271, 169-189.

Breslau L.R. & Edgerton H.E. (1958). The luminescence camera. *Journal of the Biological Photographic Association*, 26, 49-58.

Bright T., Ferrari F., Martin D. & Franceschini G.A. (1972). Effects of a total solar eclipse on vertical distribution of certain oceanic zooplankters. *Limnology and Oceanography*, 17, 296-301.

Bucher O. & Wartenberg H. (1989). Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. Bern: H. Huber.

Buchholz F. (2003). Experiments on the physiology of southern and northern krill, *Euphausia superba* and *Meganyctiphanes norvegica*, with emphasis on moult and growth - a review. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 36, 229-247.

Buchholz F., Buchholz C. & Weslawski J.M. (2010). Ten years after: krill as indicator of changes in the macro-zooplankton communities of two Arctic fjords. *Polar Biology*, 33, 101-113.

Buck J.B. (1978). Function and evolution of bioluminescence. In P.J.Herring (Hrsg.), *Bioluminescence in action* (Seiten 419-460). London: Academic Press.

Buhl-Jensen L. & Fosså J.H. (1991). Hyperbenthic crustacean fauna of the Gullmarfjord area (Western Sweden) - species richness, seasonal variation and long-term changes. *Marine Biology*, 109, 245-258.

Burkenroad M.D. (1943). A possible function of bioluminescence. Journal of Marine Research, 5, 161-164.

Buskey E., Mills L. & Swift E. (1983). The effects of dinoflagellate bioluminescence on the swimming behavior of a marine copepod. *Limnology and Oceanography*, 28, 575-579.

Buskey E.J. (1984). Swimming pattern as an indicator of the roles of copepod sensory systems in the recognition of food. *Marine Biology*, 79, 165-175.

Buskey E.J., Peterson J.O. & Ambler J.W. (1996). The role of photoreception in the swarming behavior of the copepod *Dioithona oculata*. In P.H.Lenz, D.K.Hartline, J.E.Purcell, & D.L.Macmillan (Hrsg.), *Zooplankton: sensory ecology and physiology* (Seiten 301-313). Amsterdam, The Netherlands: Gordon and Breach.

Buskey E.J., Strom S. & Coulter C. (1992). Bioluminescence of heterotrophic dinoflagellates from Texas coastal waters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 159, 37-49.

Buskey E.J. & Swift E. (1983). Behavioral responses of the coastal copepod *Acartia hudsonica* (Pinhey) to simulated dinoflagellate bioluminescence. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 72, 43-58.

- 256 - Literaturverzeichnis

Buskey E.J. & Swift E. (1985). Behavioral responses of oceanic zooplankton to simulated bioluminescence. *The Biological Bulletin*, 168, 263-275.

Buskey E.J. & Swift E. (1990). An encounter model to predict natural planktonic bioluminescence. *Limnology and Oceanography*, 35, 1469-1485.

Campbell A.K. & Herring P.J. (1990). Imidazolopyrazine bioluminescence in copepods and other marine organisms. *Marine Biology*, 194, 219-225.

Case J.F., Warner J., Barnes A.T. & Lowenstine M. (1977). Bioluminescence of lantern fish (Myctophidae) in response to changes in light-intensity. *Nature*, 265, 179-181.

Cavagna A., Giardina I., Orlandi A., Parisi G. & Procaccini A. (2008). The STARFLAG handbook on collective animal behaviour: 2. Three-dimensional analysis. *Animal Behaviour*, 76, 237-248.

Cavey M.J., Chan K.S. & Wilkens J.L. (2008). Microscopic anatomy of the thin-walled vessels leaving the heart of the lobster *Homarus americanus*: anterior median artery. *Invertebrate Biology*, 127, 189-200.

Cazalets J.R., Sqallihoussaini Y. & Clarac F. (1992). Activation of the central pattern generators for locomotion by serotonin and excitatory amino-acids in neonatal rat. *Journal of Physiology–London*, 455, 187-204.

Chan K.S., Cavey M.J. & Wilkens J.L. (2006). Microscopic anatomy of the thin-walled vessels leaving the heart of the lobster *Homarus americanus*: anterior lateral arteries. *Invertebrate Biology*, 125, 70-82.

Chen Y., Peng L.A., Zhang X.H., Stolzenburg J.U. & Hertz L. (1995). Further evidence that fluoxetine interacts with a 5-HT_{2C} receptor in glial cells. *Brain Research Bulletin*, 38, 153-159.

Chun C. (1893). Leuchtorgan und Facettenauge. Ein Beitrag zur Theorie des Sehens in grossen Meerestiefen. *Biologisches Centralblatt*, 13, 544-571.

Chun C. (1896). Atlantis. Biologische Studien über pelagische Organismen. Sechstes Kapitel. Leuchtorgane und Facettenaugen. Ein Beitrag zur Theorie des Sehens in grossen Meerestiefen. *Bibliotheca Zoologica*, 7, 191-262.

Civelli O., Saito Y., Wang Z.W., Nothacker H.P. & Reinscheid R.K. (2006). Orphan GPCRs and their ligands. *Pharmacology & Therapeutics*, 110, 525-532.

Claassen D.E. & Kammer A.E. (1986). Effects of octopamine, dopamine, and serotonin on production of flight motor output by thoracic ganglia of *Manduca sexta*. *Journal of Neurobiology*, 17, 1-14.

Claes J.M., Aksnes D.L. & Mallefet J. (2010). Phantom hunter of the fjords: camouflage by counterillumination in a shark (*Etmopterus spinax*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 388, 28-32.

Literaturverzeichnis - 257 -

Claes J.M. & Mallefet J. (2009). Hormonal control of luminescence from lantern shark (*Etmopterus spinax*) photophores. *Journal of Experimental Biology*, 212, 3684-3692.

Clarac F. & Pearlstein E. (2007). Invertebrate preparations and their contribution to neurobiology in the second half of the 20th century. *Brain Research Reviews*, 54, 113-161.

Clarke A. (1991). What is cold adaptation and how should we measure it? American Zoologist, 31, 81-92.

Clarke G.L. & Backus R.H. (1956). Measurements of light penetration in relation to vertical migration and records of luminescence of deep-sea animals. *Deep-Sea Research*, 4, 1-14.

Clarke G.L. & Backus R.H. (1964). Interrelations between the vertical migration of deep scattering layers, bioluminescence, and changes in daylight in the sea. *Bulletin de l'Institut Océanographique Monaco*, 1318, 1-36.

Clarke G.L., Conover R.J., David C.N. & Nicol J.A.C. (1962a). Comparative studies of luminescence in copepods and other pelagic marine animals. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 42, 541-564.

Clarke G.L., Conover R.J., David C.N. & Nicol J.A.C. (1962b). Comparative studies of luminescence in copepods and other pelagic marine animals. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 42, 541-564.

Clarke G.L. & Hubbard C.J. (1959). Quantitative records of the luminescent flashing of oceanic animals at great depths. *Limnology and Oceanography*, 4, 163-180.

Clarke G.L. & Wertheim G.K. (1956). Measurements of illumination at great depths and at night in the Atlantic Ocean by means of a new bathyphotometer. *Deep-Sea Research*, 3, 189-205.

Clarke R. (1950). The bathypelagic angler fish Ceratias holbölli Kröyer. Discovery Reports, 26, 1-32.

Clarke W.D. (1963). Function of bioluminescence in mesopelagic organisms. Nature, 198, 1244-1246.

Cohen J.H. & Forward R.B. (2005a). Diel vertical migration of the marine copepod *Calanopia americana*. II. Proximate role of exogenous light cues and endogenous rhythms. *Marine Biology*, 147, 399-410.

Cohen J.H. & Forward R.B. (2005b). Photobehavior as an inducible defense in the marine copepod *Calanopia americana*. *Limnology and Oceanography*, 50, 1269-1277.

Costall B. & Naylor R.J. (2004). 5-HT₃ receptors. Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders, 3, 27-37.

- 258 - Literaturverzeichnis

Cotte C. & Simard Y. (2005). Formation of dense krill patches under tidal forcing at whale feeding hot spots in the St. Lawrence Estuary. *Marine Ecology-Progress Series*, 288, 199-210.

Craig D.A., Eglen R.M., Walsh L.K.M., Perkins L.A., Whiting R.L. et al. (1990). 5-Methoxytryptamine and 2-methyl-5-hydroxytryptamine induced desensitization as a discriminative tool for the 5-HT3 and putative 5-HT4 receptors in guinea pig ileum. *Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 342, 9-16.

Cram D.L. & Schulein F.H. (1974). Observations on surface shoaling Cape Hake off South West-Africa. *ICES Journal of Marine Science*, 35, 272-275.

Cresswell K.A., Wiedenmann J. & Mangel M. (2008). Can macaroni penguins keep up with climate- and fishing-induced changes in krill? *Polar Biology*, 31, 641-649.

Croot P.L. (2003). Seasonal cycle of copper speciation in Gullmar Fjord, Sweden. *Limnology and Oceanography*, 48, 764-776.

Cussatlegras A.S. & Le Gal P. (2004). Bioluminescence of the dinoflagellate *Pyrocystis noctiluca* induced by laminar and turbulent Couette flow. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 310, 227-246.

Dahlgren U. (1916). The production of light by animals. *Journal of the Franklin Institute*, 181, 805-843.

Dana J.D. (1852). Crustacea. United States Exploring Expedition during the years 1838, 1839, 1840, 1841, 1842 under the command of Charles Wilkes, 13, 1-685.

Dannell, R. Observations on the luminescence of bathypelagic crustacea decapoda of the bermuda area. Journal of the Linnean Society of London, Zoology 42, 393-406. 1955.

Daro M.H. (1988). Migratory and grazing behavior of copepods and vertical distribution of phytoplankton. Bulletin of Marine Science, 43, 710-729.

David C.N. & Conover R.J. (1961). Preliminary investigation on physiology and ecology of luminescence in the copepod, *Metridia lucens*. *The Biological Bulletin*, 121, 92-107.

De Bremaeker N., Dewael Y., Baguet F. & Mallefet J. (2000). Involvement of cyclic nucleotides and IP3 in the regulation of luminescence in the brittlestar *Amphipholis squamata* (Echinodermata). *Luminescence*, 15, 159-163.

De Cock R. & Matthysen E. (2005). Sexual communication by pheromones in a firefly, Phosphaenus hemipterus (Coleoptera: Lampyridae). *Animal Behaviour*, 70, 807-818.

De Robertis A., Schell C. & Jaffe J.S. (2003). Acoustic observations of the swimming behavior of the euphausiid *Euphausia pacifica* Hansen. *ICES Journal of Marine Science*, 60, 885-898.

Literaturverzeichnis - 259 -

Demer D.A. (2004). An estimate of error for the CCAMLR 2000 survey estimate of krill biomass. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 51, 1237-1251.

Dennell R. (1954). Observations on the luminescence of pathypelagic crustacea decapoda of the bermuda area. Journal of the Linnean Society - Zoology, 42, 393-406.

Derenbach J.B., Astheimer H., Hansen H.P. & Leach H. (1979). Vertical microscale distribution of phytoplankton in relation to the thermocline. *Marine Ecology-Progress Series*, 1, 187-193.

Dickinson P.S. (2006). Neuromodulation of central pattern generators in invertebrates and vertebrates. *Current Opinion in Neurobiology*, 16, 604-614.

Djokaj S., Cooper R.L. & Rathmeyer W. (2001). Presynaptic effects of octopamine, serotonin, and cocktails of the two modulators on neuromuscular transmission in crustaceans. *Journal of Comparative Physiology A* – *Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 187, 145-154.

Doall M.H., Colin S.P., Strickler J.R. & Yen J. (1998). Locating a mate in 3D: the case of *Temora longicornis*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B- Biological Sciences*, 353, 681-689.

Doflein F. (1906). Ueber Leuchtorgane bei Meerestieren. Sitzungsberichte der Gesellschaft fuer Morphologie und Physiologie in Muenchen, 22, 133-136.

Doyle J.D. (1966). The effect of an anti-serotonin on the bioluminescence of *Meganyctiphanes norvegica*. *Journal of Physiology - Proceedings*, 186, 92p-93p.

Doyle J.E. & Kay R.H. (1967). Some studies on the bioluminescence of the euphausiids, *Meganyctiphanes* norvegica and Thysanoessa raschii. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 47, 555-563.

Duman-Scheel M., Clark S.M., Grunow E.T., Hasley A.O., Hill B.L. et al. (2007). Delayed onset of midline netrin expression in *Artemia franciscana* coincides with commissural axon growth and provides evidence for homology of midline cells in distantly related arthropods. *Evolution & Development*, 9, 131-140.

Erber J., Kloppenburg P. & Scheidler A. (1993). Neuromodulation by serotonin and octopamine in the honeybee: behavior, neuroanatomy and electrophysiology. *Experientia*, 49, 1073-1083.

Eriksson B.K., Johansson G. & Snoeijs P. (2002). Long-term changes in the macroalgal vegetation of the inner Gullmar Fjord, Swedish Skagerrak coast. *Journal of Phycology*, 38, 284-296.

Erlandsson C.P. & Stigebrandt A. (2006). Increased utility of the Secchi disk to assess eutrophication in coastal waters with freshwater run-off. *Journal of Marine Systems*, 60, 19-29.

- 260 - Literaturverzeichnis

Erlandsson C.P., Stigebrandt A. & Arneborg L. (2006). The sensitivity of minimum oxygen concentrations in a fjord to changes in biotic and abiotic external forcing. *Limnology and Oceanography*, 51, 631-638.

Esaias W.E. & Curl H.C. (1972). Effect of dinoflagellate bioluminescence on copepod ingestion rates. Limnology and Oceanography, 17, 901-905.

Everson I., Tarling G.A. & Bergstrom B. (2007). Improving acoustic estimates of krill: experience from repeat sampling of northern krill (*Meganyctiphanes norvegica*) in Gullmarsfjord, Sweden. *ICES Journal of Marine Science*, 64, 39-48.

Evstigneev P.V. & Cheripanov O.V. (1997). The identification of planktonic organisms by their bioluminescent signals. *Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence*, 12, 41-42.

Fiedler K. & Lieder J. (1994). Mikroskopische Anatomie der Wirbellosen - ein Farbatlas. Stuttgart: G. Fischer.

Filip M. & Bader M. (2009). Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacological Reports*, 61, 761-777.

Fischer W. & Mohr H. (1978). Verhaltensbeobachtungen an Krill (Euphausia superba Dana). Archiv für Fischereiwissenschaften, 29, 71-79.

Fleischer A. & Pflugradt M. (1977). Continuous registration of X, Y-coordinates and angular position in behavioral experiments. *Experientia*, 33, 693-695.

Fleisher K.J. & Case J.F. (1995). Cephalopod predation facilitated by dinoflagellate luminescence. *The Biological Bulletin*, 189, 263-271.

Folt C.L. & Burns C.W. (1999). Biological drivers of zooplankton patchiness. *Trends in Ecology & Evolution*, 14, 300-305.

Frank T.M. (2003). Effects of light adaptation on the temporal resolution of deep-sea crustaceans. *Integrative and Comparative Biology*, 43, 559-570.

Freeman W.H. & Bracegirdle B. (1971). An atlas of invertebrate structure. London: Heinemann Educational.

Fregin T. (2001). Zur neuronalen und modulatorischen Steuerung der Leuchtorgane des Nordischen Krills, *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) (Crustacea: Euphausiacea). Diplomarbeit. Universität Hamburg.

Fregin T. & Wiese K. (2002). The photophores of *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars) (Euphausiacea): mode of operation and use as monitors of serotonergic modulation. *Helgoland Marine Research*, 56, 112-124.

Literaturverzeichnis - 261 -

Gainetdinov R.R. & Caron M.G. (2003). Monoamine transporters: from genes to behavior. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 43, 261-284.

Garraway S.M. & Hochman S. (2001). Modulatory actions of serotonin, norepinephrine, dopamine, and acetylcholine in spinal cord deep dorsal horn neurons. *Journal of Neurophysiology*, 86, 2183–2194.

Genin A., Jaffe J.S., Reef R., Richter C. & Franks P.J.S. (2005). Swimming against the flow: a mechanism of zooplankton aggregation. *Science*, 308, 860-862.

Giesbrecht W. (1896). Über den Sitz der Lichtentwicklung in den Photosphaerien der Euphausiiden. Zoologischer Anzeiger, 19, 486-490.

Giesbrecht W. (1895). Mittheilungen über Copepoden. 8. Über das Leuchten pelagischer Copepoden und das thierische Leuchten im Allgemeinen. *Mittheilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, 11, 648-689.

Gillibrand E.J.V., Jamieson A.J., Bagley P.M., Zuur A.F. & Priede I.G. (2007). Seasonal development of a deep pelagic bioluminescent layer in the temperate NE Atlantic Ocean. *Marine Ecology-Progress Series*, 341, 37-44.

Gleeson R.A. & Zubkoff P.L. (1977). The determination of hemolymph volume in the blue crab, *Callinectes sapidus*, utilizing ¹⁴C-thiocyanate. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 56, 411-413.

Glusman S. & Kravitz E.A. (1982). The action of serotonin on excitatory nerve terminals in lobster nervemuscle preparations. *Journal of Physiology*, 325, 223-241.

Godlewska M. (1996). Vertical migrations of krill (*Euphausia superba* Dana). *Polskie Archiwum Hydrobiologygii*, 43, 9-63.

Godlewska M. & Klusek Z. (1987). Vertical-distribution and siurnal migrations of krill - *Euphausia superba* Dana - from hydroacoustical observations, Sibex, December 1983 January 1984. *Polar Biology*, 8, 17-22.

Gowing M.M. & Wishner K.F. (1992). Feeding ecology of benthopelagic zooplankton on an eastern tropical Pacific seamount. *Marine Biology*, 112, 451-467.

Goy M.F. (2005). Nitric oxide: an inhibitory retrograde modulator in the crustacean heart. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 142, 151-163.

Green D.M. & Swets J.A. (1966). Signal detection theory and psychophysics. New York: John Wiley & Sons.

Greene C.H., Widder E.A., Youngbluth M.J., Tamse A. & Johnson G.E. (1992). The migration behavior, fine-structure, and bioluminescent activity of krill sound-scattering layers. *Limnology and Oceanography*, 37, 650-658.

- 262 - Literaturverzeichnis

Grinnell A.D., Narins P.M., Awbrey F.T., Hamner W.M. & Hamner P.P. (1988). Eye/Photophore coordination and light-following in krill, *Euphausia superba*. *Journal of Experimental Biology*, 134, 61-77.

Grober M.S. (1988a). Brittle-star bioluminescence functions as an aposematic signal to deter crustacean predators. *Animal Behaviour*, 36, 493-501.

Grober M.S. (1988b). Responses of tropical reef fauna to brittle-star luminescence (Echinodermata, Ophiuroidea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 115, 157-168.

Haddock S.H.D. (2006). Luminous marine organisms. In S.Daunert & S.K.Deo (Hrsg.), *Photoproteins in bioanalysis* (Seiten 25-47). Weinheim: Wiley-VCH.

Haddock S.H.D., Moline M.A. & Case J.F. (2010). Bioluminescence in the sea. *Annual Review of Marine Science*, 2, 443-493.

Hammond J.W., Cai D.W. & Verhey K.J. (2008). Tubulin modifications and their cellular functions. *Current Opinion in Cell Biology*, 20, 71-76.

Hamner W.M. (1984). Aspects of schooling in Euphausia superba. Journal of Crustacean Biology, 4, 67-74.

Hamner W.M., Hamner P.P., Strand S.W. & Gilmer R.W. (1983). Behavior of Antarctic krill, *Euphausia superba* - chemoreception, feeding, schooling, and molting. *Science*, 220, 433-435.

Hampton I. (1982). Observation and measurement of visible krill swarms during Fibex. *BIOMASS-Handbook*, 14, 1-21.

Han K.A., Millar N.S., Grotewiel M.S. & Davis R.L. (1996). DAMB, a novel dopamine receptor expressed specifically in *Drosophila* mushroom bodies. *Neuron*, 16, 1127-1135.

Hardy A.C. (1967). Great waters – a voyage of natural history to study whales, plankton and the waters of the Southern Ocean in the old Royal Research Ship "Discovery", with the results brought up to date by the findings of the R.R.S. "Discovery II,". London: Collins.

Hardy A.C. & Gunter E.R. (1935). The plankton of the South Georgia whaling grounds and adjacent waters, 1926-1927. *Discovery Reports*, 11, 1-456.

Hardy A.C. & Kay R.H. (1964). Experimental studies of plankton luminescence. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 44, 435-478.

Hardy M.G. (1962). Photophore and eye movement in the euphausiid *Meganyctiphanes norvegica* (G.O.Sars). *Nature*, 198, 790-791.

Literaturverzeichnis - 263 -

Hardy M.G. (1964). The rotatory mechanism and innervation of the abdominal photophores of the euphausiid crustacean *Meganyctiphanes norvegica*. *Journal of Physiology London – Supplemental*, 173, p16-p18.

Harland R., Nordberg K. & Filipsson H.L. (2006). Dinoflagellate cysts and hydrographical change in Gullmar Fjord, west coast of Sweden. *Science of the Total Environment*, 355, 204-231.

Harper R.D. & Case J.F. (1999). Disruptive counterillumination and its anti-predatory value in the plainfish midshipman *Porichthys notatus. Marine Biology*, 134, 529-540.

Harris-Warrick R.M. & Kravitz E.A. (1984). Cellular mechanisms for modulation of posture by octopamine and serotonine in the lobster. *Journal of Neuroscience*, 4, 1976-1993.

Hartline D.K., Buskey E.J. & Lenz P.H. (1999). Rapid jumps and bioluminescence elicited by controlled hydrodynamic stimuli in a mesopelagic copepod, *Pleuromamma xiphias*. *The Biological Bulletin*, 197, 132-143.

Hartline D.K., Lenz P.H. & Herren C.M. (1996). Physiological and behavioral studies of escape responses in calanoid copepodes. In P.H.Lenz, D.K.Hartline, J.E.Purcell, & D.L.Macmillan (Hrsg.), *Zooplankton: sensory ecology and physiology* (Seiten 341-354). Amsterdam, The Netherlands: Gordon and Breach.

Harvey B.J. (1977). Circulation and dioptric apparatus in the photophores of *Euphausia pacifica* - some ultrastructural observations. *Canadian Journal of Zoology*, 55, 884-889.

Harvey E. (1957). *A history of luminescence – from the earliest times until 1900*. Philadelphia: American Philosophical Society.

Harzsch S., Anger K. & Dawirs R.R. (1997). Immunocytochemical detection of acetylated alpha-tubulin and *Drosophila* synapsin in the embryonic crustacean nervous system. *International Journal of Developmental Biology*, 41, 477-484.

Hastings J.W. (1978). Bacterial and dinoflagellate luminescent systems. In P.J.Herring (Hrsg.), *Bioluminescence in action* (Seiten 129-170). London: Academic Press.

Hastings J.W. (1983). Biological diversity, chemical mechanisms, and the evolutionary origins of bioluminescent systems. *Journal of Molecular Evolution*, 19, 309-321.

Hastings J.W. & Morin J.G. (1991). Bioluminescence. In C.L.Prosser (Hrsg.), *Neural and integrative animal physiology* (Seiten 131-170). New York: Wiley-Liss.

Hastings J.W. & Nealson K.H. (1977). Bacterial bioluminescence. Annual Review of Microbiology, 31, 549-595.

Haury L.R., McGowan I.A. & Wiebe P.H. (1978). Patterns and processes in the time-space scales of plankton distributions. In J.H.Steele (Hrsg.), *Spatial pattern in plankton communities* New York: Plenum Press.

- 264 - Literaturverzeichnis

Heffernan J.J. & Hopkins T.L. (1980). The vertical-distribution and feeding of *Gennadas* (Penaeidae) in the Gulf of Mexico. *American Zoologist*, 20, 924.

Heinrich R., Braunig P., Walter I., Schneider H. & Kravitz E.A. (2000). Aminergic neuron systems of lobsters: morphology and electrophysiology of octopamine-containing neurosecretory cells. *Journal of Comparative Physiology A - Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 186, 617-629.

Hemedah M., Coupar I.M. & Mitchelson F.J. (1999). [H-3]-mesulergine labels 5-HT7 sites in rat brain and guinea-pig ileum but not rat jejunum. *British Journal of Pharmacology*, 126, 179-188.

Hernroth L. (1983). Marine pelagic rotifers and tintinnids - important trophic links in the spring plankton community of the Gullmar fjord, Sweden. *Journal of Plankton Research*, 5, 835-846.

Herring P.J. (1976). Bioluminescence in decapod crustacea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 56, 1029-1047.

Herring P.J. (1977). Bioluminescence of marine organisms. *Nature*, 267, 788-793.

Herring P.J. (1987). Systematic distribution of bioluminescence in living organisms. *Journal of Bioluminescence* and Chemiluminescence, 1, 147-163.

Herring P.J. (1988). Copepod luminescence. *Hydrobiologia*, 167, 183-195.

Herring P.J. (2000). Bioluminescent signals and the role of reflectors. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, 2, R29-R38.

Herring P.J., Latz M.I., Bannister N.J. & Widder E.A. (1993). Bioluminescence of the poecilostomatoid copepod *Oncaea conifera*. *Marine Ecology-Progress Series*, 94, 297-309.

Herring P.J. & Locket N.A. (1978). The luminescence and photophores of euphausiid crustaceans. *Journal of Zoology*, 186, 431-462.

Hewitt R.P., Watkins J., Naganobu M., Sushin V., Brierley A.S. et al. (2004). Biomass of Antarctic krill in the Scotia Sea in January/February 2000 and its use in revising an estimate of precautionary yield. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 51, 1215-1236.

Hill S.L., Murphy E.J., Reid K., Trathan P.N. & Constable A.J. (2006). Modelling Southern Ocean ecosystems: krill, the food-web, and the impacts of harvesting. *Biological Reviews*, 81, 581-608.

Hirano Y., Matsuda T. & Kawaguchi S. (2003). Breeding antarctic krill in captivity. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 36, 259-269.

Literaturverzeichnis - 265 -

Hoeger U. (1990). Fate of circulating serotonin in the hemolymph of the crayfish, *Oronectes limosus*. Zeitschrift für Naturforschung C, 45, 1053-1059.

Hoeger U. & Florey E. (1989). Catecholamine degradation in the hemolymph of the Chinese Crab, *Eriocheir sinensis*. Comparative Biochemistry and Physiology C-Pharmacology Toxicology & Endocrinology, 92, 323-327.

Hopkins T.L. (1985). Food web of an antarctic midwater ecosystem. Marine Biology, 89, 197-212.

Hwang P.P. & Lee T.H. (2007). New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. Comparative Biochemistry and Physiology A-Molecular & Integrative Physiology, 148, 479-497.

Ikeda T., Dixon P. & Kirkwood J. (1985). Laboratory observations of molting, growth and maturation in Antarctic Krill (*Euphausia superba Dana*). *Polar Biology*, 4, 1-8.

Ikeda T. & Thomas P.G. (1987). Longevity of the Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana) based on a laboratory experiment. *Proceedings of the NIPR Symposium on Polar Biology*, 1, 56-62.

Ito K., Nakazawa K., Koizumi S., Liu M., Takeuchi K. et al. (1996). Inhibition by antipsychotic drugs of L-type Ca²⁺ channel current in PC12 cells. *European Journal of Pharmacology*, 314, 143-150.

Ivanov B.G. (1969). On the luminescence of Antarctic Krill (Euphausia superba). Okeanologija, 9, 505-506.

Johnsen S. (2001). Hidden in plain sight: the ecology and physiology of organismal transparency. *The Biological Bulletin*, 201, 301-318.

Johnsen S. (2003). Lifting the cloak of invisibility: the effects of changing optical conditions on pelagic crypsis. *Integrative and Comparative Biology*, 43, 580-590.

Johnson C.R., O'Brien W.J. & MacIntyre S. (2007). Vertical and temporal distribution of two copepod species, *Cyclops scutfier* and *Diaptomus pribilofensis*, in 24 h arctic daylight. *Journal of Plankton Research*, 29, 275-289.

Jones B.W. & Nishiguchi M.K. (2004). Counterillumination in the hawaiian bobtail squid, *Euprymna scolopes* Berry (Mollusca: Cephalopoda). *Marine Biology*, 144, 1151-1155.

Kaartvedt S., Klevjer T.A., Torgersen T., Sornes T.A. & Rostad A. (2007). Diel vertical migration of individual jellyfish (*Periphylla periphylla*). *Limnology and Oceanography*, 52, 975-983.

Kaartvedt S., Larsen T., Hjelmseth K. & Onsrud M.S.R. (2002). Is the omnivorous krill *Meganyctiphanes norvegica* primarily a selectively feeding carnivore? *Marine Ecology-Progress Series*, 228, 193-204.

Kaczmarek L.K. & Levitan I.B. (1987). What is neuromodulation? *Neuromodulation - The biochemical control of neuronal excitability* (Seiten 3-17). New York, Oxford: Oxford University Press.

- 266 - Literaturverzeichnis

Kampa E.M. & Boden B.P. (1956). Light generation in a sonic-scattering layer. Deep-Sea Research, 4, 73-92.

Kampa E.M., Boden B.P. & Abbott B.C. (1959). Electrical response to illumination of the Euphausiid crustacean eye. *Nature*, 183, 1820-1821.

Kasper S. & McEwen B.S. (2008). Neurobiological and clinical effects of the antidepressant tianeptine. *Cns Drugs*, 22, 15-26.

Katz P.S. (1995). Neuromodulation and motor pattern generation in the crustacean stomatogastric nervous system. In W.R.Ferrell & U.Proske (Hrsg.), *Neural control of movement* New York: Plenum Press.

Katz P.S. (2007). Evolution and development of neural circuits in invertebrates. *Current Opinion in Neurobiology*, 17, 59-64.

Kawaguchi S., King R., Meijers R., Osborn J.E., Swadling K.M. et al. (2010). An experimental aquarium for observing the schooling behaviour of Antarctic krill (*Euphausia superba*). Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 57, 683-692.

Kay R.H. (1963). Bioluminescence of the euphausiid crustacean *Meganyctiphanes norvegica*, the influence of 5-hydroxytryptamine. *Journal of Physiology - Proceedings*, 165, 63p-65p.

Kay R.H. (1965). Light-stimulated and light-inhibited bioluminescence of Euphausiid Meganyctiphanes norvegica (G. O. Sars). Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences, 162, 365-386.

Kay R.H. (1966). The inhibition of optically stimulated bioluminescence in *Meganyctiphanes norvegica*. In H.E.Barnes (Hrsg.), *Some Contemporary Studies in Marine Science* (Seiten 421-427). London: George Allen and Unwin Ltd.

Kelly M.G. & Tett P. (1978). Bioluminescence in the ocean. In P.J.Herring (Hrsg.), *Bioluminescence in action* (Seiten 399-417). London: Academic Press.

Kils U. (1979). Swimming speed and escape capacity of Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Meeresforschung*, 27, 264-266.

Kils U. (1981). Swimming behaviour, swimming performance and energy balance of Antarctic Krill *Euphausia* superba. BIOMASS Handbook Scientific Series, 3.

Kiltie R.A. (1988). Countershading - universally deceptive or deceptively universal? *Trends in Ecology & Evolution*, 3, 21-23.

King R., Nicol S., Cramp P. & Swadling K.M.A. (2003). Krill maintenance and experimentation at the australian antarctic division. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 36, 271-283.

Literaturverzeichnis - 267 -

Kirby L.G., Pernar L., Valentino R.J. & Beck S.G. (2003). Distinguishing characteristics of serotonin and non-serotonin-containing cells in the dorsal raphe nucleus: electrophysiological and immunohistochemical studies. *Neuroscience*, 116, 669-683.

Kirk J.T.O. (2006). Light field around a point light source in the ocean. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, 111, 1-7.

Kirsch R. & Richter S. (2007). The nervous system of *Leptodora kindtii* (Branchiopoda, Cladocera) surveyed with Confocal Scanning Microscopy (CLSM), including general remarks on the branchiopod neuromorphological ground pattern. *Arthropod Structure & Development*, 36, 143-156.

Klimley A.P. & Brown S.T. (1983). Stereophotography for the field biologist - measurement of lengths and 3-dimensional positions of free-swimming sharks. *Marine Biology*, 74, 175-185.

Kobayashi T., Ikeda K. & Kumanishi T. (2000). Inhibition by various antipsychotic drugs of the G-protein-activated inwardly rectifying K+ (GIRK) channels expressed in *Xenopus* oocytes. *British Journal of Pharmacology*, 129, 1716-1722.

Konishi S. & Kravitz E.A. (1978). The physiological properties of amine-containing neurons in the lobster nervous system. *Journal of Physiology*, 279, 215-229.

Körte F. (1964). Luminosity of Meganyctiphanes norvegica (M. Sars) in relation to vertical movement. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 44, 479-484.

Kravitz E.A., Beltz B., Glusman S., Goy M., Harriswarrick R. et al. (1984). The well-modulated lobster - the roles of serotonin, octopamine, and proctolin in the lobster nervous system. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 22, 133-147.

Kravitz E.A., Glusman S., Livingstone M.S. & Harris-Warrick R.M. (1981). Serotonin and octopamine in the lobster nervous system: Mechanism of action at neuromuscular junctions and preliminary behavioral studies. In B.L.Jacobs & A.Gelperin (Hrsg.), (Seiten 189-210). Cambridge, Mass: MIT Press.

Kravitz E.A. & Huber R. (2003). Aggression in invertebrates. Current Opinion in Neurobiology, 13, 736-743.

Kristensson K., Strömberg E., Elofsson R. & Olsson Y. (1972). Distribution of protein tracers in nervous system of crayfish (*Astacus astacus* L.) following systemic and local application. *Journal of Neurocytology*, 1, 35-47.

Kronström J., Dupont S., Mallefet J., Thorndyke M. & Holmgren S. (2007). Serotonin and nitric oxide interaction in the control of bioluminescence in northern krill, *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars). *Journal of Experimental Biology*, 219, 3179–3187.

- 268 - Literaturverzeichnis

Krönström J., Karlsson W., Johansson B.R. & Holmgren S. (2009). Involvement of contractile elements in control of bioluminescence in Northern krill, *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars). *Cell and Tissue Research*, 336, 299-308.

Kröyer H. (1859). Forsög til en monographisk Fremstilling af Kræbsdyrslægten Sergestes. Med Bemerkinger om Dekapodernes Höreredskaber. Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter. Femte Række. Naturvidenskabelig og Mathematisk Afdeling., 4, 217-302.

Kubodera T., Koyama Y. & Mori K. (2007). Observations of wild hunting behaviour and bioluminescence of a large deep-sea, eight-armed squid, *Taningia danae*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 274, 1029-1034.

Kupfermann I. (1979). Modulatory actions of neurotransmitters. *Annual Review Neuroscience*, 2, 447-465.

Lampert W. (1989). The adaptive significance of diel vertical migration of zooplankton. *Functional Ecology*, 3, 21-27.

Land M.F. (1980). Eye movements and the mechanism of vertical steering in euphausiid Crustacea. *Journal of Comparative Physiology*, 137, 255-265.

Land M.F., Burton F.A. & Meyer-Rochow V.B. (1979). The optical geometry of Euphausiid eyes. *Journal of Comparative Physiology*, 130, 49-62.

Lanfumey L. & Hamon M. (2004). 5-HT₁ receptors. Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders, 3, 1-10.

Lange A.B. (2009). Tyramine: from octopamine precursor to neuroactive chemical in insects. *General and Comparative Endocrinology*, 162, 18-26.

Lapota D., Galt C., Losee J.R., Huddell H.D., Orzech J.K. et al. (1988). Observations and measurements of planktonic bioluminescence in and around a milky sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 119, 55-81.

Lapota D. & Losee J.R. (1984). Observations of bioluminescence in marine plankton from the Sea of Cortez. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 77, 209-240.

Lass S., Tarling G.A., Virtue P., Matthews J.B.L., Mayzaud P. et al. (2001). On the food of northern krill *Meganyctiphanes norvegica* in relation to its vertical distribution. *Marine Ecology-Progress Series*, 214, 177-200.

Latz M.I., Bowlby M.R. & Case J.F. (1990). Recovery and stimulation of copepod bioluminescence. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 136, 1-22.

Literaturverzeichnis - 269 -

Latz M.I. & Case J.F. (1982). Light organ and eyestalk compensation to body tilt in the luminescent midwater shrimp, *Sergestes similis. Journal of Experimental Biology*, 98, 83-104.

Latz M.I. & Case J.F. (1992). Slow photic and chemical induction of bioluminescence in the midwater shrimp, *Sergestes similis* Hansen. *The Biological Bulletin*, 182, 391-400.

Latz M.I., Frank T.M., Bowlby M.R., Widder E.A. & Case J.F. (1987). Variability in flash characteristics of a bioluminescent copepod. *The Biological Bulletin*, 173, 489-503.

Lawry J.V. (1974). Lantern fish compare downwelling light and bioluminescence. Nature, 247, 155-157.

Lechin F., van der Dijs B. & Hernandez-Adrian G. (2006). Dorsal raphe vs. median raphe serotonergic antagonism. Anatomical, physiological, behavioral, neuroendocrinological, neuropharmacological and clinical evidences: Relevance for neuropharmacological therapy. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 30, 565-585.

Lee C.Y., Yau S.M., Liau C.S. & Huang W.J. (2000). Serotonergic regulation of blood glucose levels in the crayfish, *Procambarus clarkii*: Site of action and receptor characterization. *Journal of Experimental Zoology*, 286, 596-605.

Legendre L. & Demers S. (1984). Towards dynamic biological oceanography and limnology. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 41, 2-19.

Lewis S.M. & Cratsley C.K. (2008). Flash signal evolution, mate choice, and predation in fireflies. *Annual Review of Entomology*, 53, 293-321.

Leysen J.E. (2004). 5-HT₂ receptors. Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders, 3, 11-26.

Li H., Lang B., Kang J.F. & Li Y.Q. (2000). Serotonin potentiates the response of neurons of the superficial laminae of the rat spinal dorsal horn to gamma-aminobutyric acid. *Brain Research Bulletin*, 52, 559-565.

Lindahl O. & Hernroth L. (1988). Large-scale and long-term variations in the zooplankton community of the Gullmar Fjord, Sweden, in relation to advective processes. *Marine Ecology-Progress Series*, 43, 161-171.

Lindahl O. & Perissinotto R. (1987). Short-term variations in the zooplankton community related to water exchange processes in the Gullmar Fjord, Sweden. *Journal of Plankton Research*, 9, 1113-1132.

Linn C.E. & Roelofs W.L. (1986). Modulatory effects of octopamine and serotonin on male sensitivity and periodicity of response to sex-pheromone in the Cabbage Looper Moth, *Trichoplusia ni. Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 3, 161-171.

- 270 - Literaturverzeichnis

Liu S.H., Sun S. & Han B.P. (2003). Diel vertical migration of zooplankton following optimal food intake under predation. *Journal of Plankton Research*, 25, 1069-1077.

Livingstone M.S., Harris-Warrick R.M. & Kravitz E.A. (1980). Serotonin and octopamine produce opposite postures in lobsters. *Science*, 208, 76-79.

Lloyd J.E. (1975). Aggressive mimicry in *Photuris* fireflies - signal repertoires by Femmes Fatales. *Science*, 187, 452-453.

Lloyd J.E. (1977). Bioluminescence and communication. In T.A.Sebeok (Hrsg.), *How Animals Communicate* (Seiten 164-183). Bloomington: Indiana University Press.

Loew E.R. (1976). Light, and photoreceptor degeneration in norway lobster, *Nephrops norvegicus* (L.). *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 193, 31-44.

Lopez H.S. & Brown A.M. (1992). Neuromodulation. Current Opinion in Neurobiology, 2, 317-322.

Macdonald R. (1927). Food and habits of Meganyctiphanes norvegica. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 14, 753-784.

Mackas D.L., Denman K.L. & Abbott M.R. (1985). Plankton patchiness: biology in the physical vernacular. *Bulletin of Marine Science*, 37, 652-674.

Major P.F. (1978). Predator-prey interactions in 2 schooling fishes, *Caranx ignobilis* and *Stolephorus purpureus*. *Animal Behaviour*, 26, 760-777.

Malkiel E., Abras J.N., Widder E.A. & Katz J. (2006). On the spatial distribution and nearest neighbor distance between particles in the water column determined from *in situ* holographic measurements. *Journal of Plankton Research*, 28, 149-170.

Marcus N.H. (1986). Population dynamics of marine copepods - the importance of photoperiodism. *American Zoologist*, 26, 469-477.

Marinovic B. & Mangel M. (1999). Krill can shrink as an ecological adaptation to temporarily unfavourable environments. *Ecology Letters*, 2, 338-343.

Marr J.W.S. (1962). The natural history and geography of the Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana). *Discovery Reports*, 32, 1-463.

Matsuda K. & Wilder M.N. (2010). Difference in light perception capability and spectral response between juveniles and sub-adults of the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* as determined by electroretinogram. *Fisheries Science*, 76, 633-641.

Literaturverzeichnis - 271 -

Mauchline J. (1958a). The circulatory system of the crustacean euphausiid, *Meganyctiphanes norvegica* (M.Sars). *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B - Biological Sciences*, 67, 32-41.

Mauchline J. (1958b). The vascular system of crustacean compound eyes, especially those of the Euphausid, *Meganyctiphanes norvegica. Quarterly Journal of microscopical Science*, 99, 89-93.

Mauchline J. (1960). The biology of the Euphausiid crustacean, *Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars). *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B - Biological Sciences*, 67, 141-179.

Mauchline J. (1984). Euphausiid, stomatopod and leptostracan crustaceans. *Synopses of the British Fauna (New Series)*, 30, 1-91.

Mauchline J. & Fisher L.R. (1969). The biology of Euphausiids. Advances in Marine Biology, 7, 1-454.

McAllister D.E. (1967). Significance of ventral bioluminescence in fishes. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 24, 537-554.

McClintock Turbeville J. (1986). An ultrastructural analysis of coelomogenesis in the hoplonemertine *Prosorhochmus americanus* and the polychaete *Magelona sp. Journal of Morphology*, 187, 51-60.

McFall-Ngai M. & Morin J.G. (1991). Camouflage by disruptive illumination in *Leiognathids*, a family of shallow-water, bioluminescent fishes. *Journal of Experimental Biology*, 156, 119-137.

McFall-Ngai M.J. (1990). Crypsis in the pelagic environment. American Zoologist, 30, 175-188.

McPhee M.J. & Wilkens J.L. (1989). Serotonin, but not dopamine or octopamine, modifies locomotor and phototaxic bahavior of the crab, *Carcinus maenas*. *Canadian Journal of Zoology*, 67, 391-393.

Mensinger A.F. & Case J.F. (1992). Dinoflagellate luminescence increases susceptibility of zooplankton to teleost predation. *Marine Biology*, 112, 207-210.

Meyer M.A. & El-Sayed S.Z. (1983). Grazing of *Euphausia superba* Dana on natural phytoplankton populations. *Polar Biology*, 1, 193-197.

Meyer-Rochow V.B. (1994). Light-induced damage to photoreceptors of Spiny Lobsters and other crustaceans. *Crustaceana*, 67, 95-109.

Meyer-Rochow V.B. (2001). The crustacean eye: dark/light adaptation, polarization sensitivity, flicker fusion frequency, and photoreceptor damage. *Zoological Science*, 18, 1175-1197.

Miller S.D., Haddock S.H.D., Elvidge C.D. & Lee T.F. (2005). Detection of a bioluminescent milky sea from space. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 14181-14184.

- 272 - Literaturverzeichnis

Mittmann B. & Scholtz G. (2003). Development of the nervous system in the "head" of *Limulus polyphemus* (Chelicerata: Xiphosura): morphological evidence for a correspondence between the segments of the chelicerae and of the (first) antennae of Mandibulata. *Development Genes and Evolution*, 213, 9-17.

Möhler H. (2001). Pharmacology of GABA and glycine neurotransmission. *Handbook of experimental pharmacology* (Seiten 101-116). Berlin: Springer.

Moline M.A., Blackwell S.M., Case J.F., Haddock S.H.D., Herren C.M. et al. (2009). Bioluminescence to reveal structure and interaction of coastal planktonic communities. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56, 232-245.

Moloney C.L., St John M.A., Denman K.L., Karl D.M., Koster F.W. et al. (2011). Weaving marine food webs from end to end under global change. *Journal of Marine Systems*, 84, 106-116.

Monachon M.A., Jalfre M., Burkard W.P. & Haefely W. (1972). Blockade of central 5-Hydroxytryptamine receptors by methiothepin. *Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 274, 192-&.

Moore H.B. (1950). The relation between the scattering layer and the Euphausiacea. *The Biological Bulletin*, 99, 181-212.

Moosman P.R., Cratsley C.K., Lehto S.D. & Thomas H.H. (2009). Do courtship flashes of fireflies (Coleoptera: Lampyridae) serve as aposematic signals to insectivorous bats? *Animal Behaviour*, 78, 1019-1025.

Morin J.G. (1983). Coastal bioluminescence: patterns and functions. Bulletin of Marine Science, 33, 787-817.

Morin J.G. (1986). Firefleas of the sea - luminescent signaling in marine ostracode crustaceans. *Florida Entomologist*, 69, 105-121.

Morin J.G. & Cohen A.C. (1991). Bioluminescent displays, courtship, and reproduction in ostracodes. In R.T.Bauer & J.W.Martin (Hrsg.), *Crustacean sexual biology* (Seiten 1-16). New York and Oxford: Columbia University Press.

Morin J.G., Harrington A., Nealson K.H., Krieger N., Baldwin T.O. et al. (1975). Light for all reasons - versatility in behavioral repertoire of flashlight fish. *Science*, 190, 74-76.

Munk O. (1999). The escal photophore of ceratioids (Pisces; Ceratioidei) - a review of structure and function. *Acta Zoologica*, 80, 265-284.

Muntz W.R.A. (1976). On yellow lenses in mesopelagic animals. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 56, 963-976.

Literaturverzeichnis - 273 -

Murase H., Matsuoka K., Ichii T. & Nishiwaki S. (2002). Relationship between the distribution of euphausiids and baleen whales in the Antarctic (35 degrees E-145 degrees W). *Polar Biology*, 25, 135-145.

Murray J. (1885). The Phyllocarida. Report on the scientific results of the voyage of the H.M.S. Challenger during the years 1873-76 - Narrative, 1, 743.

Myslinski T., Frank T. & Widder E. (2005). Correlation between photosensitivity and downwelling irradiance in mesopelagic crustaceans. *Marine Biology*, 147, 619-629.

Naito Y., Taniguchi A. & Hamada E. (1986). Some observations on swarms and mating behavior of Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana). *Memoirs of National Institute of Polar Research*, 40, 178-182.

Nealson K.H., Arneson A.C. & Bratkovich A. (1984). Preliminary results from studies of nocturnal bioluminescence with subsurface moored photometers. *Marine Biology*, 83, 185-191.

Nealson K.H., Arneson A.C. & Huber M.E. (1986). Identification of marine organisms using kinetic and spectral properties of their bioluminescence. *Marine Biology*, 91, 77-83.

Nealson K.H. & Hastings J.W. (1979). Bacterial bioluminescence - its control and ecological significance. *Microbiological Reviews*, 43, 496-518.

Neilson D.J., Latz M.I. & Case J.F. (1995). Temporal variability in the vertical structure of bioluminescence in the North-Atlantic Ocean. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, 100, 6591-6603.

Nelson D.L. (2004). 5-HT₅ Receptors. Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders, 3, 53-58.

Neumaier J.F., Sexton T.J., Yracheta Y., Diaz A.M. & Brownfield M. (2001). Localization of 5-HT₇ receptors in rat brain by immunocytochemistry, in situ hybridization, and agonist stimulated cFos expression. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 21, 63-73.

Niacaris T. & Avery L. (2003). Serotonin regulates repolarization of the *C. elegans* pharyngeal muscle. *Journal of Experimental Biology*, 206, 223-231.

Nicol J.A.C. (1962). Animal luminescence. Advances in Comparative Physiology and Biochemistry, 1, 217-273.

Nicol J.A.C. (1963). Luminescence in animals. *Endeavour*, 22, 37-41.

Nicol S. (2003). Living krill, zooplankton and experimental investigations: a discourse on the role of krill and their experimental study in marine ecology. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 36, 191-205.

Nicol S. & Brierley A.S. (2010). Through a glass less darkly - new approaches for studying the distribution, abundance and biology of Euphausiids. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57, 496-507.

- 274 - Literaturverzeichnis

Nicol S. & Endo Y. (1999). Krill fisheries: development, management and ecosystem implications. *Aquatic Living Resources*, 12, 105-120.

Nicol S. & Odor R.K. (1985). Predatory behavior of squid (*Illex illecebrosus*) feeding on surface swarms of Euphausiids. *Canadian Journal of Zoology*, 63, 15-17.

Nicol S., Stolp M., Cochran T., Geijsel P. & Marshall J. (1992). Growth and shrinkage of Antarctic krill *Euphausia superba* from the Indian Ocean sector of the Southern Ocean during summer. *Marine Ecology-Progress Series*, 89, 175-181.

O'Brien D.P. (1987a). Description of escape responses of krill (Crustacea, Euphausiacea), with particular reference to swarming behavior and the size and proximity of the predator. *Journal of Crustacean Biology*, 7, 449-457.

O'Brien D.P. (1987b). Direct observations of the behavior of *Euphausia superba* and *Euphausia crystallorophias* (Crustacea, Euphausiacea) under pack ice during the Antarctic spring of 1985. *Journal of Crustacean Biology*, 7, 437-448.

O'Brien D.P. (1988). Surface schooling behavior of the coastal krill *Nyctiphanes australis* (Crustacea, Euphausiacea) off Tasmania, Australia. *Marine Ecology-Progress Series*, 42, 219-233.

O'Brien D.P., Ritz D.A. & Kirkwood R.J. (1986). Stranding and matting behavior in *Nyctiphanes australis* (Euphausiidae, Crustacea). *Marine Biology*, 93, 465-473.

O'Brien D.P., Tay D. & Zwart P.R. (1986). Laboratory method of analysis of swarming behavior in macroplankton - combination of a modified flume tank and stereophotographic techniques. *Marine Biology*, 90, 517-527.

O'Day W.T. & Fernandez H.R. (1974). *Aristostomias scintillans* (Malacosteidae) - a deep-sea fish with visual pigments apparently adapted to its own bioluminescence. *Vision Research*, 14, 545-550.

Onsrud M.S.R. & Kaartvedt S. (1998). Diel vertical migration of the krill *Meganyctiphanes norvegica* in relation to physical environment, food and predators. *Marine Ecology-Progress Series*, 171, 209-219.

Onsrud M.S.R., Kaartvedt S. & Breien M.T. (2005). *In situ* swimming speed and swimming behaviour of fish feeding on the krill *Meganyctiphanes norvegica*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 62, 1822-1832.

Orchard I. (1982). Octopamine in insects - neurotransmitter, neurohormone, and neuromodulator. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne de Zoologie*, 60, 659-669.

Otte D. (1974). Effects and functions in the evolution of signaling systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 5, 385-417.

Literaturverzeichnis - 275 -

Paffenhofer G.A. (1989). Future marine zooplankton research - a perspective. *Marine Ecology-Progress Series*, 55, 197-206.

Parmesan C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, 37, 637-669.

Patten W. (1886). Eyes of molluscs and arthropods. *Mittheilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel*, 6, 542-756.

Pearre S. (2003). Eat and run? The hunger/satiation hypothesis in vertical migration: history, evidence and consequences. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 78, 1-79.

Peeke H.V.S., Blank G.S., Figler M.H. & Chang E.S. (2000). Effects of exogenous serotonin on a motor behavior and shelter competition in juvenile lobsters (*Homarus americanus*). *Journal of Comparative Physiology A-Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 186, 575-582.

Perissinotto R. (1992). Mesozooplankton size-selectivity and grazing impact on the phytoplankton community of the Prince Edward Archipelago (Southern-Ocean). *Marine Ecology-Progress Series*, 79, 243-258.

Petersson G. (1968). Studies on photophores in the euphausiacea. Sarsia, 36, 1-39.

Pierantoni U. (1921). Note di morfologia e svillupo sui fotofori degli *Eufausiacei*. *Pubblicazioni della Stazione Zoologica di Napoli*, 3, 165-186.

Pietsch T.W. (2005). Dimorphism, parasitism, and sex revisited: modes of reproduction among deep-sea ceratioid anglerfishes (Teleostei: Lophiiformes). *Ichthyological Research*, 52, 207-236.

Poels J., Suner M.M., Needham M., Torfs H., De Rijck J. et al. (2001). Functional expression of a locust tyramine receptor in murine erythroleukaemia cells. *Insect Molecular Biology*, 10, 541-548.

Price H.J. (1989). Swimming behavior of krill in response to algal patches - a mesocosm study. *Limnology and Oceanography*, 34, 649-659.

Price H.J., Paffenhofer G.A., Boyd C.M., Cowles T.J., Donaghay P.L. et al. (1988). Future studies of zooplankton behavior - questions and technological developments. *Bulletin of Marine Science*, 43, 853-872.

Priddle J., Hawes I., Ellisevans J.C. & Smith T.J. (1986). Antarctic aquatic ecosystems as habitats for phytoplankton. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 61, 199-238.

Pugh P.R. (1989). Gelatinous zooplankton - the forgotten fauna. Progress in Underwater Science, 14, 67-78.

- 276 - Literaturverzeichnis

Quetin L.B. & Ross R.M. (1991). Behavioral and physiological characteristics of the Antarctic Krill, *Euphausia superba*. *American Zoologist*, 31, 49-63.

Raab F. (1913). Zur Anatomie und Histologie der Euphausiiden. Zoologischer Anzeiger, 41, 620-623.

Raab F. (1915). Beitrag zur Anatomie und Histologie der Euphausiiden. Arbeiten aus den Zoologischen Instituten der Universität Wien, 20, 1-34.

Raymond J.A. & Devries A.L. (1976). Bioluminescence in McMurdo-Sound, Antarctica. *Limnology and Oceanography*, 21, 599-602.

Raymond J.R., Mukhin Y.V., Gelasco A., Turner J., Collinsworth G. et al. (2001). Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. *Pharmacology & Therapeutics*, 92, 179-212.

Reed P.W. & Lardy H.A. (1972). A23187 - a divalent cation ionophore. *Journal of Biological Chemistry*, 247, 6970-6977.

Reid K. & Croxall J.P. (2001). Environmental response of upper trophic-level predators reveals a system change in an Antarctic marine ecosystem. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 268, 377-384.

Restrepo B., Martin M.L., San Roman L. & Moran A. (2010). Peripheral 5-HT_{1A} and 5-H_{T7} serotonergic receptors modulate parasympathetic neurotransmission in long-term diabetic rats. *Experimental Diabetes Research*.

Reynolds G.T. & Lutz R.A. (2001). Sources of light in the deep ocean. Reviews of Geophysics, 39, 123-136.

Richardson A.J. (2008). In hot water: zooplankton and climate change. *ICES Journal of Marine Science*, 65, 279-295.

Richelson E. & Souder T. (2000). Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors - focus on newer generation compounds. *Life Sciences*, 68, 29-39.

Ritz D.A., Foster E.G. & Swadling K.M. (2001). Benefits of swarming: mysids in larger swarms save energy. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 81, 543-544.

Robison B.H. (1992). Bioluminescence in the benthopelagic holothurian *Enypniastes eximia*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 72, 463-472.

Robison B.H. (2004). Deep pelagic biology. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 300, 253-272.

Robison B.H. (2008). Light in the ocean's midwaters. Scientific American, 273, 60-69.

Literaturverzeichnis - 277 -

Roe H.S.J. (1984). The diel migrations and distributions within a mesopelagic community in the Northeast Atlantic. 2. Vertical migrations and feeding of mysids and decapod crustacea. *Progress in Oceanography*, 13, 269-318.

Roe H.S.J., James P.T. & Thurston M.H. (1984). The diel migrations and distributions within a mesopelagic community in the Northeast Atlantic. 6. Medusae, Ctenophores, Amphipods and Euphausiids. *Progress in Oceanography*, 13, 425-460.

Rosenberg R., Agrenius S., Hellman B., Nilsson H.C. & Norling K. (2002). Recovery of marine benthic habitats and fauna in a Swedish fjord following improved oxygen conditions. *Marine Ecology-Progress Series*, 234, 43-53.

Rosene D.L., Roy N.J. & Davis B.J. (1986). A cryoprotection methods that facilitates cutting frozen sections of whole monkey brains for histological and histochemical processing without freezing artefact. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 34, 1301-1315.

Ross R. & Quetin L. (2000). Reproduction in Euphausiacea. In I.Everson (Hrsg.), *Krill - biology, ecology, and fisheries* (Seiten 150-181). Oxford: Blackwell Science.

Rothe B.H., Schmidt-Rhaesa A. & Kieneke A. (2011). The nervous system of *Neodasys chaetonotoideus* (Gastrotricha: Neodasys) revealed by combining confocal laserscanning and transmission electron microscopy: evolutionary comparison of neuroanatomy within the Gastrotricha and basal Protostomia. *Zoomorphology*, 130, 51-84.

Rowland H.M. (2009). From Abbott Thayer to the present day: what have we learned about the function of countershading? *Philosophical Transactions of the Royal Society B- Biological Sciences*, 364, 519-527.

Runge J.A. & Ingram R.G. (1991). Under-ice feeding and diel migration by the planktonic copepods *Calanus glacialis* and *Pseudocalanus minutus* in relation to the ice algal production cycle in southeastern Hudson-Bay, Canada. *Marine Biology*, 108, 217-225.

Ruxton G.D., Speed M.P. & Kelly D.J. (2004). What, if anything, is the adaptive function of countershading? *Animal Behaviour*, 68, 445-451.

Saenz F., Garcia U. & Arechiga H. (1997). Modulation of electrical activity by 5-hydroxytryptamine in crayfish neurosecretory cells. *Journal of Experimental Biology*, 200, 3079-3090.

Sameoto D.D. (1980). Relationships between stomach contents and vertical migration in *Meganyctiphanes* norvegica, Thysanoessa raschii and T. inermis (Crustacea Euphausiacea). Journal of Plankton Research, 2, 129-143.

- 278 - Literaturverzeichnis

Santos E.A., Keller R., Rodriguez E. & Lopez L. (2001). Effects of serotonin and fluoxetine on blood glucose regulation in two decapod species. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34, 75-80.

Sars G.O. (1883). Preliminary Notices on the Schizopoda of H. M. S. "Challenger" Expedition. *Christiania Videnskapsselskapet Forhandlinger*, 7, 1-43.

Sars G.O. (1885). Report on the Schizopoda collected by H.M.S. Challenger during the years 1873-1876. H.M.S. Challenger Reports, 13, 1-228.

Sars M. (1864). "Hr. Sars gav nogle (...)". Forhandlinger i Videnskapsselskapet i Christiania, 79-84.

Sasaki A., Ikejima K., Aoki S., Azuma N., Kashimura N. et al. (2003). Field evidence for bioluminescent signaling in the pony fish, *Leiognathus elongatus*. *Environmental Biology of Fishes*, 66, 307-311.

Saudou F. & Hen R. (1994). 5-Hydroxytryptamine receptor subtypes in vertebrates and invertebrates. *Neurochemistry International*, 25, 503-532.

Schrope M. (2007). Into the deep: lights in the deep. Nature, 450, 472-474.

Schulz J., Barz K., Ayon P., Ludtke A., Zielinski O. et al. (2010). Imaging of plankton specimens with the lightframe on-sight keyspecies investigation (LOKI) system. *Journal of the European Optical Society-Rapid Publications*, 5.

Seamon K.B., Padgett W. & Daly J.W. (1981). Forskolin - unique diterpene activator of adenylate cyclase in membranes and in intact cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 78, 3363-3367.

Seliger H.H., Fastie W.G. & Mcelroy W.D. (1969). Towable photometer for rapid area mapping of concentrations of bioluminescent marine dinoflagellates. *Limnology and Oceanography*, 14, 806-813.

Semper G. (1862). Reisebericht des Herrn Dr. Semper. Fortsetzung. Ein Schreiben an A. Kölliker. Zeitschrift fuer wissenschaftliche Zoologie, 11, 100-108.

Shelton P.M.J., Gaten E. & Chapman C.J. (1985). Light and retinal damage in *Nephrops norvegicus* (L) (Crustacea). *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 226, 217-236.

Shimomura O. & Johnson H. (1967). Extraction, purification, and properties of the bioluminescence system of the Euphausid Shrimp *Meganyctiphanes norvegica*. *Biochemistry*, 6, 2293-2306.

Siegel V. (2005). Distribution and population dynamics of *Euphausia superba*: summary of recent findings. *Polar Biology*, 29, 1-22.

Literaturverzeichnis - 279 -

Siegel V. & Kalinowski J. (1994). Krill demography and small-scale processes: a review. In S.Z.El-Sayed (Hrsg.), *Southern ocean ecology: the BIOMASS perspective* (Seiten 145-163).

Smith R.C. & Baker K.S. (1981). Optical properties of the clearest natural-Waters (200-800 nm). *Applied Optics*, 20, 177-184.

Somiya H. (1976). Functional significance of yellow lens in eyes of *Argyropelecus affinis*. *Marine Biology*, 34, 93-99.

Sosa M.A., Spitzer N., Edwards D.H. & Baro D.J. (2004). A crustacean serotonin receptor: cloning and distribution in the thoracic ganglia of crayfish and freshwater prawn. *Journal of Comparative Neurology*, 473, 526-537.

Spicer J.I. & Strömberg J.O. (2003). Developmental changes in the responses of O₂ uptake and ventilation to acutely declining O₂ tensions in larval krill *Meganyctiphanes norvegica*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 295, 207-218.

Spitzer N., Cymbalyuk G., Zhang H.M., Edwards D.H. & Baro D.J. (2008a). Serotonin transduction cascades mediate variable changes in pyloric network cycle frequency in response to the same modulatory challenge. *Journal of Neurophysiology*, 99, 2844-2863.

Spitzer N., Edwards D.H. & Baro D.J. (2008b). Conservation of structure, signaling and pharmacology between two serotonin receptor subtypes from decapod crustaceans, *Panulirus interruptus* and *Procambarus clarkii*. *Journal of Experimental Biology*, 211, 92-105.

Sprouse J., Reynolds L., Li X.F., Braselton J. & Schmidt A. (2004). 8-OH-DPAT as a 5-HT₇ agonist: phase shifts of the circadian biological clock through increases in cAMP production. *Neuropharmacology*, 46, 52-62.

Steenstrup S. & Munk O. (1980). Optical function of the convexiclivate fovea with particular regard to *Notosudid* deep-sea teleosts. *Optica Acta*, 27, 949-964.

Stramma L., Johnson G.C., Sprintall J. & Mohrholz V. (2008). Expanding oxygen-minimum zones in the tropical oceans. *Science*, 320, 655-658.

Strand S.W. & Hamner W.M. (1990). Schooling behavior of Antarctic krill (*Euphausia superba*) in laboratory aquariums - reactions to chemical and visual stimuli. *Marine Biology*, 106, 355-359.

Straw A.D., Branson K., Neumann T.R. & Dickinson M.H. (2011). Multi-camera real-time three-dimensional tracking of multiple flying animals. *Journal of the Royal Society Interface*, 8, 395-409.

Strömberg J.O. & Spicer J.I. (2000). Cold comfort for krill? Respiratory consequences of diel vertical migration by *Meganyctiphanes norvegica* into deep hypoxic waters. *Ophelia*, 53, 213-217.

- 280 - Literaturverzeichnis

Strömberg J.O., Spicer J.I., Liljebladh B. & Thomasson M.A. (2002). Northern krill, *Meganyctiphanes norvegica*, come up to see the last eclipse of the millennium? *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82, 919-920.

Sturm A., Cunningham P. & Dean M. (2009). The ABC transporter gene family of *Daphnia pulex*. *BMC Genomics*, 10.

Sun S., Delamare W. & Nicol S. (1995). The compound eye as an indicator of age and shrinkage in Antarctic krill. *Antarctic Science*, 7, 387-392.

Svansson A. (1984). Hydrography of the Gullmar fjord. Meddelande från Havsfiskelaboratoriet Lysekil, 297.

Swift E., Lessard E.J. & Biggley W.H. (1985). Organisms associated with stimulated epipelagic bioluminescence in the Sargasso Sea and the Gulf-Stream. *Journal of Plankton Research*, 7, 831-848.

Swift E., Sullivan J.M., Batchelder H.P., Vankeuren J., Vaillancourt R.D. et al. (1995). Bioluminescent organisms and bioluminescence measurements in the North Atlantic Ocean near latitude 59.5° N, longitude 21° W. *Journal of Geophysical Research–Oceans*, 100, 6527-6547.

Taft W.C. & Delorenzo R.J. (1984). Micromolar-affinity benzodiazepine receptors regulate voltage-sensitive calcium channels in nerve terminal preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America-Biological Sciences*, 81, 3118-3122.

Tarling G.A., Ensor N.S., Fregin T., Goodall-Copestake W.P. & Fretwell P. (2010). An introduction to the biology of northern krill (*Meganyctiphanes norvegica* Sars). *Advances in Marine Biology*, 57, 1-40.

Tarling G.A., Jarvis T. & Matthews J.B.L. (2003). *Calanus finmarchicus* descends in response to the arrival of krill - better unfed than dead. *Marine Ecology-Progress Series*, 252, 307-310.

Tarling G.A. & Johnson M.L. (2006). Satiation gives krill that sinking feeling. Current Biology, 16, R83-R84.

Tarling G.A., Klevjer T., Fielding S., Watkins J., Atkinson A. et al. (2009). Variability and predictability of Antarctic krill swarm structure. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 56, 1994-2012.

Tarling G.A., Matthews J. & Buchholz F. (1999). The effect of lunar eclipse on the vertical migration behaviour of *Meganyctiphanes norvegica* (Crustacea: Euphausiacea) in the Ligurian Sea. *Journal of Plankton Research*, 21, 1475-1488.

Taylor H.H. & Taylor E.W. (1986). Observations of Valve-Like Structures and Evidence for Rectification of Flow Within the Gill Lamellae of the Crab Carcinus-Maenas (Crustacea, Decapoda). *Zoomorphology*, 106, 1-11.

Literaturverzeichnis - 281 -

Tett P.B. (1969). The effects of temperature upon flash-stimulated luminescence of Euphausiid *Thysanoessa raschii*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 49, 245-258.

Tett P.B. (1971). The relation between dinoflagellates and bioluminescence of sea water. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 51, 183-206.

Tett P.B. (1972). An annual cycle of flash induced luminescence in Euphausiid *Thysanoessa raschii*. *Marine Biology*, 12, 207-218.

Tett P.B. & Kelly M.G. (1973). Marine bioluminescence. *Oceanography and Marine Biology - An Annual Review*, 11, 89-173.

Thomas D.R. & Hagan J.J. (2004). 5-HT₇ receptors. Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders, 3, 81-90.

Thompson J.V. (1828). Zoological researches and illustrations - Memoir III. London: Society for the Bibliography of Natural History.

Thorisson K. (2006). How are the vertical migrations of copepods controlled? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 329, 86-100.

Tierney A.J. (2001). Structure and function of invertebrate 5-HT receptors: a review. *Comparative Biochemistry* and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 128, 791-804.

Tomo A.P. (1983a). Observations on krill shoal luminescence at the sea surface and the accompanying fauna. *Berichte zur Polarforschung*, 4, 196-198.

Tomo A.P. (1983b). Study on the diurnal migration of *Euphausia superba* and the formation of shoals. *Berichte zur Polarforschung*, 4, 191-195.

Torgersen T. (2001). Visual predation by the euphausiid *Meganyctiphanes norvegica*. *Marine Ecology-Progress Series*, 209, 295-299.

Tricklebank M.D., Middlemiss D.N. & Fozard J.R. (1984). 8-OH-DPAT - an enigmatic centrally active 5-HT agonist. *Trends in Pharmacological Sciences*, 5, 415-416.

Trojan E. (1907). Zur Lichtentwicklung in den Photospärien der Euphausien. Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen, 70, 177-188.

Turetta L., Bazzan E., Bertagno K., Musacchio E. & Deana R. (2002). Role of Ca²⁺ and protein kinase C in the serotonin (5-HT) transport in human platelets. *Cell Calcium*, 31, 235-244.

- 282 - Literaturverzeichnis

Tyler J.E. (1959). Natural water as a monochromator. Limnology and Oceanography, 4, 102-105.

Umani S.F., Monti M., Bergamasco A., Cabrini M., De Vittor C. et al. (2005). Plankton community structure and dynamics versus physical structure from Terra Nova Bay to Ross Ice Shelf (Antarctica). *Journal of Marine Systems*, 55, 31-46.

Urbanczyk H., Ast J.C. & Dunlap P.V. (2011). Phylogeny, genomics, and symbiosis of *Photobacterium*. *FEMS Microbiolilogy Reviews*, 35, 324-342.

Vallentin R. & Cunningham J.T. (1888). The photospheria of *Nyctiphanes norvegica*, G.O.Sars. *Quarterly Journal of microscopical Science*, 28, 319-341.

Vanderlinden C., Dewael Y. & Mallefet J. (2003). Screening of second messengers involved in photocyte bioluminescence control of three ophiuroid species (Ophiuroidea: Echinodermata). *Journal of Experimental Biology*, 206, 3007-3014.

Vargas C.A., Tonnesson K., Sell A., Maar M., Moller E.F. et al. (2002). Importance of copepods versus appendicularians in vertical carbon fluxes in a Swedish fjord. *Marine Ecology-Progress Series*, 241, 125-138.

Velsch J.P. & Champalbert G. (1994). Rythmes d'activité natatoire ches *Meganyctiphanes norvegica* (Crustacea, Euphausiacea). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Serie III - Sciences de la Vie*, 317, 857-862.

Verity P.G., Smetacek V. & Smayda T.J. (2002). Status, trends and the future of the marine pelagic ecosystem. *Environmental Conservation*, 29, 207-237.

von Dassow P., Bearon R.N. & Latz M.I. (2005). Bioluminescent response of the dinoflagellate Lingulodinium polyedrum to developing flow: Tuning of sensitivity and the role of desensitization in controlling a defensive behavior of a planktonic cell. *Limnology and Oceanography*, 50, 607-619.

Warner J.A., Latz M.I. & Case J.F. (1979). Cryptic bioluminescence in a midwater shrimp. *Science*, 203, 1109-1110.

Warrant E.J., Collin S.P. & Locket N.A. (2003). Eye design and vision in deep-sea fish. In S.P.Collin & N.J.Marshall (Hrsg.), *Sensory processing in aquatic environments* (Seiten 303-322). New York: Springer.

Warrant E.J. & Locket N.A. (2004). Vision in the deep sea. Biological Reviews, 79, 671-712.

Watkins J.L., Morris D.J., Ricketts C. & Priddle J. (1986). Differences between swarms of Antarctic Krill and some implications for sampling krill populations. *Marine Biology*, 93, 137-146.

Literaturverzeichnis - 283 -

Webster M.S., Roos C.E., Roberts A., Okada A., Ohashi Y. et al. (1991). Mechanical stimulation of bioluminescence in the deep Pacific Ocean. *Deep-Sea Research Part I - Oceanographic Research Papers*, 38, 201-217.

Wegrzyn G. & Czyz A. (2002). How do marine bacteria produce light, why are they luminescent, and can we employ bacterial bioluminescence in aquatic biotechnology? *Oceanologia*, 44, 291-305.

Wheatly M.G. (1996). An overview of calcium balance in crustaceans. *Physiological Zoology*, 69, 351-382.

White H.H. (1979). Effects of dinoflagellate bioluminescence on the ingestion rates of herbivorous zooplankton. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 36, 217-224.

Widder E.A. (1999). Bioluminescence. In S.N.Archer, M.B.Djamgoz, E.Loew, J.C.Partridge, & S.Vallerga (Hrsg.), *Adaptive mechanisms in the ecology of vision* (Seiten 555-581). Dordrecht: Kluwer.

Widder E.A. (2002). Bioluminescence and the pelagic visual environment. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 35, 1-26.

Widder E.A. (2010). Bioluminescence in the ocean: origins of biological, chemical, and ecological diversity. *Science*, 328, 704-708.

Widder E.A., Bernstein S.A., Bracher D.F., Case J.F., Reisenbichler K.R. et al. (1989). Bioluminescence in the Monterey submarine canyon - image analysis of video recordings from a midwater submersible. *Marine Biology*, 100, 541-551.

Widder E.A. & Frank T.M. (2001). The speed of an isolume: a shrimp's eye view. *Marine Biology*, 138, 669-677.

Widder E.A. & Johnsen S. (2000). 3D spatial point patterns of bioluminescent plankton: a map of the 'minefield'. *Journal of Plankton Research*, 22, 409-420.

Widder E.A., Johnsen S., Bernstein S.A., Case J.F. & Neilson D.J. (1999). Thin layers of bioluminescent copepods found at density discontinuities in the water column. *Marine Biology*, 134, 429-437.

Widder E.A., Latz M.I., Herring P.J. & Case J.F. (1984). Far red bioluminescence from 2 deep-sea fishes. *Science*, 225, 512-514.

Wiley R.H. (1983). The evolution of communication: information and manipulation. In T.R.Halliday & P.J.B.Slater (Hrsg.), *Animal Behaviour Volume 2: Communication* (Seiten 156-189). Oxford: Blackwell.

Winkler U.K. & Sicher J. (1996). Die Biolumineszenz von Tieren, Pflanzen und Bakterien. *Naturwissenschaften*, 83, 312-320.

- 284 - Literaturverzeichnis

Wolf N. & Mangel M. (2007). Strategy, compromise, and cheating in predator-prey games. *Evolutionary Ecology Research*, 9, 1293-1304.

Wolfel R. & Graefe K.H. (1992). Evidence for various tryptamines and related compounds acting as substrates of the platelet 5-Hydroxytryptamine transporter. *Naunyn-Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 345, 129-136.

Woodland D.J., Cabanban A.S., Taylor V.M. & Taylor R.J. (2002). A synchronized rhythmic flashing light display by schooling *Leiognathus splendens* (Leiognathidae: Perciformes). *Marine and Freshwater Research*, 53, 159-162.

Woolley M.L., Marsden C.A. & Fone K.C.F. (2004). 5-HT₆ receptors. *Current Drug Targets - CNS & Neurological Disorders*, 3, 59-79.

Wu P.H., Gurevich N. & Carlen P.L. (1988). Serotonin-1A receptor activation in hippocampal CA1 neurons by 8-hydroxy-2-(di-normal-propylamino)tetralin, 5-methoxytryptamine and 5-hydroxytryptamine. *Neuroscience Letters*, 86, 72-76.

Yaldwyn J.C. (1963). Deep-sea prawns - their colour and luminescence. Australian Natural History, 14, 149-152.

Yamada J., Sugimoto Y., Yoshikawa T. & Horisaka K. (1997). Hyperglycemia induced by the 5-HT receptor agonist, 5-methoxytryptamine, in rats: involvement of the peripheral 5-HT_{2A} receptor. *European Journal of Pharmacology*, 323, 235-240.

Yasufuku-Takano J., Nakajima S. & Nakajima Y. (2008). Morphological and physiological properties of serotonergic neurons in dissociated cultures from the postnatal rat dorsal raphe nucleus. *Journal of Neuroscience Methods*, 167, 258-267.

Yen J., Prusak A.C., Caun M., Doall M., Brown J. et al. (2004). Signaling during Mating in the Pelagic Copepod, *Temora longicornis*. In L.Seuront & P.G.Strutton (Hrsg.), *Handbook of scaling methods in aquatic ecology measurement, analysis, simulation* (Seiten 149-159). Boca Raton, FL: CRC Press.

Young R.E. (1983). Oceanic bioluminescence: an overview of general functions. *Bulletin of Marine Science*, 33, 829-845.

Young R.E. & Mencher F.M. (1980). Bioluminescence in mesopelagic squid - diel color-change during counterillumination. *Science*, 208, 1286-1288.

Zimmer C. (1913). Untersuchungen über den inneren Bau von Euphausia superba Dana. Bibliotheca Zoologica Stuttgart, 67, 65-128.

Anhang - 285 -

6. Anhang

6.1 Danksagung

Zwei Menschen kann ich leider nicht mehr persönlich danken, da sie nicht mehr unter uns weilen: meiner Mama Angela und meinem Doktorvater Konrad Wiese. Ich hoffe, sie sind jetzt an einem besseren Ort und gucken mit einem gewissen Maß an Wohlwollen auf meine Arbeit und mich herunter...

Meinem Papa Gerd danke ich für die vielen technischen Tipps, die er mir gegeben hat, wenn ich beim Basteln an den Geräten mal nicht so richtig weiter wusste - und dafür, dass er bei drei Fahrten an den Gullmarfjord dabei war (und die Hütten bezahlt hat, im Herbst zelten ist auf die Dauer nichts mehr für meine alten Knochen)!

Meiner Schwester Anika danke ich dafür, dass sie mich nicht mehr bei jeder Spinne in ihrer Küche mitten in der Nacht aus dem Bett klingelt... Und dafür, dass sie meine Schwester ist, bedanke ich mich auch...

Martin, Markus, Bärbel, Maike, Guido, Mathias, Mufti, Maike, Bernhard, Christian, Inga, Boris, Peter, Georg, Christian, Julia, Birgit, Bernhard, Lars, Olli, Axel, Peter, Thomas (chronologisch; doppelte Namen stehen für unterschiedliche Individuen!): Ihr habt auch so euren Anteil daran, dass ich die Arbeit jetzt abgeben kann, und dafür danke ich euch... Maike und Christian besonders herzlich, immerhin "mussten" sie große Teile dieser Arbeit zur Korrektur lesen...

Christian, Daniela, Kristina, Natalie und Timo (rein alphabetisch) bedanken sich hoffentlich dafür, dass ich nach Abgabe der Arbeit ein wenig entspannter sein werde...

Den Mitarbeitern der Marinbiologischen Station Kristineberg danke ich für die freundliche Art und Weise, mit der sie ihre Gastwissenschaftler betüdeln...

Renate Walter und Dietmar Keyser danke ich sehr herzlich für die unverzichtbare Hilfe an REM und TEM...

Andreas Fleischer danke ich für die Bereitstellung des Dualkamerasystems, Maria A. Sosa für die Zusendung des Serotoninrezeptor-Antikörpers und Erich Buchner für die Zusendung des Synapsin-Antikörpers.

Meinen Gutachtern Fritz Buchholz und Ulf Bickmeyer danke ich sehr herzlich dafür, dass sie Gutachter dieser nicht ganz dünnen Arbeit sein wollten...

Den Teilnehmern der Disputation danke ich im voraus für die vielen anregenden und diskussionswürdigen Fragen und die Geduld bei dem kurzen black out (nein, ich denke nur grade sehr scharf nach)!

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, der Hansischen Universitätsstiftung, der EU, der Stadt Hamburg und der Universität Hamburg danke ich für die finanzielle Unterstützung – bzw. ich danke den deutschen Steuerzahler_innen für ihre Unterstützung dieser Grundlagenforschung!

Und last but not least danke ich der unbekannten Schönen aus dem Kir, die mich immer noch nicht anlächelt (eigentlich lächelt sie nie), aber immerhin kenne ich mittlerweile ihren Namen...

- 286 - Anhang

6.2 Chemikalienliste

Substanz	Lieferant	Bestellnummer	
Kalziumchlorid CaCl ₂	Merck	1023780500	
Calcium Ionophore A23187 (Calcimycin)	Sigma-Aldrich	C7522	
Diazepam	unbekannt	unbekannt	
Fluoxetin (Tablette)	unbekannt	unbekannt	
Forskolin	F6886	F6886	
Methiothepin maleate	Tocris	0582	
5-Methoxytryptamine hydrochloride	Sigma-Aldrich	M26054	
(±)-Octopamine hydrochloride	Sigma-Aldrich	O0250	
(±)-8-OH-DPAT [(±)-8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin]	Sigma-Aldrich	H8520	
Pimozide	Sigma-Aldrich	P1793	
(±)-Propranolol hydrochloride	Sigma-Aldrich	P0884	
Serotonin creatinine sulfate monohydrate	Sigma-Aldrich	H7752	
Serotonin hydrogen maleate	Sigma-Aldrich	H4511	
Tyramine hydrochloride	Sigma-Aldrich	T2879	

Anhang - 287 -

6.3 Berechnung von dreidimensionalen Koordinaten aus den Bildern zwei stereoskopisch orientierter Kameras

Zur Berechnung von Raumkoordinaten aus den zweidimensionalen Bildern von Kameras ist es nötig, dass sich die Achsen der Objektive an einem Raumpunkt kreuzen und das die Entfernung von den Sensoren bis zu dem Punkt bekannt ist, da sich aus den Winkeln die Parallaxenverschiebung ergibt. Zur genaueren Beschreibung der Methoden siehe z.B. Fleischer & Pflugradt (1977), Klimley & Brown (1983), O'Brien et al. (1986), für aktuelle Anwendungen Ballerini et al. (2008), Cavagna et al. (2008), Straw et al. (2011).

Die Eichung des Systems kann auf zweierlei Weise geschehen: Einerseits können die Sensorchipgrößen und die Eigenschaften der Objektive genau ausgemessen werden, was aber einen relativ großen Aufwand bedeutet. Es bringt aber den Vorteil mit sich, dass (theoretisch) der Messbereich sehr groß sein kann und die Kameras auch Bilder aus einem Areal liefern können, welches nicht zu vermessen ist (z.B. der Wasserbereich hinter dem Fenster eines Tiefseebootes). Ist der zu überwachende Raum begrenzt (v.a. in der Tiefe, z.B. durch eine Wand abgegrenzt), ist eine zweite Methode möglich: Im Volumen in dem sich die Tiere bewegen, wird eine Vermessung möglichst vieler Raumpunkte vorgenommen, indem ein Gerüst mit bekannten Maßen an den Sichtgrenzen endet. Aus diesen Werten werden dann die Koordinaten eines jeden Raumpunkts bestimmt. Eine Vermessung der Kameras ist damit nicht nötig. Ebenfalls fällt eine Verrechnung der Bildfeldverzerrung durch den Brechungsindex von Wasser weg. Daher wurde diese Methode für die Bestimmung der Schwimmtrajektorien des Krill in Aquarien verwendet. Für in der Tiefe unbegrenzte Aufnahmen von Krill im Freiwasser wäre diese Methode hingegen ungeeignet (ähnlich wie auch bei frei fliegenden Vogelschwärmen u.ä.).

6.3.1 Extraktion der Koordinateninformation aus dem Videorohmaterial

Mit dem älteren analogen Kamerasystem erhält man nach der Aufzeichnung ein Videosignal, welches die Kamerabilder der Kameras abwechselnd in den graden und ungraden Zeilen gespeichert hat. Nach Digitalisierung sollte man zunächst die beiden Einzelbilder getrennt voneinander extrahieren und in zwei verschiedene Unterverzeichnisse kopieren. Je nach Bildqualität (Kontrast) kann mittels verschiedener Algorithmen das interessierende Objekt automatisch gesucht werden oder aber manuell die Position bestimmt werden (indem z.B.

- 288 - Anhang

mittels ImageJ oder einem anderen Bildbearbeitungsprogramm die XY-Koordinaten Bild für Bild ausgemessen werden). Da ich nur einige Beispieltrajektorien berechnet habe, verwendete ich die zweite Methode. Die Koordinaten der Bilder werden dann in einer Tabelle eingetragen und abgespeichert.

6.3.2 Matlabskript zur Berechnung der 3D-Koordinaten aus den 2D-Datensätzen der zwei Kameras

Das folgende Skript kann verwendet werden, um aus den Videobildern von zwei Schwarzweißkameras die Position von Organismen in einem begrenzten Raum zu bestimmen. Es muß gegebenenfalls an die Videobildgröße und das Kamerasetup angepasst werden.

```
% Schritt 1: Einlesen der ASCII-Datei "TestName.wk1" mit den
x1y1- und x2y2- Koordinaten
A=wk1read('TestName');
[m1, n1] = size(A);
%Schritt 2: Verrechnen der Koordinaten miteinander.
% L= Länge, winkela1 ist Winkel Alpha1, und winela2 ist Winkel
Alpha2;
% Alpha1 und Alpha2 sind praktisch identisch
% xu1 ist die x-Kooridinate in Halbbild1, xu2 entsprechend die
Koordinate
% in Halbbild2. yu1 ist die y-Koordinate in Halbbild1.
[L,W] = size(A);
for i=1:L
L=200; % Abstand der Kameras zueinander
Winkela1=2.149; % Winkel von Kamera zu Achsenkreuzung
Winkela2=2.149; % Winkel von Kamera zu Achsenkreuzung
xu1=A(i,1);
xu2=A(i,2);
yu1=A(i,3);
           (L/((tan(winkela1+atan(xu1/765.08)))+(tan(xu1/765.08)))
Z(i,1) =
(winkela2+atan(xu2/765.08))));
x(i,1) = ((z(i,1)*(tan(winkela1+(atan(xu1/765.08))-(L/2)))));
y(i,1) =
              ((yu1/765.08) * (sqrt(((L/2) -
((x(i,1))^2)+((z(i,1))^2))));
xyz = [x(i,1) y(i,1) z(i,1)];
%Schritt 3: Abspeichern der Koordinaten
wk1write('xyzResult', xyz);
end;
```

- 289 - Anhang

$6.4\,\ddot{\mathrm{U}}$ bersicht über Aufzeichnungen von Biolumineszenz im Freiwasser des Gullmarfjord

Tiefe der Sonde	Datum	Start um	Stop um	Gesamte Dauer der Messung		Blitz- abstände	Blitze pro Stunde	Ø Abstand zwischen zwei	SD	Minimum Abstand zwischen zwei Blitzen [s]	Maximum Abstand zwischen zwei Blitzen
[m]				[s]	[s]	[n-1]		Blitzen [s]		.,	[s]
-60	10.9. 2002	19.30	7.20	43332,48	37.637,75	123	11,8	306	362	1,42	2.267,69
-60	11.09.	18.49	8.01	47691,98	44.800,56	134	10,8	334,3	526	2,28	3.080,74
-60	12.09.	19.20	8.15	47087,48	37.444,48	71	6,8	527,4	736,6	7,4	4.219,92
-60	13.9.	18.22	9.33	54642,48	33.906,85	591	62,7	57,4	147,8	0,43	1.790,82
-20	14.9.	18.30	8.41	47557,59	33.614,59	2.333	249,9	14,4	24	0,06	447,59
-20	14.9.	18.30	8.41	47557,59	28.962,80	1.929	239,8	15	37,3	0,05	420,82
-20	15.9.	18.30	7.34	47220,98	32.401,36	507	56,3	63,9	107	1,18	1.086,77
-75	9.10. 2003	17.38	8.07	52174,06	22.851,00	1.638	258,1	14	24	0,26	396,92
-75	9.10.	17.38	8.07	52174,06	18.278,18	2.682	528,2	6,8	8,7	0,14	128,2
-50	10.10.	17.15	7.14	46859,85	40.735,95	2.048	181	19,9	33,8	0,22	693,92
-50	10.10.	17.15	7.14	46859,85	40.379,17	4.506	401,7	9	17,2	0,48	551,3
-60	2.10. 2004	16.30	11.07	67158,99	38.177,62	124	11,7	307,9	612,8	0,07	3.548,24
-60	3.10.	13.00	16.25	69166,92	42.901,44	115	9,7	373,1	734,9	0,01	4.552,62
-60	4.10.	16.05	09.56	64249,91	44.419,78	1.360	110,2	32,7	46,5	0,46	412,6
-60	4.10.	16.05	09.56	64249,91	43.322,81	951	79	45,6	93,9	0,2	880,3
-65	4.10.	16.05	09.56	64249,91	38.978,36	518	47,8	75,2	179,5	0,3	2.923,1
-60	5.10.	16.50	09.50	61177,64	52.440,32	1.280	87,9	41	169,5	0,44	3.918,36
-65	5.10.	16.50	09.50	61177,64	50.552,79	52	3,7	972,2	1.404	1,15	8.791,75
-60	5.10.	16.50	09.50	61177,64	41.609,92	281	24,3	148,1	399,2	0,09	4.722,15
-60	5.10.	16.50	09.50	61177,64	39.414,73	84	7,7	469,2	1.338,	0,66	10.865,34
-60	6.10.	9.55	17.00	63810,24	47.728,18	4.474	337,5	10,7	14,4	0,02	271,11
-65	6.10.	9.55	17.00	63810,24	49.249,82	156	11,4	315,7	569,8	0,63	4.861,68
-60	6.10.	9.55	17.00	63810,24	43.735,91	2.199	181	19,9	23,5	0,26	237,82
-60	6.10.	9.55	17.00	63810,24	0,00		39,1	92,2	112,5	0,5	764,09
-60	7.10.	16.35	21.20	17259,56	10.310,18	201	70,2	51,3	66,6	0,58	507,46
-65	7.10.	16.35	21.20	17259,56	9.846,29	83	30,3	118,6	191,8	0,95	1.188,86
-60	7.10.	16.35	21.20	17259,56	7.834,19	79	36,3	99,2	163	0,15	896,02
-60	7.10.	16.35	21.20	17259,56	8.383,52	109	46,8	76,9	109	0,77	634,65
-60	7.10.	21.25	10.34	47349,35	36.155,74	981	97,7	36,9	151,3	0,06	3.008,85
-65	7.10.	21.25	10.34	47349,35	46.196,50	106	8,3	435,8	1.045,	0,02	5.123
-60	7.10.	21.25	10.34	47349,35	31.944,11	465	52,4	68,7	210,7	0,54	233,14
-60	7.10.	21.25	10.34	47349,35	34.980,15	334	34,4	104,7	217,7	0,64	2.327,32
-60	8.10.	19.06	10.55	56824,32	51.435,15	634	44,4	81,1	360,8	0,6	4.832,56
-65	8.10.	19.06	10.55	56824,32	55.410,66	43	2,8	1.288,6	2.502,	0,76	120.678,67
-60	8.10.	19.06	10.55	56824,32	50.979,77	258	18,2	197,6	384,3	0,43	3.128,72
-60	8.10.	19.06	10.55	56824,32	55.544,04	188	12,2	295,4	557,7	0,49	4.572,08
-50	10.4.2005	20.25	5.33	32800,93	14.898,64	5.013	1.211,3	3	3,7	0,06	59,34
-50	10.4.	20.25	5.33	32800,93	31.729,44	3.879	440,1	8,2	12,7	0,14	203,97
-70	10.4.	20.25	5.33	32800,93	32.739,41	4.048	445,1	8,1	18,3	0,15	308,11
-30	13.4.	13.00	08.32	70228,07	21.427,15	529	88,9	40,5	66,5	0,12	513,04
-30	14.4.	20.42	06.56	36724,49	23.689,33	3.473	527,8	6,8	30,7	0,08	776,16
-30	15.4.	20.32	07.06	37905,59	23.631,98	11.829	1.802	2	2,8	0,02	49,64
-30	16.4.	20.16	06.55	38188,59	21.993,42	10.477	1.714,9	2,1	3,6	0,05	102,74
-50	17.4.	20.15	7.00	38646,55	25.710,88	2.104	294,6	12,2	17,8	0,08	188,44
Summen bzw. Durchschnittswerte:				1.551.335,50	73.436	170,4	21,1	151,3	0,01	12.067,67	