

7 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Arbeit wurden organo-geochemische Methoden angewandt, um vielfältige Fragestellungen zur Chemotaxonomie, Phylogenie und Chemoökologie rezenter Kieselschwämme (Klassen Demospongiae und Hexactinellida) im Vergleich mit der Klasse Calcarea zu beleuchten. Diese Verfahren liefern anhand von Lipidbestandteilen (molekulare Marker; Biomarker) Aussagen, die mit Hilfe anderer Analysen nur unzureichend oder gar nicht zu erzielen sind. Zudem bilden die Lipiduntersuchungen rezenter Organismen die Basis zur Definition sog. 'Chemofossilien', die der Charakterisierung fossiler Lebensräume (Faunenzusammensetzung, Lebensbedingungen, etc.) dienen.

Schwämme (Porifera) wurden als Modellorganismen ausgewählt, da ihr erdgeschichtliches Vorkommen weit in das Proterozoikum reicht und sie als älteste Metazoen überhaupt gelten. Mehr noch, ihr 'Bauplan' hat sich seit ihrer Entstehung nicht grundlegend geändert, so dass Untersuchungen an rezenten Formen dieser sessilen Invertebraten zu Einblicken in die Zellorganisation ursprünglichen vielzelligen Lebens führen. Aus diesem Grund und insbesondere der nachgewiesenen Potenz der Porifera zur Synthese pharmakologisch interessanter Naturstoffe sind sie seit langem Studienobjekt chemisch-orientierter Arbeitsgruppen. Dennoch beschränkten sich die bisher durchgeführten Untersuchungen – aufgrund deren großer Verbreitung – nahezu ausschließlich auf tropische Vertreter der Demospongiae und Calcarea. Dass dieser Studie zugrunde liegende Probenmaterial beinhaltet eine repräsentative Zahl an hexactinelliden Schwammarten ($n = 23$) und Kaltwasserdemospongien ($n = 32$), die derart umfassend chemisch bislang nicht untersucht worden sind. Somit schließen die erzielten Ergebnisse eine entscheidende Lücke der bisherigen Datenlage, um u.a. die kontrovers diskutierten phylogenetischen Zusammenhänge der drei rezenten Schwammklassen hinreichend beschreiben, aber auch, um eine Abschätzung borealer Lebensräume als Quelle von Naturstoffen vornehmen zu können.

Die Daten aus der in dieser Arbeit erstmalig durchgeführten lipidchemischen Analyse hexactinellider Schwämme wurden genutzt, um sie in die bestehenden widersprüchlichen Hypothesen zur Phylogenie der Porifera zu integrieren. So fassen einige Autoren, aus Gründen der Zellstruktur, die Demospongiae mit den Calcarea (Pinacophora bzw. Cellularia) – unter Ausschluss der Hexactinellida (Symplasma) – zusammen. Andere gliedern dagegen die Calcarea aufgrund ihrer Skelettchemie und der Larvalentwicklung von den Kieselschwämmen (Demospongiae und Hexactinellida) ab. Die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse demonstrieren eindeutig eine enge verwandtschaftliche Beziehung von Hexactinellida und Demospongiae. So synthetisieren alle untersuchten Vertreter der Hexactinellida, unabhängig von Fundort und Lebensraum, langkettige polyungesättigte Fettsäuren, die strukturell denen der Demospongiae entsprechen (LCFA $\Delta^{5,9}$; sog. 'demospongiac acids'). Dagegen fehlen diese Verbindungen in den Calcarea. Die Synthese dieser spezifischen Biomarker setzt ein differenziertes Fettsäure-Enzymsystem voraus, das offensichtlich in beiden Klassen der Kieselschwämme aktiv ist. Dennoch, trotz deutlicher Übereinstimmungen in der Grundstruktur der Lipidsäuren wurden auch Unterschiede innerhalb der Kieselschwämme nachgewiesen. So werden die Fettsäuren nahezu aller hexactinelliden Schwämme von Verbindungen einer Kettenlänge dominiert und auch bezüglich Verzweigungen (endständig und mittkettig) und Substitutionen (Brom, α -Methoxy, α -Hydroxy) wurde bei den Demospongiae eine deutlich größere Variabilität beobachtet.

bachtet. Vergleichbare grundsätzliche Divergenzen zwischen beiden Klassen sind bei der Untersuchung der Steroidinventare festgestellt worden. Diesbezüglich zeigte sich, dass auch innerhalb dieser Verbindungsklasse bei den Demospongiae strukturelle Abweichungen vom Cholesterolgrundgerüst auftreten, die in den Hexactinellida nicht nachgewiesen werden konnten. Zurückgeführt wurden diese Differenzen auf verschiedene Biosyntheseprozesse in den beiden Gruppen. Offensichtlich sind Demospongiae zur progressiveren Synthese von Sterolen in der Lage (*de novo*), hingegen nutzen die Hexactinellida eher Steroide aus der Nahrung, um diese in die eigenen Lipide einzulagern. Abschließend wurde so, unter Einbeziehung lipidchemischer Daten, ein phylogenetischer Versuch unternommen, der eine enge Beziehung zwischen Hexactinellida und Demospongiae vorsieht, in der die Hexactinellida, aufgrund ihres konservativen Lipidmetabolismus, die ursprünglichere Position einnehmen.

Zusätzlich zur Determinierung phylogenetischer Grundzüge innerhalb des Phylums Porifera wurden mit Hilfe von Biomarkern chemotaxonomische Merkmale auf höherem verwandtschaftlichen Level erarbeitet. Hierzu zählen beispielsweise innerhalb der Demospongien seltene langkettige bromierte Fettsäuren (6-Br-LCFA $\Delta^{5,9}$) in den Ordnungen Halichondrida und Haplosclerida, stickstoffhaltige Sesquiterpenoide in den Halichondrida, Diterpenfurane in den Dendroceratida, Cyclopropylsterole in den Haplosclerida sowie Steroidketone (3-Stanone) und Triacenta-5,9,21-triensäure ($30\Delta^{5,9,21}$) in Vertretern der Klasse Hexactinellida. Im Zuge dieser detaillierten Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass, entgegen gegensätzlicher Annahmen, Kaltwasserporifera eine Quelle komplexer, pharmakologisch relevanter Naturstoffe sind. Diese Ergebnisse bilden eine wichtige Basis weiter gehender naturstoffbezogener Studien und steigern darüber hinaus die Bedeutung der weit verbreiteten Kaltwasserhabitats innerhalb dieses Zweiges der Forschung.

Der zweite Teil der Arbeit fokussiert auf chemoökologische Funktionen spezieller Zellmembrankomponenten in kalten Habitats und auf andere biosynthetische Zusammenhänge verschiedener Verbindungsklassen in einem weit verbreiteten Schwamm des Nordostatlantiks (*Phakellia ventilabrum*).

Durch den Vergleich mit tropischen Vertretern wurde gezeigt, dass Schwämme, vergleichbar den Mikroorganismen, strukturelle Modifikationen ihrer Fettsäuren nutzen, um eine ausreichende Permeabilität und Fluidität ihrer Zellmembranen zu gewährleisten. Als ungewöhnliches diesbezügliches Merkmal wurde die Bromierung vorgeschlagen, die offensichtlich überproportional häufig von Kaltwasserdemospongien durchgeführt wird. Außerdem wurden mehrere Kriterien wie endständige und mittkettige Methylverzweigungen und Polyunsättigungen in einem Faktor integriert, der die lipidstrukturellen Unterschiede zwischen tropischen und borealen Porifera zusammenfasst.

Des Weiteren wurden unterschiedliche Ansätze konzipiert und durchgeführt, die die Analyse stabiler Kohlenstoffisotopenverhältnisse ($\delta^{13}\text{C}$ -Werte) nutzen, um biosynthetische Abläufe in einem Schwamm aufzuklären zu können. Es wurden natürlich auftretende Fraktionierungen nachgewiesen und zur Charakterisierung von Edukt-Produkt-Beziehungen in einem Schwamm herangezogen. Dieses Verfahren wurde am Beispiel zweier Verbindungsklassen (bromierte Fettsäuren, Sesquiterpenoide) vollzogen, und so konnten wertvolle Informationen zu den ablaufenden Mechanismen – und damit zum Enzymsystem – in dem Organismus gewonnen werden. Zudem haben die Ergebnisse gezeigt, dass die vergleichsweise einfache Analyse

von $\delta^{13}\text{C}$ -Werten spezifischer Komponenten in rezenten Organismen ein nützliches Werkzeug bei entsprechenden Fragestellungen ist. Ein großes Interesse jüngerer Arbeiten liegt auf der Assoziation von Schwämmen mit internen Mikroorganismen. Insbesondere die Domäne der Archaea rückt diesbezüglich immer mehr in den Vordergrund, wenn auch die Art der Beziehung immer noch unklar ist. Aus diesem Grund wurde einem Schwamm, während eines *in vitro*-Versuches, ^{13}C -markiertes Archaeol (*sn*-2,3-di-*O*-Phytanylglycerol) zugeführt, um einen eventuellen Zusammenhang zu den in einigen Schwämmen weit verbreiteten isoprenoidalen Fettsäuren (insbesondere Phytansäure) zu überprüfen. Anhand von $\delta^{13}\text{C}$ -Analysen wurde gezeigt, dass in dem untersuchten Schwamm ein Eintrag der ^{13}C -markierten, ethergebundenen Kohlenstoffkette in die estergebundene Phytansäure stattgefunden hat. Deshalb wurde Phytansäure in Schwämmen als möglicher Biomarker für die Assoziation von Archaea mit Schwämmen vorgeschlagen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit tragen zum grundsätzlichen Verständnis der ältesten Metazoen – den Porifera – bei. Es konnten spezifische Verbindungen (Biomarker) nachgewiesen und auf bestimmte taxonomische Gruppen eingegrenzt werden, die in zukünftigen Studien eine Zuordnung diagenetischer Abbauprodukte (Chemofossilien) zum Produzenten, zum Habitat sowie zu einer Archaea-Invertebraten-Assoziation zulassen. Des Weiteren wurden wichtige Informationen gewonnen, die für weiter gehende Naturstoffuntersuchungen an Kaltwasserschwämmen fundamental sind.