

**Physiologische Adaptationsprozesse von Scyphozoa - Lebensstadien  
gegenüber physikalischen und biologischen Parametern auf der Basis von  
Cnidom- und Venomanalysen**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktorin der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

vorgelegt  
im Fachbereich Biologie  
der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften  
der Universität Hamburg

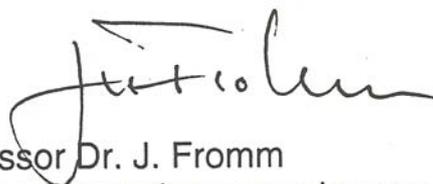
von  
Diplom-Biologin  
**Annika Wiebring**

Hamburg, Juli 2012



Genehmigt vom Fachbereich Biologie  
der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften  
an der Universität Hamburg  
auf Antrag von Priv.-Doz. Dr. G. JARMS  
Weiterer Gutachter der Dissertation:  
Professor Dr. A. PRANGE  
Tag der Disputation: 25. Mai 2012

Hamburg, den 10. Mai 2012



Professor Dr. J. Fromm  
Vorsitzender des Promotionsausschusses  
Biologie



## Kurzzusammenfassung

Quallen spielen als Prädatoren von beispielsweise Zoo- und Ichthyoplankton eine große Rolle in marinen Nahrungsnetzen. Ein immer häufiger beobachtetes Phänomen ist das Massenaufreten von Medusen.

Quallen gehören zu den Nesseltieren und bilden in ihren Nesselzellen spezielle Zellorganellen, die Nesselkapseln, welche zum Beutefang und zur Verteidigung dienen. Im Gewebe der verschiedenen Lebensstadien der Cnidaria sind unterschiedliche Kapseltypen enthalten. Es wird diskutiert, ob diese Kapseltypen unterschiedliche Aufgaben haben.

In bisherigen Studien wurden die Nesselkapseln verschiedener Cnidaria-Spezies beschrieben. Der Einfluss verschiedener biotischer und abiotischer Parameter auf die Verteilung der Kapseltypen im Gewebe und auf ihre Morphologie wurde bisher jedoch nur unzureichend untersucht. Eine Analyse der Inhaltsstoffe der einzelnen Nematocystentypen erfolgte bislang nicht.

In dieser Arbeit wurden bei *Cyanea capillata* Änderungen in der Größe, der Verteilung und der Proteininhaltsstoffe der Nesselkapseln im Zusammenhang mit variierendem Futter und unterschiedlicher Salinität untersucht. Die morphologischen Daten wurden lichtmikroskopisch erfasst. Die Separierung der Nesselkapseltypen erfolgte mit Hilfe einer neuen mikromanipulativen Methode, dem LMPC, an die sich die massenspektrometrische Untersuchung mit MALDI-TOF anschloss.

Die Verteilung der Nesselkapseln im Gewebe der Polypen, Ephyren und Medusen war klar an den jeweiligen Beutefangmodus der Lebensstadien angepasst. Für den Beutefang wichtige Körperregionen waren mit einer höheren Anzahl an Nesselkapseln ausgestattet als die nicht oder nur zu einem geringeren Umfang am Beutefang beteiligten Körperoberflächen. Außerdem war die Größe der Nesselkapseln an die Körpergröße der Tiere gekoppelt. Die Hälterungssalinität und Menge bzw. die Art des Futters hatten einen indirekten Einfluss auf die Verteilung und Größe der Nesselkapseln.

Die Analyse der Nematocysten zeigte einen Einfluss von Salinität und Futter auf deren Proteininhaltsstoffe. Diese zeigten eine komplexere Zusammensetzung sowohl bei Polypen aus einer höheren Hälterungssalinität als auch in den oft gefütterten Tieren. Bei Medusen zeigte sich eine größere Komplexität der Proteininhaltsstoffe mit größeren Schirmdurchmessern und bei zunehmender Salinität.

Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten auf eine Anpassung der Nesselkapseln an den Beutefangmodus verschiedener Lebensstadien von *C. capillata* hin. Es wurde außerdem der Zusammenhang zwischen Körpergröße der Tiere und Nesselkapselgröße deutlich. Erstmals wurde die Proteinzusammensetzung verschiedener Kapseltypen miteinander verglichen und ein Einfluss unterschiedlicher Umweltparameter wie Salinität und Beute auf ihn festgestellt.

## **Abstract**

Jellyfish as predators of for instance zoo- and ichthyoplankton play a large role in marine food webs. Mass occurrences of medusae are more frequently observed phenomenon.

Jellyfish belong to the Cnidaria and produce special cell organelles, the nematocysts, in their stinging cells, which serve as tool for prey capture and defence. Cnidarian tissues contain different types of nematocysts and it is discussed if these capsule types have different functions.

Previous studies describe the nematocysts of different Cnidaria species. The influence of biotic and abiotic parameters on the distribution of nematocyst types in tissues and their morphology has been insufficiently investigated. The analysis of the protein content of distinct capsule types has not been carried out yet.

In this work, the size, distribution, and protein contents of nematocysts from *Cyanea capillata* were investigated under varying food and salinity conditions. The morphological data of the nematocysts were determined microscopically. The different capsule types were separated with a novel micromanipulative method, LMPC. Subsequently, the mass spectrometric analysis of the nematocyst content was conducted with MALDI-TOF.

The nematocyst distribution in the tissues of polyps, ephyrae und medusae is adapted to the modes of the prey capture in the different life stages. Body regions which are important for prey capture were equipped with more nematocysts than surfaces which were not or to a lower proportion involved in prey capture. Furthermore, the size of the capsules was linked to the body size. The cultivation salinity and the food amount and type had an indirect influence on the nematocyst distribution and size.

The analysis of capsules showed the influence of salinity and food on the protein constituents. These showed a more complex composition for polyps cultivated in higher salinity as well as for more frequently fed polyps. For medusae a higher complexity of their protein constituents was observed for larger umbrella diameters and for increasing cultivation salinities.

The results of this work suggest an adaptation of the nematocysts to the different modes of prey capture in the life stages of *C. capillata*. Furthermore, it was found that the nematocyst sizes are correlated highly with animal size. For the first time, the protein constituents of different nematocyst types were compared and an influence of different environmental parameters like salinity and prey on the capsules was observed.

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Aufgabenstellung	1
1.2 Stand der Wissenschaft zum Untersuchungsobjekt	1
1.2.1 Biologie und Lebensweise von <i>Cyanea capillata</i>	2
1.2.2 Bau und Funktion der Nesselzellen und -kapseln	4
1.2.3 Das Cnidom von <i>Cyanea capillata</i>	7
1.2.4 Wirkung und Struktur der Toxine von <i>Cyanea capillata</i>	10
1.3 Theoretische Grundlagen der angewandten Methoden	11
1.3.1 Theoretische Grundlagen von LMPC	12
1.3.2 Theoretische Grundlagen von MALDI-TOF-MS	13
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>15</b>
2.1 Herkunft und Hälterung der Versuchstiere	15
2.1.1 Herkunft und Hälterung der Polypen	15
2.1.2 Herkunft und Hälterung der Ephyren	17
2.1.3 Herkunft der Medusen	17
2.1.4 Variation biologischer und physikalischer Parameter	18
2.2 Methoden zur Nematocystenuntersuchung hinsichtlich Vorkommen und Morphologie	20
2.2.1 Herstellung von Preparaten für die lichtmikroskopischen Analysen	20
2.2.2 Messgrößen bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der Nematocysten	21
2.2.3 Vergleiche der Untersuchungsgruppen	22
2.3 Methoden zur Untersuchung des Kapselinhaltes	25
2.3.1 Herstellung von Kapselsuspensionen	25
2.3.2 Separierung von Nematocysten (LMPC)	26
2.3.3 Untersuchung des Proteininhaltes der Nematocysten mit MALDI-TOF-MS	29
2.4 Statistische Methoden	31
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>33</b>
3.1 Identifizierung der verschiedenen Nematocystentypen	33
3.2 Lichtmikroskopische Untersuchungen der Nematocysten	34
3.2.1 Nematocysten in verschiedenen Körperteilen	34
3.2.2 Verteilung und Größe der Nematocysten in jungen und alten Ephyren	43
3.2.3 Änderungen der Nematocysten mit dem Schirmdurchmesser	47
3.2.4 Einfluss biologischer und physikalischer Parameter auf die Ausprägung von Nematocysten	49

---

3.2.5 Lebensstadien übergreifender Vergleich der Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen	56
3.2.6 Volumina der Nematocysten verschiedener Lebensstadien	58
3.3 Protein-Inhalt der Nematocysten	59
3.3.1 Massenspektren des Nematocysteninhalts der Polypen	62
3.3.2 Massenspektren des Nematocysteninhalts der Medusen	65
3.3.3 Vergleich der Massenspektren von Nematocysten aus Polypen und Medusen	67
<b>4 Diskussion</b>	<b>69</b>
4.1 Identifizierung der Nesselkapseltypen	69
4.2 Lichtmikroskopische Untersuchungen	69
4.2.1 Nematocysten der Polypen	69
4.2.2 Nematocysten der Ephyren	71
4.2.3 Nematocysten in Medusen	72
4.2.4 Vergleich verschiedener Entwicklungsstadien von Ephyren	74
4.2.5 Vergleich von Medusen unterschiedlichen Schirmdurchmessers	74
4.2.6 Variation biologischer und physikalischer Parameter	76
4.2.7 Interstadienvergleich - Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen in funktionell gleichen Körperteilen	79
4.2.8 Zusammenfassung der lichtmikroskopischen Nematocysten-Untersuchungen	80
4.3 Volumenvergleich	81
4.4 Proteininhalt der Nematocysten	82
4.4.1 Proteininhalt der Nematocysten von Polypen	84
4.4.2 Proteininhalt der Nematocysten von Medusen	85
4.4.3 Stadienübergreifender Vergleich des Proteininhaltes	86
4.4.4 Wiederkehrende Molekülmassen	87
<b>5 Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>89</b>
<b>Anhang</b>	<b>I</b>

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Meduse von <i>Cyanea capillata</i> .....	2
<b>Abbildung 2:</b> Metagenetischer Lebenszyklus von <i>Cyanea capillata</i> .....	3
<b>Abbildung 3:</b> Schematischer Aufbau der Nematocyte (A) und einer Nematocyste (Typ Stenotele) (B) aus: Werner (1993), S. 25. ....	5
<b>Abbildung 4:</b> Polyglutamat, rot: deprotonierte Carboxylgruppen. ....	6
<b>Abbildung 5:</b> Nesselfaden einer entladenen Nematocyste von <i>Rhopilema nomadica</i> mit durch Immunofluoreszenzfärbung sichtbar gemachten Toxinen an den Stacheln. aus: Lotan et al. (1996). ....	7
<b>Abbildung 6:</b> Schematische Darstellung von LMPC: Katapultieren des ausgeschnittenen Materials in einen Auffangtropfen mit Hilfe eines Laserimpulses. ....	13
<b>Abbildung 7:</b> Schematische Darstellung von MALDI-TOF-MS, oben: Teilschritte des MALDI-TOF-MS Prozesses, rot umrandet: Detaildarstellung der Ionenerzeugung in der Ionenquelle (nach Lottspeich, S. 329 und 332). ....	14
<b>Abbildung 8:</b> wenige Tage alte Polypen von <i>Cyanea capillata</i> . ....	16
<b>Abbildung 9:</b> Vermessung von (A) Polypen und (B) Ephyren von <i>Cyanea capillata</i> vor der Präparation und der Fixierung in Glyceringelatine. (A) Vermessung des Polypenkörpers im Bereich unterhalb des Tentakelkranzes (roter Strich). (B) Vermessung der Ephyren. roter Strich: Abstand von einer Randlappenspitze zur gegenüber liegenden (Gesamtdurchmesser), blauer Strich: Abstand zweier gegenüberliegenden Rhopalien, grüner Strich: Adradialabstand, Rho: Rhopalium. ....	21
<b>Abbildung 10:</b> Pellet einer Nematocystensuspension nach Zentrifugation. ....	27
<b>Abbildung 11:</b> Versuchsaufbau LMPC: (A) Gesamtübersicht über das Mikroskop und (B) Detailaufnahme des Versuchsaufbaus. ....	28
<b>Abbildung 12:</b> Glastarget für MALDI-TOF-MS Analyse: (A) MTP Slide Adapter II mit einem Glastarget und (B) separates Glastarget mit kristallisierten Proben- und Matrixspots. geschweifte Klammer: 7 Probespots einer Probe, roter Kreis: Matrixspot. ....	31
<b>Abbildung 13:</b> Nematocystentypen in Gewebe von Medusen: Eurytele (A), A-Isorhize (B), a-Isorhize (C), O-Isorhize (D). Op: Operculum, S: Schaft des Nesselfadens, Maßstab: 10 µm. ....	33
<b>Abbildung 14:</b> Nematocysten im Gewebe von Polypen (Hälterungssalinität 35, 10 °C): (A) Tentakel mit Eurytelen und a-Isorhizen, Maßstab 20 µm. (B) Restpolyp mit Eurytelen, Eu = Euytelen, a = a-Isorhizen, Maßstab 10 µm. ....	34
<b>Abbildung 15:</b> Nematocysten im Gewebe von Ephyren (maximal eine Woche alt): (A) Randlappenspitzen mit Eurytelen und a-Isorhizen, Maßstab 50 µm. (B) Restephyre mit a-Isorhizen, Eu = Euytelen, a = a-Isorhizen, schwarze Kreise: a-Isorhizen, Maßstab 50 µm. ....	36
<b>Abbildung 16:</b> Kapselbatterien in den Tentakeln von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm): (A) (DIC) Kapselbatterie im distalen Bereich eines Tentakels, die Nematocysten sind in Aufsicht getroffen, (B) (Durchlicht) Kapselbatterie im Bereich der Tentakelbasis, Al =A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Euytelen, O = O-Isorhizen, Maßstab 20 µm. ....	38
<b>Abbildung 17:</b> Nematocysten in den Mundlappen von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm): (A) (Durchlicht) Randbereich des Mundlappens mit hoher a-Isorhizen-Dichte, (B) (DIC) Kapselbatterie mit A- und O-Isorhizen im mittleren Bereich des Mundlappengewebes, A = A-Isorhizen, O = O-Isorhizen, Maßstab 20 µm. ....	39
<b>Abbildung 18:</b> Eurytelen in den Spitzen der Gastralfilamente von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm), Eu = Eurytelen, Maßstab 40 µm. ....	40
<b>Abbildung 19:</b> O-Isorhizen im Randlappengewebe von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm), schwarzer Kreis: Kapselbatterie, Maßstab 60 µm. ....	40

<b>Abbildung 20:</b> O-Isorhizen in der Exumbrella von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm), schwarze Kreise: O-Isorhizen, Maßstab 100 µm.....	41
<b>Abbildung 21:</b> Vier Wochen alte Meta-Ephyre von <i>Cyanea capillata</i> . G: Gastralfilamente, M: Mundrohr/Mundlappen, T: Tentakel, Maßstab: 2 mm. ....	43
<b>Abbildung 22:</b> Randlappengewebe von Ephyren bzw. Meta-Ephyren: (A) Gewebe einer jungen Ephyre (max. eine Woche alt) mit hoher Dichte an a-Isorhizen, (B) Gewebe einer Meta-Ephyre (ca. vier Wochen alt) mit wenigen a-Isorhizen in der Randlappenspitze, Maßstab: 50 µm. ....	45
<b>Abbildung 23:</b> Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von kleineren Nordseemedusen (neun Tiere, Schirmdurchmesser 10-20 cm) im Vergleich zu einer großen Nordseemeduse (Schirmdurchmesser 55 cm). Die rote Beschriftung der Abszisse bezieht sich auf die mittelgroßen Medusen, die blaue auf die große Meduse. Die roten Kreuze innerhalb der grauen Rechtecke markieren die Mediane, obere und untere Ränder der grauen Rechtecke das Perzentil 25 % bzw. 75 %, das obere und untere Ende der Fehlerbalken das Perzentil 5 % bzw. 95 %, die roten Punkte Minimal- und Maximalwert. A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, B = Nesselkapselbatterie, Eu = Eurytelen, GF = Gastralfilament, ML = Mundlappen, O = O-Isorhizen, Q = Zählquadrat. * $P < 0,05$ .....	48
<b>Abbildung 24:</b> Fließschema der für die massenspektrometrische Proteinanalyse erfolgten Arbeitsschritte. ....	60
<b>Abbildung 25:</b> Nematocysten zwischen Matrixkristallen auf einem Glastarget. (A) intakte A-Isorhize, Maßstab 20 µm. (B) entladene Kapsel, Maßstab 50 µm. Nf = Nesselkapsel, Nk = Nesselkapsel.....	61
<b>Abbildung 26:</b> Massenspektrum von Eurytelen aus Polypen der Kontrollgruppe (Fütterung mit <i>Artemia</i> -Nauplien alle zwei Wochen). Die beiden Bereiche mit höherer Massendichte sind mit roten Rechtecken umrandet.....	64
<b>Abbildung 27:</b> Massenspektrum von Eurytelen aus Polypen des Fütterungsexperimentes (oft und viel mit <i>Artemia</i> -Nauplien gefüttert). Die beiden Bereiche mit höherer Massendichte sind mit roten Rechtecken umrandet. ....	64
<b>Abbildung 28:</b> Massenspektrum von A-Isorhizen aus Nordseemedusen (A) und Ostseemedusen (B).....	67

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Lichtmikroskopisch untersuchte Präparate von Medusen, Polypen und Ephyren. Es sind Sammeldatum und -ort sowie die Hälterungssalinität bzw. die Salinität am Sammelort und die Anzahl der lichtmikroskopisch untersuchten Präparate angegeben.....	17
<b>Tabelle 2:</b> Versuchsgruppen beim Fütterungsexperiment mit Polypen. Es ergaben sich durch die Kombination von unterschiedlichen Fütterungsfrequenzen und Futtermengen vier Fütterungsuntergruppen (o/v, o/w, s/v, s/w), o = oft, s = selten, v = viel, w = wenig .....	18
<b>Tabelle 3:</b> Übersicht über die im Fütterungsexperiment lichtmikroskopisch untersuchten Meta-Ephyren-Dauerpräparate. Es sind die Bezeichnungen angegeben, die im folgenden Text für die verschiedenen Proben verwendet werden. ....	19
<b>Tabelle 4:</b> Übersicht über Art der Auszählung der verschiedenen Nematocystentypen im Gewebe der Medusen, Polypen und Ephyren. ....	22
<b>Tabelle 5:</b> Übersicht über die in den Lebensstadien übergreifenden Untersuchungen der Nematocystengrößen und -verteilungen vorgenommenen Vergleiche. ....	23
<b>Tabelle 6:</b> lichtmikroskopisch untersuchte Körperteile in verschiedenen Lebensstadien von <i>Cyanea capillata</i> . ....	24
<b>Tabelle 7:</b> Massenspektrometrische Analyse der Inhaltsstoffe mit MALDI-TOF. Untersuchte Gruppen innerhalb des Lebensstadiums Polyp. ....	29
<b>Tabelle 8:</b> Massenspektrometrische Analyse der Inhaltsstoffe mit MALDI-TOF. Untersuchte Gruppen innerhalb des Lebensstadiums Meduse. ....	30
<b>Tabelle 9:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von Polypen. a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. * $P < 0,05$ . ....	35
<b>Tabelle 10:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Polypen (Hälterungssalinität 35). a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen * $P < 0,05$ . ....	35
<b>Tabelle 11:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten pro Zählquadrat in verschiedenen Körperteilen von Ephyren (eine Woche alt, Salinität 35). a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. * $P < 0,05$ . ....	37
<b>Tabelle 12:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen und Breiten angegeben in $\mu\text{m}$ sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse von Nematocysten im Gewebe von eine Woche alten Ephyren (Hälterungssalinität 35). A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. * $P < 0,05$ . ....	37
<b>Tabelle 13:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von Medusen. GF = Gastralfilamente, n = Anzahl, RL = Randleppen, TB = Tentakelbasis. * $P < 0,05$ . ....	38
<b>Tabelle 14:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von neun untersuchten Nordseemedusen (Schirmdurchmesser 10-20 cm) und einer großen Nordseemeduse (Schirmdurchmesser 55 cm). * $P < 0,05$ . ....	42
<b>Tabelle 15:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von jungen (max. eine Woche alt) und älteren (zwei bis drei Wochen alt) Ephyren sowie Meta-Ephyren (vier Wochen alt), A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. * $P < 0,05$ . ....	44
<b>Tabelle 16:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von jüngeren Ephyren (maximal eine Woche alt) im Vergleich zu älteren Ephyren (zwei bis drei Wochen alt) und Meta-Ephyren (vier Wochen alt). * $P < 0,05$ . ....	46
<b>Tabelle 17:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Polypen nach einem Fütterungsversuch. Kontrollpolypen (KoP 35); P35 o/v: oft und viel gefüttert; P35 o/w: oft und wenig gefüttert; P35 s/v: selten und viel gefüttert;	

P35 s/w: selten und wenig gefüttert. a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen, * $P < 0,05$ .....	50
<b>Tabelle 18:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Polypen. Kontrollpolypen (KoP 35) P35 o/v: oft und viel gefüttert; P35 o/w: oft und wenig gefüttert; P35 s/v: selten und viel gefüttert; P35 s/w: selten und wenig gefüttert. * $P < 0,05$ .....	50
<b>Tabelle 19:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Meta-Ephyren nach einem Fütterungsversuch. MetaE-Gr.Art.: Meta-Ephyren, die mit <i>Artemia</i> -Nauplien gefüttert worden waren, MetaE-Gr.Jelly.: Meta-Ephyren, die mit <i>Aurelia aurita</i> -Ephyren gefüttert worden waren. A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, O = O-Isorhizen. * $P < 0,05$ .....	51
<b>Tabelle 20:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Meta-Ephyren nach einem Fütterungsversuch mit verschiedenen Futtersorten. MetaE-Gr.Art.: Meta-Ephyren, die mit <i>Artemia</i> -Nauplien gefüttert worden waren, MetaE-Gr.Jelly.: Meta-Ephyren, die mit <i>Aurelia aurita</i> -Ephyren gefüttert worden waren. ....	52
<b>Tabelle 21:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Polypen. KoP 35: Polypen aus Wasser der Salinität 35, KoP 20: Polypen aus Wasser der Salinität 20, KoP 15: Polypen aus Wasser der Salinität 15. a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. * $P < 0,05$ .....	53
<b>Tabelle 22:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Polypen aus drei unterschiedlichen Salinitäten. KoP 35: Polypen aus Wasser der Salinität 35, KoP 20: Polypen aus Wasser der Salinität 20, KoP 15: Polypen aus Wasser der Salinität 15. * $P < 0,05$ .....	54
<b>Tabelle 23:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Ephyren aus Salinität 15 (Ephy15) und Ephyren aus Salinität 35 (Ephy35). A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. * $P < 0,05$ .....	55
<b>Tabelle 24:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Ephyren aus Salinität 15 (Ephy15) und Ephyren aus Salinität 35 (Ephy35). * $P < 0,05$ .....	56
<b>Tabelle 25:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl der Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen im Lebensstadien übergreifenden Vergleich. a = a-Isorhizen, Sal. = Salinität. * $P < 0,05$ .....	57
<b>Tabelle 26:</b> Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in $\mu\text{m}$ sowie die Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen im Lebensstadien übergreifenden Vergleich. * $P < 0,05$ .....	58
<b>Tabelle 27:</b> Minimales und maximales Volumen der Nematocysten verschiedener Lebensstadien.....	58
<b>Tabelle 28:</b> Detektierte Massen im Kapselinhalt von Polypen-Nematocysten. Gelbe Felder: Massen in Eurytelen und a-Isorhizen detektiert, graue Felder: Massen in Eurytelen (Eu) oder a-Isorhizen (a) detektiert. KoP 20 und KoP 35: Kontrollpolypen, Hälterungssalinität 20 bzw. 35; P35 o/v: Polypen aus Fütterungsversuch, oft und viel gefüttert; P35 s/v: Polypen aus Fütterungsversuch, selten und viel gefüttert. Rot gestrichelt umrandet: Massencenter.....	63
<b>Tabelle 29:</b> Detektierte Massen im Kapselinhalt von Medusen-Nematocysten. Gelbe Felder: Massen in allen Kapseltypen gefunden, hellblaue Felder: Massen in zwei bis drei Kapseltypen gefunden, graue Felder: Massen in einem Kapseltyp (A = A-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen) gefunden. Ns = Medusen aus der Nordsee, Os = Medusen aus der Ostsee. Rot gestrichelt umrandet: Massencenter.....	66

---

**Abkürzungen**

ACN	Acetonitril
DIC	<i>differential interference contrast</i> (Differentialinterferenzkontrast)
LMPC	<i>Laser Microdissection and Pressure Catapulting</i> (Laser-Mikrodissektion und Druck-Katapultieren)
MALDI-TOF-MS	<i>Matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry</i> (Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation Flugzeit Massenspektrometrie)
<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladungsverhältnis
ppm	<i>parts per million</i> (Teile von einer Million)
SA	<i>Sinapinic acid</i> (Sinapinsäure)
TFA	Trifluoressigsäure
UV	Ultraviolettstrahlung
UV-A	nahe Ultraviolettstrahlung



## **1 Einleitung**

### **1.1 Aufgabenstellung**

Die Medusen, die pelagische Generation der metagenetischen Cnidaria, spielen eine große Rolle im Ökosystem Meer. Ein vermehrtes Vorkommen kann ein stabiles Nahrungsgefüge verschieben und die Biodiversität beeinflussen. Gründe für die Zunahme der Massenvorkommen können vielfältig sein. Diskutiert werden unter Anderem anthropogene Einflüsse auf biotische Parameter wie Überfischung und somit ein Einfluss auf das Nahrungsnetz oder abiotische Parameter wie Wasserqualität, Salzgehalt oder Temperatur. Auf Grund der Dezimierung der Fischbestände wird zum einen die Anzahl der Fressfeinde der Medusen verringert, zum anderen sind die Medusen einer niedrigeren Konkurrenz um Nahrung (Zooplankton) ausgesetzt. Durch ihre hohe Anpassungsfähigkeit an sich ändernde Umweltbedingungen, z. B. die Fähigkeit, auch in sauerstoffarmem Wasser zu überleben (Purcell et al. 2001, Rutherford & Thuesen 2005), sind sie zusätzlich im Vorteil gegenüber anderen Tieren. Hintergrund dieser Arbeit ist es, die Anpassungsmechanismen und die enormen Überlebensfähigkeit dieser Organismen zu verstehen, um ihre Reaktion auch auf künftige weitere Änderungen der marinen Umwelt beschreiben zu können.

Dazu kann man sich eines charakteristischen Merkmals der Nesseltiere, ihrer spezialisierten Zellorganellen bedienen. Die Nematocysten als mikroskopisch kleine funktionelle Werkzeuge der Cnidaria spielen bei Beutefang und Verteidigung eine entscheidende Rolle. Die Cnidaria sind mit einer Vielfalt von verschiedenen Nesselkapseltypen in ihrem Gewebe ausgestattet. Ziel dieser Arbeit waren die Untersuchung und Beschreibung der Verteilung und der Größen verschiedener Nematocystentypen in den unterschiedlichen Lebensstadien der gelben Haarqualle *Cyanea capillata* (Linnaeus, 1758). Die Beurteilung des Einflusses abiotischer und biotischer Parameter auf die Nesselkapseln war dabei ein wichtiger Aspekt. Für die Erfassung der morphologischen Daten der Nesselkapseln kamen lichtmikroskopische Verfahren zum Einsatz.

Die Untersuchung der biochemischen Eigenschaften des in den unterschiedlichen Kapseltypen enthaltenen Venoms wurde durch ihre Separierung mit Hilfe einer neu entwickelten mikromanipulativen Methode ermöglicht. In der anschließenden massenspektrometrischen Analyse wurden die Muster der Molekülmassen untersucht und somit Unterschiede in der Zusammensetzung des Kapselinhaltes zwischen verschiedenen Kapseltypen und Lebensstadien aufgezeigt.

### **1.2 Stand der Wissenschaft zum Untersuchungsobjekt**

Im Folgenden werden die Grundlagen und der Stand der Wissenschaft zu der untersuchten Spezies *C. capillata* dargestellt. Insbesondere werden Bau und Funktionsweise der

Nematocysten beschrieben und Struktur und Wirkung der in den Nesselkapseln enthaltenen Toxine näher erläutert.

### 1.2.1 Biologie und Lebensweise von *Cyanea capillata*

*Cyanea capillata* (Abb. 1), die gelbe Haar- oder Feuerqualle, gehört zum Taxon der Scyphozoa (Scheiben- oder Schirmquallen). Dieses Taxon umfasst ca. 200 Arten und teilt sich in die untergeordneten Taxa Coronatae, Rhizostomeae, Stauromedusae und Semaestomeae (Arai 1997). *C. capillata* gehört zu den Semaestomeae, den Fahnenmundquallen, die durch das zu vier lappenartigen Mundarmen ausgezogene Mundrohr gekennzeichnet sind. Einige weitere der in Nordsee- und Ostsee vorkommenden Medusenarten gehören dieser Ordnung an, so auch die Ohrenqualle *Aurelia aurita* (Linnaeus, 1758), die Blaue Haarqualle *Cyanea lamarckii* Péron & Lesueur, 1809 und die Kompassqualle *Chrysaora hysoscella* (Linnaeus, 1766) (Werner 1993).

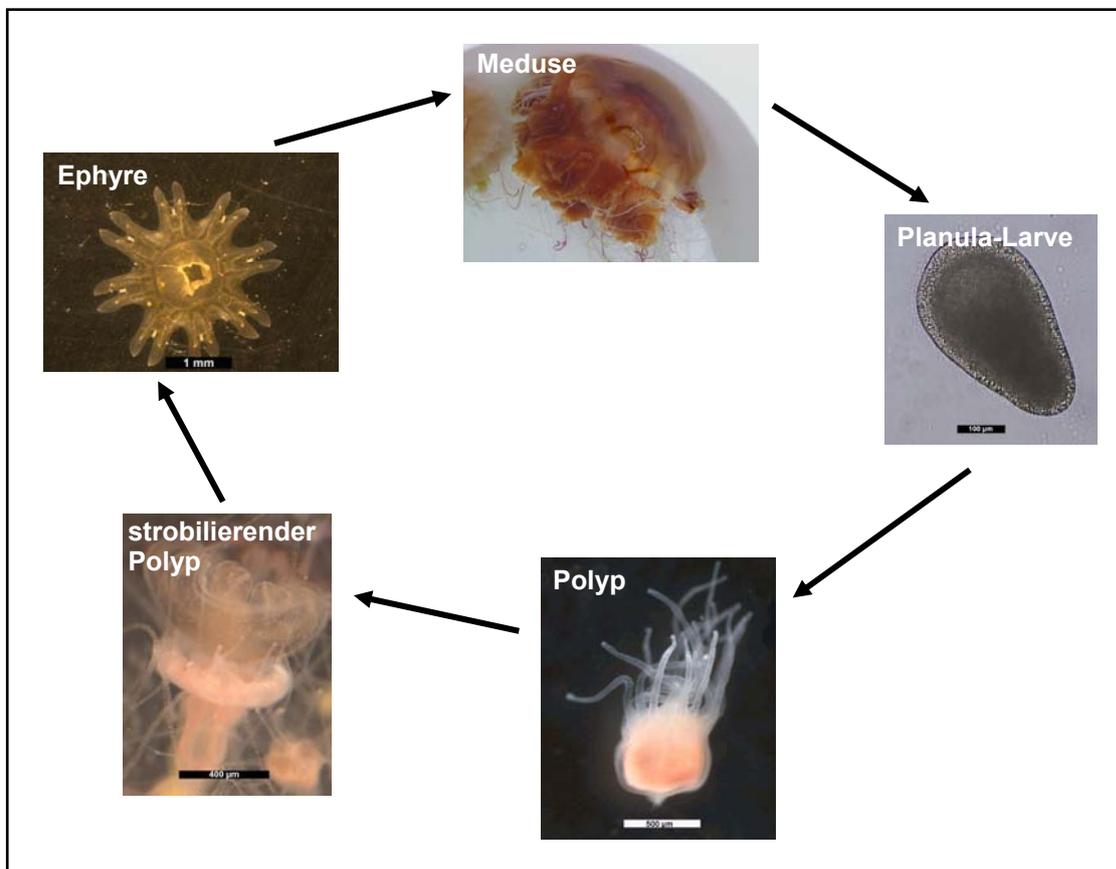
Die Art *Cyanea capillata* kommt vor allem in den borealen Zonen der Meere vor. Ihre zirkumpolare Verbreitung schließt u. a. die Küsten Englands, Schottlands und die Irische See ein, außerdem den Nordatlantik, den Pazifik und die Ostküste Nordamerikas. In den Sommermonaten findet man sie auch in Nord- und Ostsee. Der Schirm und die Mundlappen sind gelb bis rotbraun. Die ausgewachsenen Exemplare haben in der Regel einen Schirmdurchmesser von bis zu 50 cm, wobei in der Arktis Individuen vorkommen, deren Schirmdurchmesser bis zu 2 m erreichen kann (Russell 1970, Werner 1993).



**Abbildung 1:** Meduse von *Cyanea capillata*.

Die meisten Spezies der Scyphozoa (Scheibenquallen) durchlaufen einen metagenetischen Lebenszyklus, in dem sich geschlechtliche und ungeschlechtliche Vermehrung abwechseln. Abbildung 2 zeigt den Lebenszyklus von *C. capillata*. Die sessilen Polypen schnüren durch

Querteilung wenige Millimeter große Ephyren (Jungmedusen) ab und tragen somit zu einer Form der ungeschlechtlichen Vermehrung bei. Die Zentralscheibe der Ephyre wächst und somit entsteht ein geschlossener Schirm. Über das Zwischenstadium der Meta-Ephyre (ca. vier Wochen) entsteht so die Meduse, die bei den Scyphozoa meist getrennt geschlechtlich ist. Sie produziert männliche oder weibliche Gameten. Die Meduse gibt diese entweder ins Wasser frei oder die Eier verbleiben, wie bei *C. capillata*, in den Gonaden und werden dort befruchtet. In Bruttaschen entwickeln sich die befruchteten Eier zu Planula-Larven. Diese werden freigegeben und setzen sich nach einer frei schwimmenden Phase am Untergrund fest. Dort entwickeln sie sich zu Polypen, welche wiederum Ephyren produzieren, womit der Kreislauf geschlossen ist (Russell 1970, Werner 1993).



**Abbildung 2:** Metagenetischer Lebenszyklus von *Cyanea capillata*

Der Aufbau des sessilen Polypen der Scyphozoa (Scyphistoma) ist von simpler Struktur. Er besteht aus einem sackförmigen Körper mit einer Mundafteröffnung, die von zahlreichen Tentakeln umgeben wird. Er kann seinen Körper mit Hilfe von vier Längsmuskelsträngen kontrahieren, deren Zellen reine Myocyten sind. Die Tentakel tragen ebenfalls Längsmuskulatur, mit deren Hilfe sie kontrahiert bzw. gebogen werden können und so Beutetiere in die Mundöffnung geführt werden können (Werner 1993). Das Nervensystem

der Polypen besteht aus zerstreut liegenden Ganglien und Sinneszellen. Ein Nervennetz wurde bei den Scyphopolypen bisher nicht gefunden (Werner 1993).

Die Ephyren und die Medusen, die pelagischen Stadien der Scyphozoa, schwimmen mit Hilfe von Kontraktionen der Ringmuskulatur und der Radialmuskelbänder an der Unterseite des Schirms. In diesen Muskelbändern sind Epithelmuskelzellen enthalten; die Muskulatur ist quergestreift (Anderson & Schwab 1981, Werner 1993). Bei den Medusen ist ein doppeltes Nervennetz vorhanden. Eines dieser beiden Nervennetze ist parallel zu Ring- und Radialmuskeln angeordnet und steht in Verbindung mit den Randsinnesorganen. Die Schirmkontraktion während des Schwimmens wird von diesem Nervennetz koordiniert, wobei die Schrittmacher für die Schirmkontraktionen aus Ansammlungen von Nervenzellen im Schirmrand bestehen. Daneben existiert ein diffuses Nervennetz, welches für die Bewegungssteuerung der Mund- und Randlappen sowie der Tentakel verantwortlich ist (Anderson & Schwab 1981, Anderson & Schwab 1983, Werner 1993, Arai 1997). Die Randsinnesorgane (Rhopalien) dienen als Schweresinnesorgan und tragen bei den Medusen und Ephyren einiger Arten der Fahnenmundquallen (Semaestomae) Ocellen als Photorezeptoren (Werner 1993, Arai 1997).

Die Beute von *C. capillata* setzt sich aus Zooplankton verschiedenster Art zusammen. Dazu gehören Krebstiere, Larven von Weichtieren und Fischen. Zur Beute der Medusen gehört außerdem gelatinöses Plankton wie die Meduse von *A. aurita* (Fancett 1988, Brewer 1989, Bämstedt et al. 1994, Arai 1997, Purcell & Arai 2001, Purcell 2003).

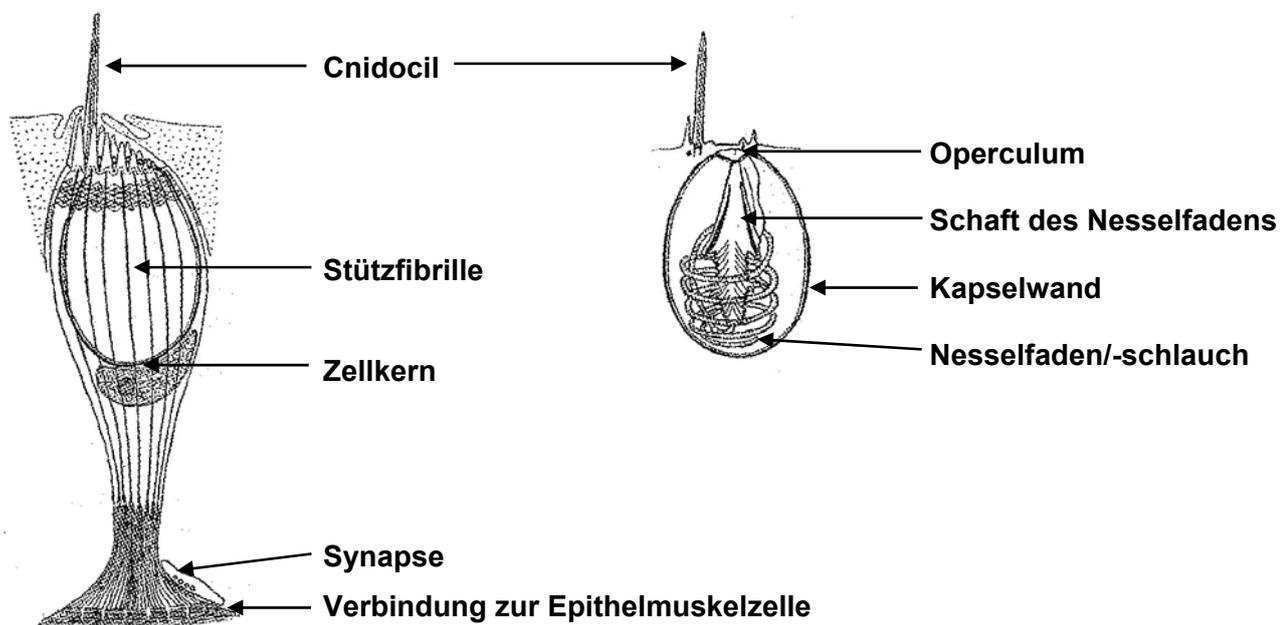
### 1.2.2 Bau und Funktion der Nesselzellen und -kapseln

Die Nesselkapseln (Cnidocysten) der Cnidaria sind Zellorganellen, die von Nesselzellen (Cnidocyten) gebildet werden. Sie werden zu ihrem Bestimmungsort transportiert und dort in die Epidermis eingelagert.

Die Cnidocysten lassen sich in Nematocysten, Spirocysten und Ptychocysten unterteilen (Watson & Wood 1988, Fautin 2009). Die Spirocysten und Ptychocysten treten ausschließlich bei Taxa der Anthozoa auf und fungieren als Klebkapseln beim Beutefang bzw. als Befestigungselement der Wohnröhre von Zylinderrosen (Werner 1993). Im Folgenden wird daher im Zusammenhang mit der Klasse der Scyphozoa der Begriff Nematocyte bzw. Nematocyste für deren Cnidocyten bzw. Cnidocysten verwendet.

In den Tentakeln und Mundlappen vieler Medusenarten liegen die Nematocyten in Batterien vor, d. h. mehrere Nematocyten sind zu Gruppen angeordnet. Die Nematocyste, die Nesselkapsel, liegt als dominierendes Zellorganell in der Nematocyte, der Nesselzelle. Die Nematocyste ist von Fibrillen umschlossen, die sie wie einen Korb umgeben und die gesamte Nesselzelle vom apikalen bis zum basalen Teil durchziehen (Abb. 3A). Die Fibrillen

sind basal mit der Mesogloea, einer relativ stabilen, Wasser einlagernden Bindegewebsschicht, verbunden und gewährleisten somit einen sicheren Halt der Nesselzelle in der Epidermis des Tieres (Cormier & Hessinger, 1980 Wood 1988, Werner 1993). Die meisten Untersuchungen an Nematocysten wurden am Süßwasserpolyphen *Hydra* (Klasse Hydrozoa) durchgeführt (Abb. 3B). Danach besteht die Nesselkapsel aus einer ursprünglich als doppelschichtig charakterisierten, nach neueren Studien jedoch aus einer einschichtigen Wand (Özbek et al. 2004), deren innerer Teil durch eingelagerte Minikollagene sehr reißfest ist (Kurz et al. 1991, Holstein et al. 1994, Engel et al. 2002). Die Kapsel wird apikal durch das Operculum, einen kleinen Deckel, verschlossen. Die Kapselwand setzt sich nach innen in einem Nesselfaden oder -schlauch fort, der stark aufgewunden in der Kapsel liegt.

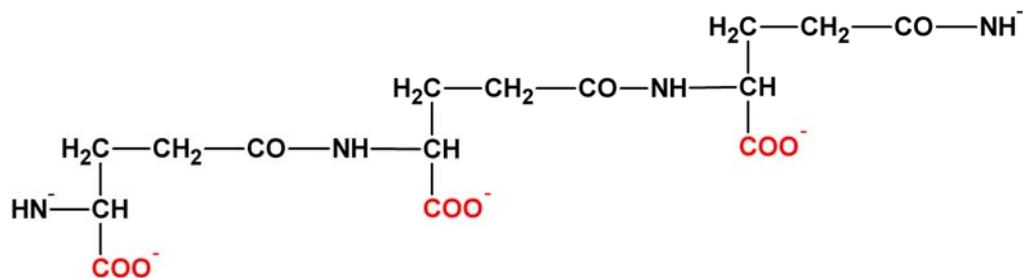


**Abbildung 3:** Schematischer Aufbau der Nematocyte (A) und einer Nematocyste (Typ Stenotele) (B) aus: Werner (1993), S. 25.

Der Vorgang der Entladung dauert nur 3 ms, die Geschwindigkeit des Nesselfadens beträgt dabei 2 m/s bei einer Beschleunigung von 40000 g (Holstein & Tardent 1984, Tardent 1995). Ein Großteil der Untersuchungen zur Entladung von Nematocysten wurde bisher mit Spezies der Gattung *Hydra* (Hydrozoa) durchgeführt. Dabei stellte man verschiedene Theorien zum genauen Ablauf der Kapsel-Entladung auf. Eine Hypothese besagt, dass während der Morphogenese der Nematocyste Poly-Glutamat (Abb. 4) in die Kapsel eingelagert wird. Kleine anorganische Kationen können frei durch die semipermeable Kapselwand

diffundieren. Dadurch wird in der Nematocyste ein osmotischer Druck generiert und reguliert, welcher einer gespannten Feder gleich bis zur Entladung gespeichert wird. In Experimenten wurde nach elektrischem Stimulus ein Anschwellen kurz vor der Entladung der Nematocyste beobachtet. Diese Volumenerhöhung wird vermutlich durch das Einströmen von Wasser in die Kapsel verursacht und führt zu einer Druckerhöhung (bis zu 15,3 MPa) in der Kapsel und zu einer Entladung der Nematocyste (Holstein & Tardent 1984, Weber 1989, Weber 1990, Nüchter et al. 2006).

Eine andere Hypothese geht davon aus, dass die Kapsel nicht unter einem permanenten und bei der Bildung der Nematocyste „eingelagerten“ Druck steht, sondern dieser Druck erst kurz vor der Entladung aufgebaut wird. Dabei wird durch den Verlust einiger Protonen aus der Kapsel eine Kettenreaktion ausgelöst, in deren Folge die in der Nematocyste eingelagerte Poly-Glutaminsäure deprotoniert wird. Die nun negativ geladenen Carboxylgruppen des Polyglutamats (Abb. 4, rot dargestellt) stoßen sich elektrostatisch voneinander ab, wodurch die Kapsel anschwillt und den Einstrom von Kationen und Wasser bewirkt. Durch den so entstandenen osmotischen Druck wird die Entladung laut dieser Hypothese letztendlich ausgelöst (Berking & Herrmann 2006).



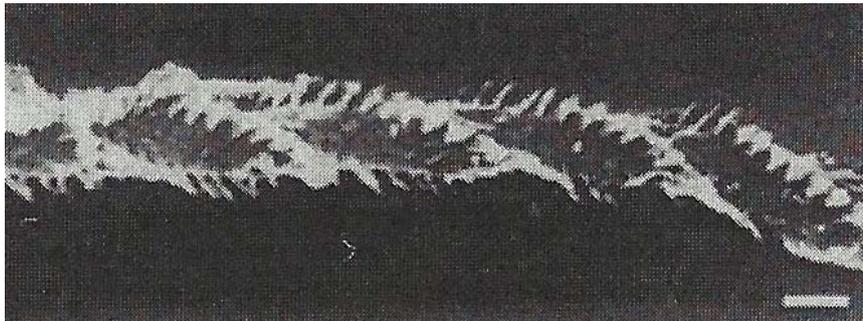
**Abbildung 4:** Polyglutamat, rot: deprotonierte Carboxylgruppen.

Am apikalen Ende der Nesselzelle dient das Cnidocil der mechanischen Reizaufnahme. Die Sensitivität des Cnidocils wird durch einen vorausgegangenen chemischen Reiz, z. B. durch von Beutetieren verströmte Aminosäuren, heraufgesetzt (Purcell & Anderson 1995).

Verschiedene Studien legen die Vermutung nahe, dass die Nematocystenentladung zum Teil neuronal gesteuert wird. Nach der Zugabe von Extrakten aus Futtertieren in die mit Seewasser gefüllte Versuchskammer wurde mit Hilfe von Mikroelektroden in den Nesselzellen von Hydrozoa-Arten elektrische Aktivität abgeleitet (Purcell & Anderson 1995, Price & Anderson 2006). In Seeanemonen wurden elektronenmikroskopisch Synapsen nachgewiesen, die Cnidocyten innervieren (Westfall 1988, Westfall 2004). In einer der wenigen Arbeiten, die sich mit neuronaler Steuerung der Kapselentladung in Medusen der Scyphozoa beschäftigt, wurden mit Hilfe immunohistochemischer Verfahren direkte

Verbindungen der Neuronen des Exumbrella-Nervennetzes mit Nematocystenbatterien in den Tentakel von *C. capillata* gezeigt (Anderson et al. 1992). Bemerkenswert ist außerdem die Blockade der Nesselkapselentladung bei „satten“ Polypen von *Hydra* und Seeanemonen (Sandberg et al. 1971, Smith et al. 1974).

Die Entladung der Nesselkapseln dient der Verteilung und dem Transport der wirksamen Giftstoffe (Toxine) in die Beuteorganismen. Die Lokalisation der Toxine innerhalb der Nematocyste und die Art der Abgabe der Substanzen über den Nesselfaden sind noch nicht völlig geklärt. Einige Autoren vermuten einen spritzenähnlichen Injektionsmechanismus, bei dem die Toxine in der Kapsel selbst zu finden sind und ausschließlich über die Spitze des Nesselfadens abgegeben werden (Thomason 1991). In einer anderen Arbeit konnte mit Hilfe von Immunofluoreszenzfärbung beobachtet werden, dass die Toxine im unentladenen Zustand an der Außenseite des Fadens haften und nach der Entladung über die am Nesselfaden ansitzenden Stacheln nach außen abgegeben wurden (Abb. 5). Der Nesselfaden würde in diesem Fall das Toxin über seine gesamte Länge in die Beute übertragen (Lotan et al. 1996).



**Abbildung 5:** Nesselfaden einer entladenen Nematocyste von *Rhopilema nomadica* mit durch Immunofluoreszenzfärbung sichtbar gemachten Toxinen an den Stacheln. aus: Lotan et al. (1996).

### 1.2.3 Das Cnidom von *Cyanea capillata*

Bei den Nematocysten werden, je nach Literatur, bis zu 30 verschiedene Typen unterschieden (20 Typen (Werner 1965), 27 Typen (Werner 1993), über 30 (Östman 2000)). Durch ständige Verbesserung der Methoden zur optischen Erkennung auch sehr feiner Strukturen sowohl der entladenen als auch der unentladenen Nematocysten, wurden im Laufe der Zeit die Kategorien der Nematocysten erweitert und angepasst. Die Klassifikation der Nematocysten geht auf Weill (1934) zurück und wurde durch andere Autoren ergänzt und modifiziert. Sie richtet sich nach der Morphologie des Nesselfadens. Dabei werden auf der ersten Ebene Haplonemen (einfacher Nesselfaden) von Heteronemen (der Nesselfaden

gliedert sich in einen basalen Schaft und den eigentlichen Nesselfaden) unterschieden. Ein Beispiel für die Haplonemen sind die Isorhizen, die durch einen einfachen, isodiametrischen Faden gekennzeichnet sind. Dieser ist mit kleinen Dornen oder Härchen besetzt. Bei den Heteronemen erfolgt die weitere Einteilung in Untergruppen nach Beschaffenheit des Schaftes. So sind die Eurytelen durch einen keulenförmigen Schaft gekennzeichnet. Die Birhopaloide zeigen zwei Verdickungen an ihrem Schaft. Die Stenotelen sind mit den drei als Stiletts ausgebildeten Dornen am Schaft besonders stark differenziert (Werner 1965, Werner 1993, Arai 1997, Östman 2000). Eine weitere Untergliederung der Nematocystentypen erfolgt auf Grundlage von Merkmalen wie Kapselform und Nesselfadenwicklung in der Kapsel.

Die Ausstattung mit den Nematocystentypen unterscheidet sich in den vier Cnidaria-Taxa (Anthozoa, Scyphozoa, Cubozoa und Hydrozoa). Außerdem treten innerhalb einer Art oft verschiedene Kapseltypen in den einzelnen Lebensstadien auf. Als das Cnidom einer Art wird die Gesamtheit aller Nematocystentypen in allen Lebensstadien einer Spezies bezeichnet (Watson & Wood 1988, Werner 1993). Insgesamt treten im Gewebe von *C. capillata* maximal drei verschiedene Nematocysten-kategorien auf: Isorhizen, Eurytelen und Birhopaloide. Aus der Kategorie der Isorhizen, also der Kapseln ohne einen abgesetzten Schaft am Nesselfaden, konnten in den Lebensstadien von *C. capillata* bis zu vier verschiedene Untertypen gefunden werden:  $\alpha$ -, a-, A- und O-Isorhizen.

Das Polypengewebe beherbergt mit nur drei Kapseltypen (a-, O-Isorhizen und Eurytelen) die geringste Vielfalt an Nematocystentypen (Calder 1971). Über die genaue Verteilung der Nematocysten in den unterschiedlichen Körperregionen wurden keine Angaben von dem Autor gemacht.

Im Gewebe der Ephyren wurden neben den vier Isorhizentypen auch Eurytelen lichtmikroskopisch nachgewiesen. Die Lage der Nematocysten im Gewebe der untersuchten Ephyren wurde nicht beschrieben (Calder 1977).

Die Nematocysten von *C. capillata*-Medusen in Tentakel, Mundlappen und Exumbrella wurden von Östman & Hydman (1997) beschrieben. Es wurden a-, A-, O-Isorhizen, Eurytelen und Birhopaloide im Gewebe der untersuchten Tiere gefunden. Die Nematocysten in den Tentakelspitzen waren in Batterien angeordnet, die a-, A-, O-Isorhizen und Eurytelen enthielten. Zur Basis der Tentakel lagen die Kapseln locker verstreut, wobei die O-Isorhize der dominierende Nematocystentyp war. Der Rand der Mundlappen war durch eine hohe Dichte an Kapseln gekennzeichnet, während weiter innen Nesselkapselbatterien mit kleinen A-Isorhizen, O-Isorhizen und Birhopaloiden zu finden waren. Die Exumbrella und die Randlappen der Medusen zeigte eine insgesamt geringere Kapseldichte als die anderen untersuchten Körperregionen. Die Exumbrella trug fast ausschließlich in Batterien oder

verstreut angeordnete O-Isorhizen. Das Gewebe der Randlappen enthielt Birhopaloide, die in Batterien angeordnet waren.

Es wird vermutet, dass den unterschiedlichen Kapseltypen verschiedene Aufgaben beim Beutefang zukommen. Die Eurytelen, ausgestattet mit einem bedornten Schaft, sind vermutlich Durchschlagskapseln (Rifkin & Endean 1983, Heeger & Möller 1987). Die Isorhizen mit ihren gleichmäßig gestalteten und auf ganzer Länge behaarten Nesselfäden, werden in der Literatur, je nach Untertyp, als Durchschlagskapseln oder als Kapseln beschrieben, die z. B. Körperanhänge (Borsten, Härchen) der Beutetiere umwickeln (Purcell 1984, Heeger & Möller 1987, Heeger et al. 1992, Jarms et al. 2002).

Bei *C. capillata* durchschlagen die Eurytelen, die O- und die a-Isorhizen sowohl menschliche Haut (Heeger et al. 1992) als auch die Außenhaut von Krebslarven (*Artemia* sp.) (Östman & Hydman 1997). Auch die Birhopaloide sind laut Literatur Durchschlagskapseln (Östman & Hydman 1997). Die Nesselfäden einzelner A-Isorhizen hingegen bilden bei der Entladung Bündel und dienen dem Festhalten der Beute (Östman & Hydman 1997). Bei Untersuchungen der Nesselfadenlängen und Geschwindigkeiten bei der Entladung verschiedener Nematocystentypen mit Hilfe von Aufnahmen einer Hochgeschwindigkeitskamera schlossen Colin & Costello (2007) auf Grund der erhaltenen Ergebnisse, dass die Eurytelen und O-Isorhizen, bei denen die kinetische Energie des Nesselfadens während der Entladung am größten war, effiziente Durchschlagskapseln sind. Die a-Isorhizen zeichneten sich durch geringere Entladungsgeschwindigkeiten und durch die im Vergleich zu den anderen Nematocystentypen kürzesten Nesselfäden aus, weshalb sie als weniger effektive Durchschlagskapseln eingeordnet wurden. Die A-Isorhizen, die in der Literatur als umwickelnder oder festhaltender Kapseltyp beschrieben werden, zeigten in der oben genannten Studie die längsten Nesselfäden, eine langsame Entladungsgeschwindigkeit und eine niedrige kinetische Energie während der Entladung. Über die Birhopaloide mit ihrer niedrigen kinetischen Energie bei der Entladung und dem kurzen Nesselfaden stellten die Autoren keine weiteren Vermutungen an (Colin & Costello 2007).

Purcell & Mills (1988) vermuteten, dass es einen Zusammenhang zwischen den Nematocystentypen und der Beute bestimmter Hydrozoa-Arten gibt. In der Studie wurde festgestellt, dass sich Hydrozoa, die auf hartschalige Crustacea (Krebstiere) spezialisiert waren, durch eine größere Vielfalt an Nesselkapseltypen auszeichneten als die Hydrozoa-Spezies, die hauptsächlich weichhäutige Beute jagten. Letztere besaßen oft nur einen Nematocystentyp.

In wenigen Arbeiten wurde die Änderung der Anzahl bestimmter Nematocystentypen während der Entwicklung von Medusen untersucht. So stellten Carrette et al. (2002) eine

Zunahme des Anteils eines bestimmten Gift injizierenden Kapseltyps an der Nematocystengesamtzahl während der Ontogenese der Würfelqualle *Chironex fleckeri* Southcott, 1956 fest. Die Autoren vermuteten, dass mit Erhöhung der Anzahl dieses Kapseltyps eine stärkere Toxizität einhergeht und diese Änderung mit dem Wechsel der Nahrung von Garnelen zu Fischen verbunden ist. Bei einer anderen vergleichenden Studie über zwei Würfelquallenarten wurden bei der stärker toxischen *C. fleckeri* signifikant größere Kapseln dieses Typs gefunden als bei *Chiropsalmus* sp. (Kintner et al. 2005).

#### **1.2.4 Wirkung und Struktur der Toxine von *Cyanea capillata***

In einigen Studien wurde die Wirkung des Rohvenoms von *C. capillata* *in vivo* untersucht. Dabei wurde in Versuchen mit Probanden eine geringe bis starke Nesselnwirkung der intakten Tentakel auf der menschlichen Haut festgestellt (Rice & Powell 1972, Walker 1977b, Burnett 2001).

*In vitro* zeigte das Rohvenom von *C. capillata* eine cardiotoxische Wirkung. Wie aus den Untersuchungen ersichtlich wurde, führten Veränderungen in der Ionenverteilung in den Herzmuskelzellen zu Arrhythmien und letztendlich zu einer Einstellung der Kontraktion der Muskelzellen. Die cardiotoxische Wirkung wurde vermutlich durch ein Protein im Massenbereich von 70 kDa verursacht (Walker 1977a, Walker 1977b, Walker et al. 1977). In Zell-Assays wurde eine zytotoxische, dosisabhängige Wirkung des Rohvenoms auf Leber- und Fischkiemenzellen (Helmholz et al. 2007, Helmholz et al. 2010, Lassen et al. 2011a) und eine hämolytische Wirkung auf humane Erythrozyten festgestellt (Long & Burnett 1989, Helmholz et al. 2007). Das toxische Potential des Venoms war in der Untersuchung von Helmholz et al. (2010) abhängig von der Größe der Medusen und vom entnommenen Körperteil (Tentakel bzw. Mundlappen). Eine neurotoxische Wirkung auf Neuroblastomzellen von Mäusen wurde bei einer Studie von Lassen et al. (2010) gefunden. Es wurde gezeigt, dass bestimmte Fraktionen des aufgereinigten Venoms eine blockierende Wirkung auf die Natriumkanäle der Zellmembranen ausüben.

Über die Struktur der Toxinkomponenten von *C. capillata* ist bisher wenig bekannt. Es ist jedoch allgemein akzeptiert, dass die Toxine der Cnidaria Proteine sind (Hessinger 1988). Bei der Untersuchung des Rohvenoms aus den isolierten Nematocysten der Tentakel und der Mundlappen von Medusen wurde mit Hilfe von Gelelektrophorese Proteinbanden in einem Bereich von 5 bis 100 kDa gefunden, wobei die Komplexität des Bandenmusters mit der Größe der Medusen wuchs (Helmholz et al. 2007). Auch der Sammelort der Medusen scheint auf die Proteinzusammensetzung der Nematocysten Einfluss zu haben. Das Muster von Proteinen aus Nematocysten von Ostseemedusen und Nordseemedusen unterschied sich in der Komplexität (Helmholz et al. 2010).

Die Zusammensetzung des Proteininhalts der Nematocysten untersuchten Lassen et al. (2010) massenspektrometrisch. Nach der Fraktionierung und Aufreinigung des Venoms wurden neurotoxisch wirksame Fraktionen auf ihre Zusammensetzung hinsichtlich ihres Musters an Molekülmassen analysiert. Es wurden je nach Fraktion neun bis siebzehn Molekülkomponenten in einem Massenbereich von 2 000 bis 8 000 Da in den Spektren gefunden.

Bezüglich der Aufklärung der molekularen Toxinstruktur von Scyphozoa und speziell von *C. capillata* auf der Ebene der Primärstruktur der Proteine (Aminosäuresequenz) ist die Anzahl der durchgeführten Studien sehr gering. Nach der Isolierung von Toxinkomponenten aus Tentakelmaterial fanden Long & Burnett (1989) vor allem die Aminosäuren Glycin und Serin in einer bestimmten Fraktion des Rohvenoms. Bemerkenswert sind erste Hinweise auf Sequenzhomologien der Aminosäuren eines zytotoxisch wirksamen Proteins, welches aus den Tentakeln von *C. capillata* isoliert wurde und Übereinstimmungen mit Hämolytinen aus den zwei Cubozoa-Arten *Carybdea alata* Reynaud, 1830 und *Carybdea rastonii* Haacke, 1886 zeigte (Lassen et al. 2011a).

Der übergeordneten Strukturen (Sekundär- und Tertiärstruktur) der Toxine wurden bisher überwiegend in Arbeiten über verschiedene Anthozoa-Spezies beschrieben (Turk 1991, Anderluh & Maček 2002, Malovrh et al. 2003, Črnigoj Kristan et al. 2009, Turk & Kem 2009). Bei der Untersuchung von See-Anemonen-Toxinen wurden verschiedene Gruppen von Actinoporinen identifiziert, deren Molekülgröße zwischen 5 bis 80 kDa liegen. Diese Peptide und Proteine wirken zytotoxisch, indem sie Poren in die Zellmembranen formen, wodurch die Zielzellen zerstört werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Nagai et al. (2000b). Sie isolierten und analysierten das Toxin CaTX-A aus der Cubomeduse *Carybdea alata*. Dabei wurden amphipathische  $\alpha$ -Helices gefunden, Strukturen, die dem Toxin ermöglichen, sich an eine Zellmembran anzuhängen und eine Pore zu formen. Proteine im Massenbereich 30-40 kDa zeigten dagegen eine enzymatische Aktivität auf Zellmembranen (Anderluh & Maček 2002).

### 1.3 Theoretische Grundlagen der angewandten Methoden

In dieser Arbeit wurden zur Analyse der in den Nematocysten enthaltenen Toxine zwei Techniken angewandt, die methodisch aufeinander abgestimmt wurden und aufeinander aufbauen. Der erste Abschnitt des Prozesses war das LMPC (*Laser Microdissection and Pressure Catapulting*, Laser-Mikrodissektion und Druck-Katapultieren), um die unterschiedlichen Nematocystentypen voneinander zu separieren. Anschließend wurde der Inhalt der Kapseln mit MALDI-TOF-MS (*matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry*, Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation Flugzeit

---

Massenspektrometrie) analysiert. Im Folgenden werden die theoretischen Grundlagen dieser beiden angewandten Techniken erläutert.

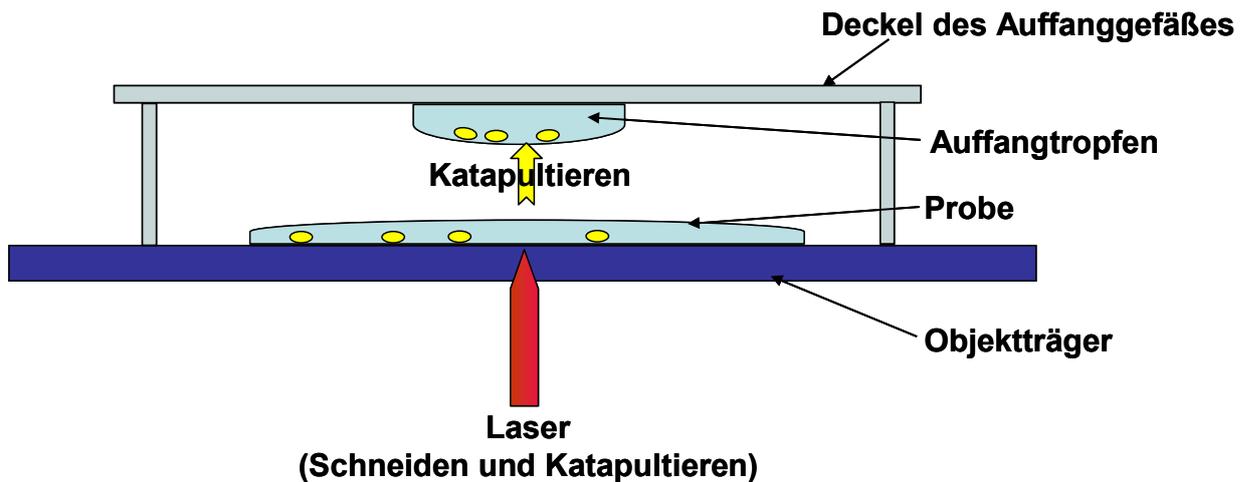
### 1.3.1 Theoretische Grundlagen von LMPC

Die Methode der Mikrodissektion und des Katapultierens mit LMPC wurde ursprünglich für das Separieren einzelner Zellen oder Gewebeteile aus trockenen Präparaten (z. B. Paraffinpräparate) oder aus Zellkulturen entwickelt (Burgemeister 2004, Burgemeister & Stich 2004, Niyaz 2004, Burgemeister 2005). Das Anwendungsspektrum ist breit. Die Methode wurde u. a. in der Hirnforschung und Krebsforschung zur Separierung verschiedener Zelltypen angewandt (Fong et al. 2005, Blalock et al. 2011, Obermann et al. 2011, Petzold et al. 2011). Dabei wurde stets mit luftgetrockneten Proben gearbeitet, aus denen bestimmte Zellen ausgeschnitten und katapultiert wurden. Ebenso wurde die Methode im Bereich der Pflanzenforschung angewandt. Die Isolierung von Zellen aus den Leitbündeln erfolgte aus Paraffinschnitten der Blätter der untersuchten Pflanze (Gil et al. 2011). Neben einzelnen Zellen wurden mit LMPC auch größere Objekte separiert. De Bekker et al. (2011) isolierten Teile des Myzels aus einer Pilzkolonie, um die RNA zu untersuchen.

Beim LMPC wird ein gepulster UV-A-Laser (Stickstofflaser, Wellenlänge 337 nm) mit einem inversen Lichtmikroskop gekoppelt und durch dessen Objektiv fokussiert. Der Laser schneidet Material ohne die Erzeugung von Hitze. Das Schneiden des Gewebes erfolgt dabei durch einen photochemischen Prozess, bei dem eine hohe Photonendichte im Bereich des auftreffenden Laserstrahls erzeugt wird. Ganz gezielt wird nur das Material im Schnittbereich in Moleküle und Atome umgewandelt und verdampft. Der Laser dient ebenfalls dazu, nach der Mikrodissektion das ausgeschnittene Material mit Hilfe eines einzelnen Pulses vertikal in ein Auffanggefäß hineinzukatapultieren (Schütze et al. 2003). In Abbildung 6 ist dieser Vorgang schematisch dargestellt.

Die konstante Stärke des Laserpulses kann mit Hilfe eines zwischengeschalteten Filters reguliert werden. Die Spanne für die relative Leistung reicht von null bis hundert Prozent und muss der Probe angepasst werden. Der Laserfokus ist eine weitere regelbare Einstellung des Gerätes. Er kann einen Wert von eins bis hundert annehmen und stellt sicher, dass optischer Fokus des Mikroskops und die stärkste Laserfokussierung zusammenfallen (PALM<sup>®</sup> 2004).

Die Bedienung des Lasers und des Mikroskops wird mit Hilfe einer speziellen Software geregelt.



**Abbildung 6:** Schematische Darstellung von LMPC: Katapultieren des ausgeschnittenen Materials in einen Auffangtropfen mit Hilfe eines Laserimpulses.

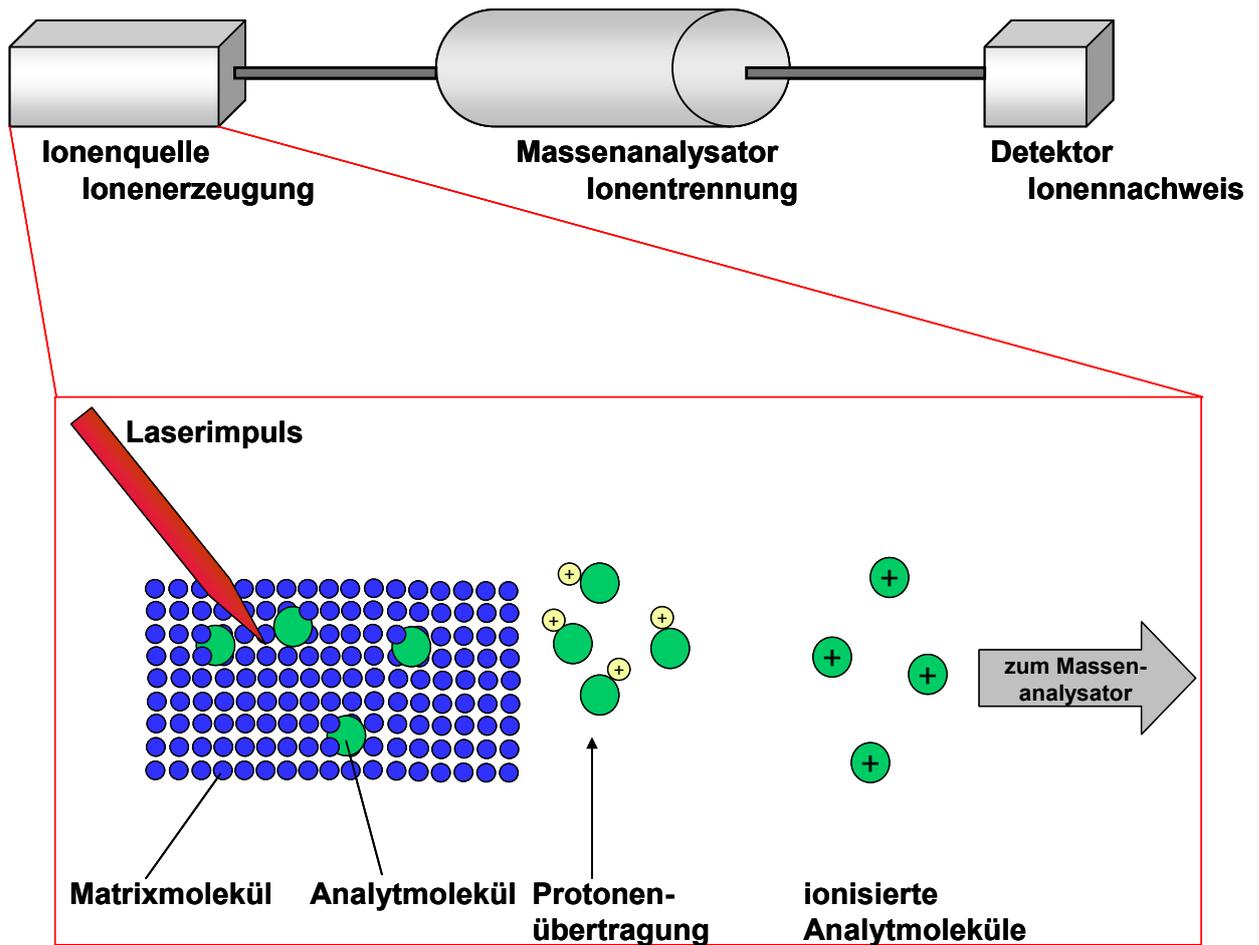
### 1.3.2 Theoretische Grundlagen von MALDI-TOF-MS

MALDI-TOF-MS ist eine empfindliche Methode, um große Biomoleküle wie Peptide und Proteine zu analysieren. Die Untersuchung kann dabei in drei Schritte unterteilt werden: Die Ionenerzeugung, die Trennung der Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladungsverhältnis und der Nachweis der Ionen an einem Detektor (Abb. 7).

Zunächst wird die Probe mit einem hohen Überschuss an geeigneter Matrix vermischt. Bei der Matrix handelt es sich um kleine organische Moleküle, die Laserlicht einer bestimmten Wellenlänge absorbieren. Gebräuchlich sind z.B. Sinapinsäure oder Cyano-4-hydroxizimtsäure. Beim Trocknen der Probe werden die Analytmoleküle in die kristallisierende Matrix eingebettet (Kokristallisation). Das Analyt-Matrix-Gemisch wird im nächsten Schritt mit einem Laser angeregt und somit erfolgen die direkte Herauslösung der Matrixmoleküle aus dem Kristallgitter (Desorption) und der Übergang der Moleküle in die Gasphase.

Die Matrixmoleküle reißen die Analytmoleküle bei diesem Vorgang mit und übertragen dabei gleichzeitig Protonen auf die Analytmoleküle (Ionisation). Die Ionen werden in einem elektrischen Feld beschleunigt und durchqueren einen feldfreien Raum. Dort werden sie nach ihrem Masse-zu-Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) aufgetrennt und treffen am Ende des Flugrohres auf den Detektor. Die Ionengeschwindigkeit ist abhängig vom Quotienten  $m/z$ . Da die Ladungszahl  $z$  bei den durch den MALDI-Prozess erzeugten Ionen in der Regel einfach positiv (+1) ist, ist die Geschwindigkeit einfach geladener Ionen direkt proportional zu ihrer Masse. Kleinere Ionen erreichen bei gleicher kinetischer Energie eine höhere Geschwindigkeit als größere Ionen und prallen früher auf den Detektor. Am Detektor erfolgt

die Umwandlung der auftreffenden Ionen in elektrische Signale. Diese Signale werden in einem Spektrum abgebildet, in dem auf der Ordinate die relative Intensität und auf der Abszisse die  $m/z$ -Werte der Signale abzulesen sind (Lottspeich 2006). Die in dieser Arbeit angewandten Präparationsmethode sowie die Versuchsbedingungen und –konfigurationen werden in Kapitel 2.3.3 (S. 29) beschrieben.



**Abbildung 7:** Schematische Darstellung von MALDI-TOF-MS, oben: Teilschritte des MALDI-TOF-MS Prozesses, rot umrandet: Detaildarstellung der Ionenerzeugung in der Ionenquelle (nach Lottspeich, S. 329 und 332).

---

## 2 Material und Methoden

Die folgenden Kapitel enthalten Angaben über die Herkunft und Hälterung der Versuchstiere sowie über die Vorgehensweise bei der Durchführung der Experimente. Die Methoden zur Nematocystenseparierung mit LMPC und zur Analyse des Kapselinhalts mit MALDI-TOF-MS und aller dazugehörigen Schritte werden erläutert. Die verwendeten Chemikalien und Geräte sowie deren Hersteller sind Tabelle A1 und A2 im Anhang aufgeführt.

### 2.1 Herkunft und Hälterung der Versuchstiere

*Cyanea capillata* (Linnaeus, 1758) wurde in dieser Arbeit unter anderem hinsichtlich der Unterschiede der Nematocysten in den verschiedenen Lebensstadien untersucht. Polypen, Ephyren und Medusen verschiedener Größen wurden analysiert. Im Folgenden werden die Herkunft der untersuchten Tiere und die Hälterungsbedingungen der Polypen und Ephyren erläutert.

#### 2.1.1 Herkunft und Hälterung der Polypen

Die Kulturen wurden selbst angelegt und zum Teil von Dr. Ilka Sötje und Dr. Sabine Holst (Universität Hamburg) bereitgestellt. Die Polypenkulturen wurden aus befruchteten Eiern bzw. Planularlarven weiblicher Medusen generiert. Diese Medusen waren in den Sommermonaten unterschiedlicher Jahre und an verschiedenen Orten gefangen worden (s. Kapitel 2.1.3, S. 17). Die Salinität am Fang-Ort wurde mit einem Refraktometer bestimmt. Teile des Gonadengewebes mit befruchteten Eiern und Planularlarven wurden mit einer Schere abgetrennt und zusammen mit Wasser vom Fang-Ort in Glasschalen oder Plastikgefäße überführt. Nach 1-2 Tagen wurden die Gonadenreste vorsichtig mit einer Pinzette aus dem Wasser entfernt. Der erste Wasserwechsel mit gefiltertem Seewasser erfolgte nach wenigen Tagen, sobald sich die Larven an Boden und Wand der Hälterungsgefäße festgesetzt und zu Primärpolypen entwickelt hatten (Abb. 8).



**Abbildung 8:** wenige Tage alte Polypen von *Cyanea capillata*.

Die Polypen wurden je nach Salinität des Fundortes der Meduse in gefiltertem Seewasser mit der Salinität 15, 20 oder 35 gehältert. Das Wasser mit der Salinität 35 stammte aus der Tiefen Rinne südwestlich von Helgoland. Durch Zugabe von destilliertem Wasser wurde das Seewasser der Salinität 15 und 20 hergestellt. Somit entsprach die Salinität des Medusenfangortes der Salinität, in der später die Polypen lebten. Die Polypen in Wasser mit der Salinität 15 stammten von im August 2008 in der Kieler Bucht gefangenen Medusen. Im September 2008 wurden in der Eckernförder Bucht (s. o.) Medusen gefangen, deren Larven für die Ansiedlung einer Polypenkultur mit der Salinität 20 genutzt wurden. Eine der drei Polypenkulturen mit der Salinität 35 stammte von einer Meduse aus der Beltsee (Dänemark). Die Polypen dieser Kultur wurden in drei Schritten von der Ursprungssalinität 20 auf eine Salinität von 35 heraufreguliert. Die anderen Polypenkulturen mit der Salinität 35 stammten von Medusen aus verschiedenen Teilen der Nordsee (Tab. 1).

Alle Polypen wurden in Glasschalen (125 mL bis 250 mL) oder in Schraubdeckelgefäßen aus Kunststoff (75 mL) mit gefiltertem Seewasser gehältert. Die Glasschalen und Schraubdeckelgefäße wurden in Inkubatoren in Dunkelheit bei 10 °C gelagert. Ein auf die Glasschalen gelegter Deckel verminderte die Verdunstung des Wassers. Die Tiere wurden alle zwei Wochen durch die Zugabe von Nauplius-Larven der Art *Artemia salina* gefüttert. Das Seewasser in den Schalen wurde nach ca. einer Stunde durch frisches, auf 10 °C vortemperiertes Seewasser ausgetauscht.

**Tabelle 1:** Lichtmikroskopisch untersuchte Präparate von Medusen, Polypen und Ephyren. Es sind Sammeldatum und -ort sowie die Hälterungssalinität bzw. die Salinität am Sammelort und die Anzahl der lichtmikroskopisch untersuchten Präparate angegeben.

Polypen	Sammelort der Muttermeduse	Hälterungs-salinität	Sammeldatum Muttermeduse
Polypen-Kontrollgruppe	Kieler Bucht (Deutschland)	15	August 2008
Polypen-Kontrollgruppe	Eckernförde, Hafen (Deutschland)	20	September 2008
Polypen-Kontrollgruppe	Beltsee (Dänemark)	35	2007
	Espegrend (Norwegen)		August 1999
	Orkney-Inseln (Groß Britannien)		Juni 2004
Ephyren	aus Polypenkultur	Hälterungs-salinität	
alte Ephyren	verschiedene Kulturen Salinität 35	35	
junge Ephyren			
Ostsee-Ephyren	Kieler Bucht (Deutschland)	15	
Medusen	Sammelort	Salinität Sammelort	Sammeldatum
Ostsee-Medusen	Kiel/Strände (Deutschland)	15	Juni 2009
Nordsee-Medusen	Hebriden (Schottland, GB)	35	Juli 2009

### 2.1.2 Herkunft und Hälterung der Ephyren

Die Ephyren wurden von den Polypen durch Strobilation erzeugt. Die Ephyren wurden mit einer weitlumigen Pipette aus den Kulturen entnommen und in Glasschalen (250 mL) mit gefiltertem Seewasser der entsprechenden Salinitäten im Inkubator bei 10 °C gehältert. Bei einer mehr als einen Tag dauernden Hälterung der Ephyren wurden diese täglich mit *Artemia*-Nauplien gefüttert und nach ca. einer Stunde in Schalen mit frischem Seewasser umgesetzt.

### 2.1.3 Herkunft der Medusen

Die Medusen wurden während mehrerer Forschungsexpeditionen in den Jahren 2004-2009 mit der FS Heincke an den Küsten der Orkney-Inseln und der Äußeren Hebriden (Schottland) gesammelt. Die Tiere wurden mit Schöpfeimern (Volumen 10 L) von Schlauchbooten aus gefangen. Um einen Ablauf des Wassers während des Fangens der Medusen zu gewährleisten, waren Löcher in Wände und Böden der Eimer gebohrt worden, welche mit Nylonnetzen (Maschenweite 500 µm) abgedichtet waren. Direkt nach dem Fang wurde der Schirmdurchmesser der Medusen gemessen, die Tiere wurden nach ihren Schirmdurchmessern gruppiert und im Anschluss präpariert (s. Kapitel 2.3.1, S. 25). Weitere Tiere wurden 2009 in Kiel/Strände gesammelt (Dr. Sabine Holst). Im Jahr 2008 wurden von

Mitarbeitern des Helmholtz-Zentrums Geesthacht (Dr. Heike Helmholtz, Christiane Ruhnau, Dr. Jürgen Gandraß) Medusen im Hafen von Eckernförde gefangen. Diese Tiere wurden im Labor des Helmholtz-Zentrums Geesthacht präpariert.

#### 2.1.4 Variation biologischer und physikalischer Parameter

Um den Einfluss von biologischen und physikalischen Parametern auf die Nematocystenverteilung und -größe sowie auf die Proteininhaltsstoffe der Kapseln zu untersuchen, wurden die Tiere unterschiedlichen Umweltbedingungen ausgesetzt. Zum einen wurden Fütterungsexperimente mit Polypen und Meta-Ephyren (ca. vier Wochen alt) durchgeführt, zum anderen wurden Polypen, Ephyren und Medusen untersucht, die unterschiedlichen Salinitäten ausgesetzt waren. Im Folgenden werden die durchgeführten Experimente zur Futtermenge, Fütterungsfrequenz, Futterart und Variation der Hälterungssalinität verschiedener Entwicklungsstufen von *C. capillata* beschrieben.

##### Fütterungsexperimente mit Polypen: Futtermenge und Fütterungsfrequenz

Alle Polypen wurden bei 10 °C gehältert und mit frisch geschlüpften *Artemia*-Nauplien gefüttert. Die Polypen wurden über einen Zeitraum von zwei Monaten entweder oft (o = oft, alle zwei Tage) oder selten (s = selten, einmal pro Monat) gefüttert. Dabei wurde ein Überschuss *Artemia*-Nauplien (1 mL Seewasser mit einer hohen Dichte an Futtertieren) in die Wasserschalen mit den Polypen pipettiert (v = viel Futter) oder die Polypen wurden unter Benutzung eines Stereomikroskops einzeln mit ein bis zwei *Artemia*-Nauplien gefüttert (w = wenig Futter), die mit Hilfe einer Glaspipette direkt zum Mund der Polypen geführt wurden. Tabelle 2 zeigt die verschiedenen Versuchsgruppen, die sich durch die Kombination der Parameter Fütterungsfrequenz und Futtermenge ergaben.

**Tabelle 2:** Versuchsgruppen beim Fütterungsexperiment mit Polypen. Es ergaben sich durch die Kombination von unterschiedlichen Fütterungsfrequenzen und Futtermengen vier Fütterungsuntergruppen (o/v, o/w, s/v, s/w), o = oft, s = selten, v = viel, w = wenig.

	große Futtermenge	kleine Futtermenge
hohe Fütterungsfrequenz	o/v	o/w
niedrige Fütterungsfrequenz	s/v	s/w

Es ergaben sich vier verschiedene Fütterungsgruppen (Tab 2). Pro Fütterungsgruppe wurden die Nematocysten von neun oder zehn in Glycerin-gelatine fixierten Polypen untersucht.

### Fütterungsexperimente mit Meta-Ephyren: Futterart

Es wurden die Auswirkungen der Futterart auf die Entwicklung der Ephyren und ihrer Nematocysten untersucht.

In dem Versuch wurden zwei Gruppen von vier Wochen alten Meta-Ephyren in zwei 125 mL-Glasschalen mit Seewasser der Salinität 35 in einem Inkubator bei 10 °C gehältert. Die Tiere in den beiden Glasschalen erhielten unterschiedliches Futter: Eine Gruppe wurde täglich mit *Artemia*-Nauplien gefüttert, wobei die Meta-Ephyren nach ca. einer Stunde in frisches Wasser umgesetzt wurden. In die Glasschale der anderen Gruppe wurden junge, maximal eine Woche alte *Aurelia aurita*-Ephyren (Jellyplankton) als Futter gesetzt. Die *C. capillata*-Meta-Ephyren wurden alle zwei Tage in frisches Seewasser umgesetzt und neue Futterephyren zugegeben.

Der Fütterungsversuch wurde in dieser Form zwei Mal durchgeführt. Der erste Versuch hatte eine Dauer von 25 Tagen (12.10.-5.11.2009), dabei wurden vier (Gruppe „*Artemia*-Nauplien“) bzw. fünf (Gruppe „Jellyplankton“) *C. capillata*-Ephyren unter entsprechenden Bedingungen gehältert. Dieses Experiment wurde zu Erweiterung des Versuchsumfangs unter den gleichen Bedingungen mit weiteren Meta-Ephyren erneut ausgeführt. Die Dauer dieses zweiten Experiments betrug 31 Tage (06.04.2010-06.05.2010).

In Tabelle 3 sind die Hälterungsbedingungen sowie die verwendeten Bezeichnungen der einzelnen Versuchsgruppen zusammengefasst.

**Tabelle 3:** Übersicht über die im Fütterungsexperiment lichtmikroskopisch untersuchten Meta-Ephyren-Dauerpräparate. Es sind die Bezeichnungen angegeben, die im folgenden Text für die verschiedenen Proben verwendet werden.

Meta-Ephyren	Ephyren - Probenbezeichnung	aus Polypenkultur	Hälterungs- salinität
Fütterung mit <i>Artemia</i> -Nauplien	MetaE-Gr.Art.	verschiedene Kulturen Salinität 35	35
Fütterung mit Jellyplankton	MetaE-Gr.Jelly.		

### Unterschiedliche Salinitäten

Der Einfluss der Salinität auf die Nematocysten wurde bei Polypen und Ephyren untersucht. Es wurden Polypen in drei verschiedenen Salinitäten eingesetzt. Die Polypen in Kulturen der Salinität 15 und 20 (Ostsee) und der Salinität 35 (Nordsee).

Die Ephyren wurden nach Strobilation der Kulturpolypen gewonnen. Diese „Nordsee“- und „Ostsee“-Ephyren hatten bei der Glyceringelatine-Einbettung ein Alter von wenigen Tagen bis zu drei Wochen (Tab. 1, S. 17).

## **2.2 Methoden zur Nematocystenuntersuchung hinsichtlich Vorkommen und Morphologie**

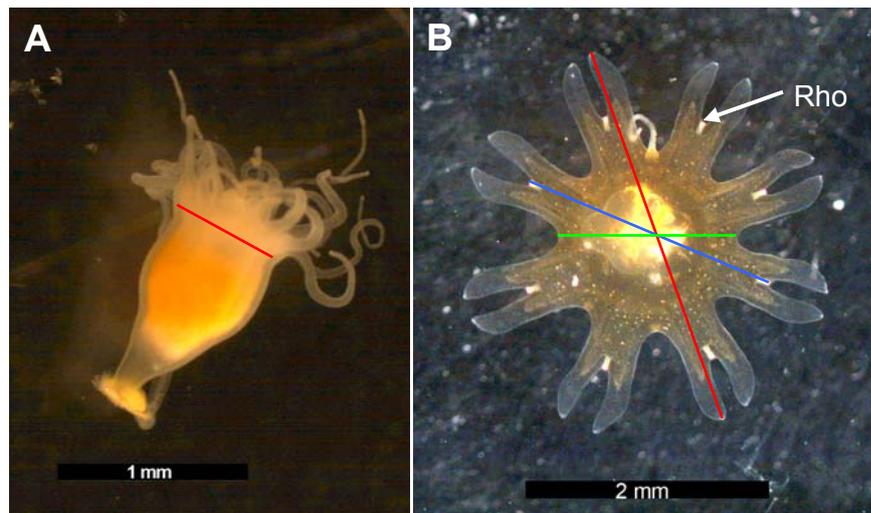
Im Folgenden werden die angewandten Methoden zur Untersuchung der Nematocystengröße, -anzahl und -verteilung im Gewebe erläutert. Des Weiteren werden die Separierung einzelner Kapseltypen mit LMPC sowie die massenspektrometrische Analyse des proteinären Inhaltes dieser Nematocysten mit Hilfe von MALDI-TOF-MS beschrieben.

### **2.2.1 Herstellung von Präparaten für die lichtmikroskopischen Analysen**

Für die Betrachtung der Verteilung, Häufigkeit und Größe der Nematocysten wurden Dauerpräparate angefertigt. Die Einbettung der Gewebeteile bzw. der Tiere erfolgte in Glyceringelatine. Vor der Präparation und Einbettung der Körperteile bzw. ganzer Tiere wurde die Größe der Tiere bestimmt.

Von den Medusen wurden nach Messung des Abstandes zwei gegenüber liegender Randlappen (Schirmdurchmesser) Gewebeproben von Tentakeln, Tentakelbasen, Mundarmen, Gastralfilamenten, Randlappen und Exumbrella genommen. Pro Körperteil einer Meduse wurde je ein Präparat angefertigt. Die Größenbestimmung der Polypen erfolgte unter dem Stereomikroskop (Olympus SZ 61) mit Hilfe eines mit einer Kamera (Altra20, Soft Imaging System, Olympus) aufgenommenen Fotos. Da auch bei Kontraktion des Polypenkörpers die ursprüngliche Größe des Tentakelkranzes relativ konstant bleibt, erfolgte die Vermessung Polypenkörpers (Calyx) im Bereich knapp unterhalb der Tentakel, um die Größen der Polypen miteinander vergleichen zu können (Abb. 9A). Dabei wurde die Breite des Calyx unterhalb der Tentakel des seitlich liegenden Polypen bestimmt. Anschließend wurden die Tiere mit einem Skalpell längs geteilt und die beiden Hälften unter leichtem Druck des Deckgläschens in einen Tropfen Glyceringelatine eingebettet. Es wurden zehn Polypen pro Untersuchungsgruppe analysiert.

Die Ephyren wurden als ganze Individuen in Glyceringelatine konserviert, nachdem der Abstand von einer Randlappenspitze zur gegenüber liegenden (Gesamtdurchmesser), der Abstand zweier gegenüber liegenden Rhopalien voneinander und die Adradialabstand vermessen worden war (Abb. 9B).



**Abbildung 9:** Vermessung von (A) Polypen und (B) Ephyren von *Cyanea capillata* vor der Präparation und der Fixierung in Glyceringelatine. (A) Vermessung des Polypenkörpers im Bereich unterhalb des Tentakelkranzes (roter Strich). (B) Vermessung der Ephyren. roter Strich: Abstand von einer Randlappenspitze zur gegenüber liegenden (Gesamtdurchmesser), blauer Strich: Abstand zweier gegenüberliegenden Rhopalien, grüner Strich: Adradialabstand, Rho: Rhopalium.

### 2.2.2 Messgrößen bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der Nematocysten

Die Untersuchung der Nematocysten erfolgte mit Hilfe von Fotos, die mit einer auf ein Lichtmikroskop montierten Kamera (Olympus BX 51) aufgenommen wurden. Die Vermessung der Nesselkapseln wurde mit der Software analySIS durchgeführt.

Es wurden die Länge und Breite der Nematocysten bestimmt. Daraus ergaben sich Längen-Breiten-Verhältnisse, die Aussagen über die Form der Kapseln möglich machten.

Aus den Abmessungen wurden außerdem die Volumina der Nematocysten mit der Formel  $V = 4/3 * \pi * a * b^2$  berechnet, wobei  $a$  = Radius der Kapsellänge und  $b$  = Radius der Kapselbreite ist (Colin & Costello 2007).

Neben der Vermessung der Nematocysten wurden außerdem ihre Verteilung und ihre relative Häufigkeit im Gewebe untersucht. Tabelle 4 listet die unterschiedlichen Zählweisen bzw. die Bezugsflächen der Nematocystenanzahl im Gewebe der Tiere in den verschiedenen Lebensstadien auf. Wenn die Nematocysten verteilt im Gewebe lagen, wurde zur Zählung ein Messraster angewandt. Dazu wurde ein Foto mit der auf das Lichtmikroskop montierten Kamera erstellt, ein Messraster mit einer Kantenlänge von 50  $\mu\text{m}$  in das Foto eingefügt und die Nematocysten in den einzelnen Quadraten gezählt.

**Tabelle 4:** Übersicht über Art der Auszählung der verschiedenen Nematocystentypen im Gewebe der Medusen, Polypen und Ephyren.

Lebensstadium	Körperteil	Zählweise - Nematocysten pro...
Polyp	Tentakel	Messraster (50 x 50 µm)
	Restpolyp	Messraster (50 x 50 µm)
Ephyre	Randlappen	Randlappenspitze
	Restephyre/Mundrohr	Messraster (50 x 50 µm)
	Mundlappen	Messraster (50 x 50 µm)
Meduse	Tentakel	Batterie
	Tentakelbasis	Messraster (50 x 50 µm)
	Mundlappen	a) Messraster (50 x 50 µm) b) Batterie
	Gastralfilamente	Messraster (50 x 50 µm)
	Randlappen	Messraster (50 x 50 µm)
	Exumbrella	a) Messraster (50 x 50 µm) b) Batterie

### 2.2.3 Vergleiche der Untersuchungsgruppen

Die Nematocysten wurden hinsichtlich ihrer Morphologie (Länge, Breite, Länge-Breiten-Verhältnis) und Verteilung im Gewebe der Versuchstiere verglichen. Tabelle 1 (S. 17) fasst zusammen, welche Präparate ausgewertet wurden und aus welchen Herkunftsgebieten die Medusen stammten bzw. wie die Hälterungsbedingungen der Polypen und Ephyren waren.

Die Proben wurden auf verschiedenen Ebenen verglichen. Auf der ersten Ebene (Gewebe) erfolgten Vergleiche jeweils innerhalb einer Versuchsgruppe. Dabei wurden die Nesselkapseln der verschiedenen Körperteile des Tieres einander gegenübergestellt. So wurde beispielsweise in Medusen die Größe der Eurytelen in den Tentakeln mit der Größe der Eurytelen in den Mundlappen verglichen.

Auf der zweiten Ebene wurden Unterschiede innerhalb eines Lebensstadiums (Polyp, Ephyre, Meduse) untersucht. Dabei wurden z. B. die Nesselkapseln von jungen und älteren Ephyren analysiert.

Die dritte Ebene der Untersuchungen umfasste Stadien übergreifende Vergleiche. Es wurde untersucht, ob sich die Nesselkapseln in verschiedenen Lebensstadien (Polyp, Ephyre, Meduse) in vergleichbaren Körperteilen unterscheiden, z. B. die der Nematocysten in den Tentakeln der Polypen und die in den Tentakeln der Medusen (Tab. 5).

**Tabelle 5:** Übersicht über die in den Lebensstadien übergreifenden Untersuchungen der Nematocystengrößen und -verteilungen vorgenommenen Vergleiche.

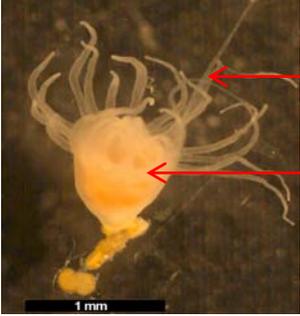
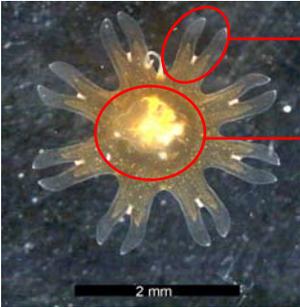
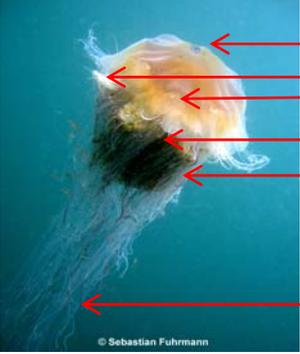
untersuchter Nematocystentyp	Lebensstadien - Vergleiche	untersuchte Körperteile
Eurytelen	Polyp - Meduse	Tentakel und Tentakelbasis
a-Isorhizen	Ephyre - Meduse	Randlappen
	Polyp - Epyhre	Tentakel
	Polyp - Epyhre	Restgewebe
	Polyp - Meduse	Tentakel und Tentakelbasis
O-Isorhizen	Ephyre - Meduse	Randlappen
	Polyp - Epyhre	Restgewebe

Um die Reaktion einzelner Lebensstadien (Polyp, Ephyre) auf sich ändernde Umweltbedingungen zu testen, wurden die Hälterungsbedingungen wie in Kapitel 2.1.4 (S. 18) beschrieben variiert. Als Vergleichparameter dienten wie auf allen vorher beschriebenen drei Ebenen die Größen und die Verteilung der Nematocysten.

### 2.2.3.1 Nematocysten in verschiedenen Körperregionen innerhalb eines Lebensstadiums

Zunächst wurde untersucht, ob sich die Nematocysten in den unterschiedlichen Körperregionen gleicher Lebensstadien der Tiere voneinander unterscheiden. Dazu wurden die Längen und Breiten sowie die Verteilung der Kapseln im Gewebe der präparierten Tiere ausgewertet. Die lichtmikroskopisch untersuchten Körperteile der verschiedenen Lebensstadien von *C. capillata* sind in Tabelle 6 aufgelistet.

**Tabelle 6:** lichtmikroskopisch untersuchte Körperteile in verschiedenen Lebensstadien von *Cyanea capillata*.

Lebensstadium	Untersuchte Körperregionen
<p style="text-align: center;"><b>Polypen</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Tentakel</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Polypenkörper</b></p>
<p style="text-align: center;"><b>Ephyren</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Randlappen</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Restephyre mit Mundrohr</b></p>
<p style="text-align: center;"><b>Medusen</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Exumbrella</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Randlappen</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Gastralfilamente (im Gastralraum)</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Mundlappen</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Tentakelbasis</b></p> <p style="text-align: center;"><b>Tentakel</b></p>

In den Präparaten der Polypen wurden die Nematocysten in den Tentakeln mit denen im Polypenkörper verglichen. Bei den Ephyren wurden die Nematocysten in den Randlappen denen im Gewebe der Restephyre und des Mundrohrs gegenübergestellt. Bei der Untersuchung der Medusen wurde zwischen fünf bis sechs zu untersuchenden Körperteilen unterschieden und die Nematocysten dieser miteinander verglichen.

### **2.2.3.2 Vergleich verschieden großer Tiere und in unterschiedlichen**

#### **Entwicklungsstadien**

Es wurden neun Medusen (Schirmdurchmesser 10-20 cm, durchschnittlicher Schirmdurchmesser 14,8 cm), die im Juli 2009 während einer Forschungsreise an den Äußeren Hebriden (Schottland) gesammelt worden waren mit einer großen Meduse mit großem Schirmdurchmesser von 55 cm verglichen (Tab. 1, S. 17).

Junge Ephyren (maximal eine Woche) wurden mit älteren Ephyren (zwei bis drei Wochen) verglichen. Die Hälterung erfolgte wie unter Kapitel 2.1.2 (S. 17) und die Präparation wie unter Punkt 2.2.1 (S. 20) beschrieben.

### **2.2.3.3 Lebensstadien übergreifender Vergleich**

In einer Lebensstadien übergreifenden Untersuchung wurden die Nesselkapseltypen von Polypen, Ephyren und Medusen in funktionell gleichen Körperteilen der Tiere miteinander verglichen.

Dazu wurden Dauerpräparate von Polypen aus Kultur (Hälterungssalinität 35, Temperatur 10 °C) und von Ephyren dieser Polypen untersucht. Es wurden unterschiedlich alte Ephyren in die Vergleiche einbezogen. Außerdem wurden Ephyren untersucht, die von Polypen aus einer Salinität 15 stammten (Ostsee-Ephyren). Des Weiteren wurden unterschiedliche Medusen (Nord- und Ostsee) in die Lebensstadien übergreifenden Vergleiche aufgenommen (s. Tab. 1, S. 17).

## **2.3 Methoden zur Untersuchung des Kapselinhaltes**

Im Folgenden werden die angewandten Methoden zur Untersuchung des Nematocysteninhaltes dargestellt und erläutert.

### **2.3.1 Herstellung von Kapselsuspensionen**

Um die verschiedenen Nematocystentypen mit LMPC separieren zu können, wurden diese zunächst aus dem Gewebe intakt herausgelöst und gereinigt. Dabei wurde bei allen Lebensstadien mit destilliertem Wasser gearbeitet.

Die Kapselsuspensionen aus Medusen wurden während der Schiffskampagnen mit der FS Heincke direkt vor Ort an Bord in einem dafür eingerichteten Labor hergestellt. Nach Fang der Medusen und Vermessung der Schirmdurchmesser wurden die Mundlappen und die Tentakel abgeschnitten und getrennt voneinander gesammelt. Dabei wurde das Tentakel- bzw. Mundlappenmaterial der Medusen einer Größenklasse vereint. Die Proben wurden zehn bis zwölf Stunden in destilliertem Wasser auf Eis gerührt, wobei das Verhältnis

organischen Materials zu destilliertem Wasser 1:3 bis 1:5 betrug. Nach dem Rühren wurde das Material durch ein Nylonsieb (Maschenweite 500  $\mu\text{m}$ ) gegeben, um die Mesogloea abzutrennen. Das Filtrat wurde bei 1140 g 5 min bei 4 °C zentrifugiert. Das verbleibende Sediment wurde mehrfach mit steril filtriertem Seewasser gewaschen und die Proben in Form von aufkonzentrierten Nesselkapseln anschließend bei -80 °C gelagert (Helmholz et al., 2007 Helmholz et al. 2010).

Vor der Separierung der Nematocysten mit LMPC wurde die Suspension noch einmal nachbearbeitet, um einen noch größeren Teil der Nematocysten ohne unerwünschte Gewebereste zu gewinnen. Die Proben wurden auf Eis aufgetaut und ca. 0,5 mL der Suspension entnommen. Nach Überführung der Probe in ein 1,5 mL Eppendorf-Gefäß und Zugabe von 1 mL destilliertem Wasser wurde das Gefäß mit Parafilm abgedichtet und in einem 50 mL Sarstedt-Röhrchen fixiert. Die Probe wurde für ca. 24 Stunden auf einem Rollermixer in einem Klimaraum (4 °C) gedreht und leicht geschwenkt. Anschließend wurde die Probe zentrifugiert (1140 g, 4 °C, 5 min), drei bis vier Mal mit steril filtriertem (Porengröße des Filters: 0,2  $\mu\text{m}$ ) Seewasser gewaschen und bis zur Verwendung bei -80 °C gelagert (Wiebring et al. 2010a).

Bei der Herstellung von Kapselsuspensionen aus Polypen und Ephyren wurde wie bereits unter Punkt 2.3.1 beschrieben verfahren. Es wurde ein Rollermixer verwendet, um die Probe schonend zu bewegen und die Nematocysten so aus dem Gewebe der Polypen und Ephyren herauszulösen. Um ein geeignetes Verhältnis zwischen organischem Material und destilliertem Wasser zu gewährleisten, wurden maximal zehn Polypen bzw. Ephyren pro 1,5 mL Eppendorfgefäß in destilliertem Wasser 15 bis 20 Stunden in einem klimatisierten Raum (4 °C) mazeriert. Nach Zentrifugation (1140 g 5 min bei 4 °C) und drei- bis viermaligen Waschen des Sediments mit steril filtriertem Seewasser, wurde die Probe bis zur Verwendung bei -80 °C gelagert.

### **2.3.2 Separierung von Nematocysten (LMPC)**

Aus den Nematocystensuspensionen, die aus einer Mischung verschiedener Kapseltypen bestand, wurden die einzelnen Kapseln mit Hilfe von LMPC isoliert.

Die Methode der Mikrodissektion und des Katapultierens einzelner Zellen aus einer Mischprobe heraus, so wie sie in dieser Arbeit angewandt wurde, ist im Vorfeld im Zuge einer Diplomarbeit entwickelt und den speziellen Gegebenheiten der verwendeten Proben angepasst worden (Wiebring 2008, Wiebring et al. 2010a, Wiebring et al. 2010b).

Die Kapselsuspension wurde zunächst auf Eis aufgetaut und zentrifugiert (1140 g, 4 °C, 5 min). Dabei entstand ein an die Wand des Eppendorfgefäßes angelagertes Pellet (Abb. 10).

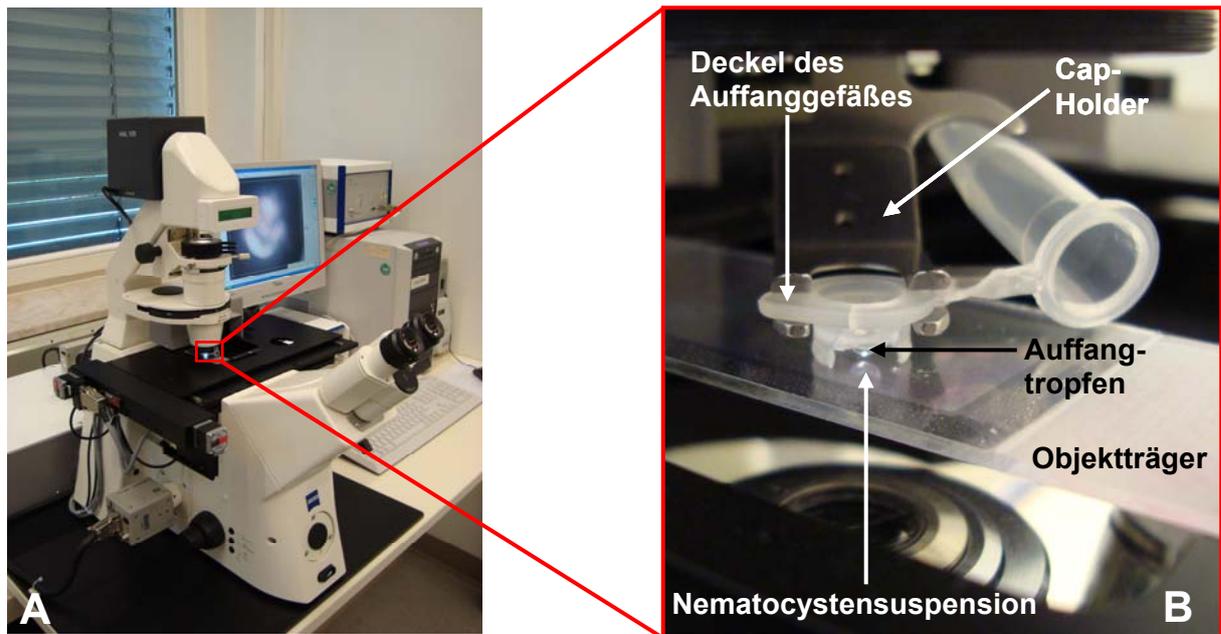


**Abbildung 10:** Pellet einer Nematocystensuspension nach Zentrifugation.

Mit Hilfe einer Hamiltonspritze (7002 N, Volumen 2  $\mu\text{L}$ ) wurden unter vorsichtigem Schaben an der Gefäßwand 2  $\mu\text{L}$  des Pellets entnommen und auf einen speziellen, mit einer UV-Licht absorbierenden Folie beschichteten Objektträger (PALM® MembraneSlide, PEN-Membran) gegeben. Anschließend erfolgte eine Zugabe von 0,2  $\mu\text{L}$  einer 1%igen Octyl- $\beta$ -D-Glucopyranosidlösung (0,5 g gelöst in 50 mL destilliertem Wasser). Dieses Tensid erniedrigte die Oberflächenspannung des Wassers in der Kapselsuspension und ermöglichte das Herauskatapultieren der Nematocysten. Zum Auffangen der Nematocysten wurde ein 3  $\mu\text{L}$  Tropfen destillierten Wassers in die Mitte des Deckels eines LPC-Microfuge-Gefäßes pipettiert und dieses Auffanggefäß im CapHolder platziert.

Auf Grund der zuvor durchgeführten Reinigungsschritte und der geringen Größe der Nematocysten konnte auf das Schneiden (Laser Mikrodisektion) verzichtet werden. Einzelne Kapseln wurden direkt ausgewählt, katapultiert und im Auffanggefäß gesammelt. Die Lagerung erfolgte bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

In Abbildung 11A ist der Versuchsaufbau dargestellt. Für die Detailaufnahme (Abb. 11B) wurde ein Teil des Deckels des Auffanggefäßes herausgeschnitten, um den Auffangtropfen sichtbar zu machen. Die Nematocystensuspension befindet sich auf dem Objektträger unter dem Auffangtropfen.



**Abbildung 11:** Versuchsaufbau LMPC: (A) Gesamtübersicht über das Mikroskop und (B) Detailaufnahme des Versuchsaufbaus.

Eine Herausforderung der Probenbearbeitung mit LMPC bestand darin, dass die Kapselsuspension einen hohen Wasseranteil enthielt, was ein Herauskatapultieren der Nematocysten erschwerte. Daher musste vor dem Beginn des Katapultierens eine ausreichende Verdunstung des Seewassers erfolgen. Ein zu starkes Austrocknen der Probe wiederum führte zum Auskristallisieren des Meersalzes, welches ein Katapultieren der Nematocysten unmöglich machte. Die Kapselsuspension auf dem Objektträger konnte durch Zugabe von  $0,3 \mu\text{L}$  destillierten Wassers wieder angefeuchtet werden, um weitere Nematocysten zu separieren. Dieser Vorgang konnte zwei bis drei Mal mit demselben Probepunkt wiederholt werden, danach musste ein neuer Tropfen der Kapselsuspension aufgetragen werden.

Die Laserstärke wurde während des Katapultierens der Nematocysten zum einen an die Größe der Kapseln und zum anderen an den Trocknungsgrades der Probe angepasst. Sie lag bei den kleineren a-Isorhizen zwischen 50 und 55 % und bei größeren Kapseltypen wie den A-Isorhizen zwischen 60 und 65 %. Es wurde mit einem konstanten Laserfokus von 65 gearbeitet.

Der Auffangtropfen wurde, wenn er nicht benötigt wurde, bei  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  kurzzeitig zwischengelagert, um die Verdunstung zu vermindern. Die Zeitspanne, in der Nematocysten aus der Suspension herauskatapultiert und in einem Auffangtropfen hineinkatapultiert werden konnten, wurde durch das Verdunsten des Auffangtropfens begrenzt und betrug ca. eine Stunde. Bei einer geringen Anzahl im Auffangtropfen gesammelter Nematocysten war eine Vereinigung mehrerer Auffangtropfen notwendig, um eine ausreichende Ausbeute für die anschließende MALDI-TOF-MS-Untersuchung bereitzustellen. Die Anzahl der

gesammelten Nematocysten lag in den Versuchsgruppen der Polypen bei durchschnittlich 150 Kapseln pro Probe, bei den unterschiedlichen Untersuchungsgruppen der Medusen umfassten die Proben jeweils rund 200 Nematocysten. Die Kontrolle der Anzahl der Nematocysten im Auffangtropfen erfolgte lichtmikroskopisch.

### 2.3.3 Untersuchung des Proteininhaltes der Nematocysten mit MALDI-TOF-MS

Die Inhaltsstoffe der Nematocysten von Polypen und Medusen wurden massenspektrometrisch mit MALDI-TOF analysiert. Innerhalb des Lebensstadiums der Polypen wurden zum einen Tiere aus verschiedenen Hälterungssalinitäten (20 und 35) untersucht und zum anderen Polypen, die zuvor einem Fütterungsversuch (Kapitel 2.1.4, S. 18) unterzogen worden waren. Tabelle 7 gibt die verschiedenen Versuchsgruppen der Polypen wieder, deren proteinärer Kapselinhalt massenspektrometrisch analysiert wurde.

**Tabelle 7:** Massenspektrometrische Analyse der Inhaltsstoffe mit MALDI-TOF. Untersuchte Gruppen innerhalb des Lebensstadiums Polyp.

Parameter	Variablen
Salinität	20
	35
Fütterungs- frequenz	o/v
	s/v

Zu den Untersuchungsgruppen der Medusen zählten Tiere verschiedener Größen und von verschiedenen Fangorten (Tabelle 8).

**Tabelle 8:** Massenspektrometrische Analyse der Inhaltsstoffe mit MALDI-TOF. Untersuchte Gruppen innerhalb des Lebensstadiums Meduse.

Medusen	Ø Schirmdurchmesser [cm]	kleinste-größte Meduse	Medusenanzahl	Sammeldatum	Sammelort	Salinität Fang-Ort
kleine Nordsee-Medusen	9	8-10	3	Juni 2006	Orkney Inseln (Schottland, GB)	35
	8	6-10	44	Juni 2007		
mittelgroße Nordsee-Medusen	24	16-31	7	Juni 2005		
	13	11-20	48	Juni 2007		
	20	18-23	4	Juli 2009		
große Nordsee-Medusen	36	36-42	8	Juni 2005	Äußere Hebriden (Schottland, GB)	
	1	55	1	Juli 2009		
	33	30-35	5	Juni 2005		
kleine Ostsee-Medusen	6	4-11	12	Juni 2009	Kiel/Strände (Deutschland)	15
große Ostsee-Medusen	21	11-28	72	September 2008	Eckernförde - Hafen (Deutschland)	20

Die Messungen erfolgten mit dem Ultraflex II TOF/TOF-MS im positiven, linearen Modus. Zur Steuerung des Gerätes und für die Annotierung der Massen wurden die Software FlexControl 3.0 bzw. FlexAnalysis 3.0 benutzt.

Als MALDI-Target wurden in eine Halterung gespannte Glasträger (75 x 25 x 0,9 mm) verwendet (Abb. 12). Die Glasträger waren einseitig mit einer elektrisch leitenden Oberfläche beschichtet. Des Weiteren wurde ein AnchorChip™ 800/384 T F als Probenträger benutzt. Die externe Massenkalisierung erfolgte mit dem Proteinstandard I (Bruker: Insulin [M+H]<sup>+</sup> 5 735 Da; Ubiquitin [M+H]<sup>+</sup> 8 566 Da; Cytochrom C [M+H]<sup>+</sup> 12 361 Da; Myoglobin [M+H]<sup>+</sup> 16 953 Da; Cytochrom C [M+2H]<sup>2+</sup> 6 181 Da; Myoglobin [M+2H]<sup>2+</sup> 8 476 Da).

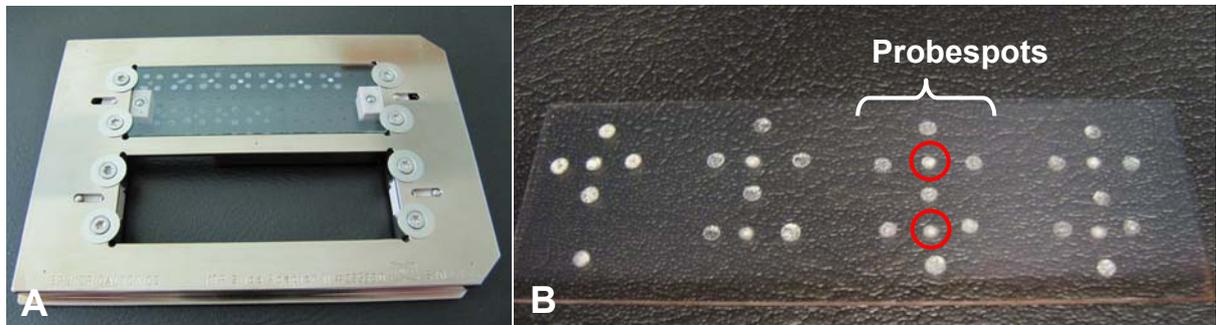
Die als MALDI-Matrix verwendete Sinapinsäure (SA, 4-Hydroxy-3,5-dimethoxyzimtsäure) war eine gesättigte Lösung, bei der als Lösungsmittel eine 1:1 (v:v) Lösung aus Acetonitril (ACN) und 0,1%iger Trifluoressigsäure (TFA) benutzt wurde.

Die Vermischung der Nematocysten mit der Matrix erfolgte im Auffanggefäß, in dessen Deckel zuvor die Kapseln gesammelt worden waren. 3 µL der Matrix wurden in der Spitze des Auffanggefäßes vorgelegt und der Auffangtropfen mit den separierten Nematocysten in die Matrix hineinzentrifugiert (1140 g, 4 °C, 5 min). Das Nematocysten-Matrix-Gemisch wurde im nächsten Schritt auf das Glastarget übertragen (Abb. 12A).

Wenn die zu untersuchenden Nematocysten einer Probe in mehreren Auffangtropfen gesammelt worden waren, wurden diese zunächst vereinigt. Dies geschah durch das Aufsetzen der einzelnen Auffangdeckel auf ein Eppendorfgefäß und das Sammeln der Auffangtropfen mit den enthaltenen Nematocysten in diesem Gefäß. Als nächstes wurden 3 µL der Matrix (SA) zugegeben und das Nematocysten-Matrix-Gemisch auf das Glastarget pipettiert. Das Gesamtvolumen der Proben (Auffangtropfen mit Nematocysten + Matrix) lag zwischen 4 µL und 8 µL. Da die einzelnen Probespots, die auf das Target pipettiert wurden,

jeweils ein Volumen von 1  $\mu\text{L}$  hatten, ergaben sich pro Probe mehrere Probespots auf dem Target (Abb. 12B).

Nach Kristallisation der Probe wurde das Target in die Ionenquelle eingeschleust und die Detektion durchgeführt.



**Abbildung 12:** Glastarget für MALDI-TOF-MS Analyse: (A) MTP Slide Adapter II mit einem Glastarget und (B) separates Glastarget mit kristallisierten Proben- und Matrixspots. geschweifte Klammer: 7 Probespots einer Probe, roter Kreis: Matrixspot.

## 2.4 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Software WinSTAT (Zusatzfunktion für Microsoft<sup>®</sup> Excel). Mit ihr wurden der Median und die 10 %- und 90 %-Perzentile als Maß für die Streuung der Daten berechnet. Die angegebenen Perzentile sind die Werte, unterhalb bzw. oberhalb derer die 10 % kleinsten bzw. 10 % größten Werte der Stichprobe liegen.

Zum Vergleich der Nematocystengrößen und -anzahl in den Geweben wurden der Mann-Whitney-U-Test (parameterfrei, Vergleich zweier Stichproben) und der Kruskal-Wallis-H-Test (parameterfrei, Vergleich von mehr als zwei Stichproben) benutzt. Als Testgrößen werden in der vorliegenden Arbeit die U- bzw. H-Werte, die Freiheitsgrade (FG) und die Gesamtstichprobengröße (GS) in der Form  $U_{FG, GS}$  bzw.  $H_{FG, GS}$  angegeben.

Als Post-hoc-Test wurde der Scheffé-Test angewandt, mit dem Vergleiche mehrerer unterschiedlich großer Stichproben vorgenommen wurden.

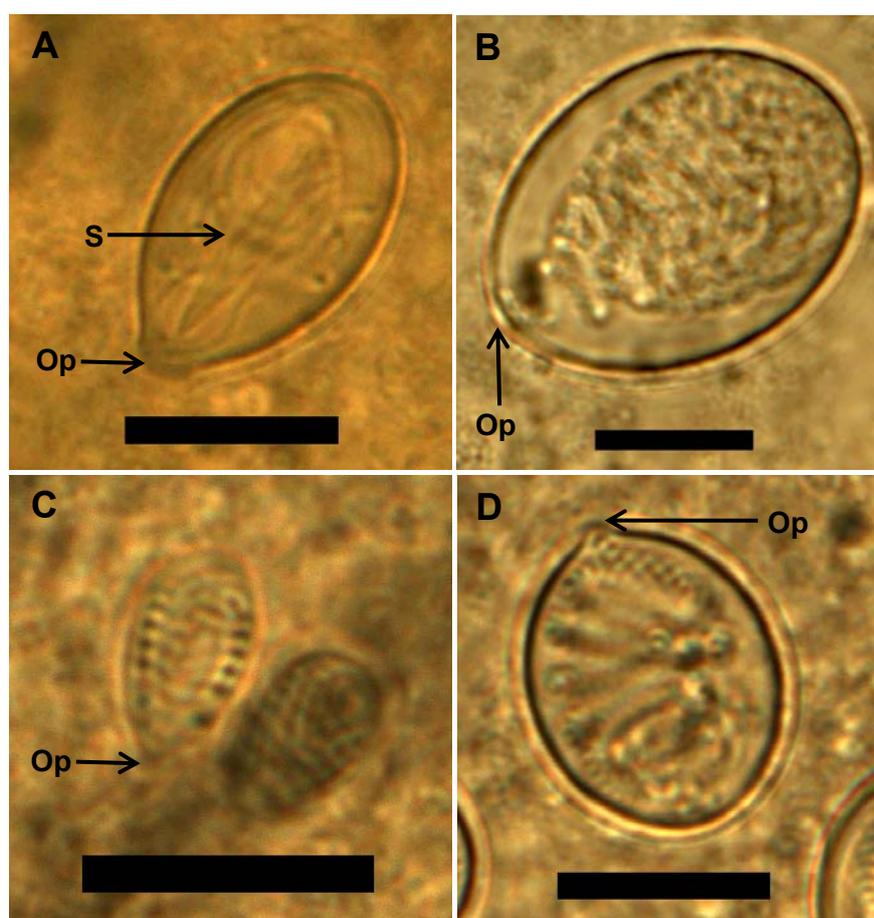
Die Unterschiede wurden als signifikant gewertet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit  $P < 0,05$  war.



### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Identifizierung der verschiedenen Nematocystentypen

In allen untersuchten Dauerpräparaten und Kapselsuspensionen aller Lebensstadien wurden maximal zwei Kategorien von Nematocysten identifiziert, heterotriche mikrobasische Eurytelen und homotriche Isorhizen. In der Gruppe der Isorhizen wurden drei Untertypen von Nematocysten unterschieden, A-, a- und O-Isorhizen. In Abbildung 13 sind lichtmikroskopische Aufnahmen der vier verschiedenen im Gewebe von *C. capillata* identifizierten Nesselkapseltypen abgebildet.



**Abbildung 13:** Nematocystentypen in Gewebe von Medusen: Eurytele (A), A-Isorhize (B), a-Isorhize (C), O-Isorhize (D). Op: Operculum, S: Schaft des Nesselfadens, Maßstab: 10  $\mu$ m.

Die Eurytelen (Abb. 13A) waren längliche Nesselkapseln mit einem deutlich zu erkennenden Schaft am Nesselstift. Die Isorhizen hatten einen einfachen Nesselstift, der keinen abgesetzten Schaft aufwies. Die drei Isorhizentypen waren durch die Art der Fadenwicklung und die Form der Kapsel zu unterscheiden. Die A-Isorhizen (Abb. 13B) waren länglich bis rund und durch die unregelmäßige Fadenwicklung gekennzeichnet. In den a-Isorhizen (Abb. 13C) war der Nesselstift regelmäßig gewunden, so dass sich bei der lichtmikroskopischen Untersuchung eine Art Streifenmuster in der Nematocyste ergab. Die O-Isorhizen (Abb. 13D)

waren runde Kapseln mit einem deutlich hervortretenden Operculum sowie einem locker und unregelmäßig in der Kapsel liegende Nesselfaden.

### 3.2 Lichtmikroskopische Untersuchungen der Nematocysten

Die lichtmikroskopische Untersuchung der Dauerpräparate diente zur Untersuchung der Verteilung der Nematocysten im Gewebe der Tiere und zu den Messungen der Kapsellängen und -breiten.

In den folgenden Kapiteln sind der Median der Nematocystenmaße und in Klammern die Perzentile 10 % und 90 % angegeben. Außerdem werden die Längen-Breiten-Verhältnisse der Nematocysten aufgeführt. Die Ergebnisse der statistischen Vergleiche der Nematocysten verschiedener Versuchsgruppen werden in den entsprechenden Unterkapiteln dargestellt.

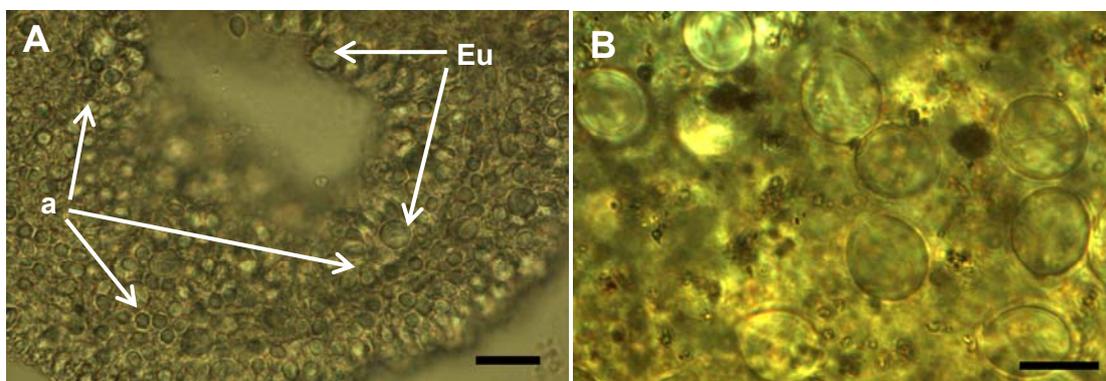
#### 3.2.1 Nematocysten in verschiedenen Körperteilen

Auf der ersten Ebene wurden die Nematocysten verschiedener Körperteile innerhalb eines Lebensstadiums untersucht (Tab. 6, S. 24). Im Folgenden werden die Ergebnisse der Auswertung der Dauerpräparate von Polypen, Ephyren und Medusen aufgeführt.

##### 3.2.1.1 Nematocysten im Gewebe der Polypen

Die Untersuchung der Nematocystenverteilung in den Polypen erfolgte mit Hilfe der Auszählung von je fünf Quadraten (50x50 µm) in den Tentakeln und im restlichen Polypenkörper (Restpolyp).

Die in den Polypen (Salinität 35) gefundenen Kapseltypen waren Eurytelen, a- und O-Isorhizen. Abbildung 14 zeigt lichtmikroskopische Aufnahmen der Tentakel (14A) mit einer hohen Dichte der a-Isorhizen und O-Isorhizen im Gewebe des Restpolypen (14B).



**Abbildung 14:** Nematocysten im Gewebe von Polypen (Hälterungssalinität 35, 10 °C): (A) Tentakel mit Eurytelen und a-Isorhizen, Maßstab 20 µm. (B) Restpolyp mit Eurytelen, Eu = Euytelen, a = a-Isorhizen, Maßstab 10 µm.

In den Tentakeln waren die a-Isorhizen stark dominierend (Tab. 9). Sie lagen in einer Dichte von 14 (6; 28) Kapseln pro Zählquadrat im Gewebe vor. In den Längen der ausgestreckten Tentakel lagen vereinzelt Eurytelen, jedoch in so geringer Zahl, dass der Median 0 (0; 1) betrug. Im Gewebe des Restpolypen dominierten Eurytelen mit einer durchschnittlichen Anzahl von 2 (1; 3) Kapseln pro ausgezähltem Quadrat.

**Tabelle 9:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von Polypen. a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. \* $P < 0,05$ .

Kapseltyp	Tentakel Anzahl/Quadrat	Restpolyp Anzahl/Quadrat
Eu	<b>0</b> (0; 1)	<b>2</b> (1; 3)
a	<b>14</b> (6; 28)	<b>0</b> (0; 1)
O	-	<b>0</b> (0; 1)

Es waren vereinzelt a-Isorhizen im Restpolypen zu finden. In einem der zehn untersuchten Präparate dominierten die O-Isorhizen mit 3 (1; 4) Kapseln pro Zählquadrat gegenüber den Eurytelen, die in allen Präparaten einen Gesamtdurchschnitt 2 (1; 3) Kapseln pro Zählquadrat hatten. Der Gesamtmedian der O-Isorhizen betrug auf Grund der geringen Gesamtanzahl gerechnet auf alle Präparate jedoch 0 Nematocysten (0; 1).

Die Größen von bis zu zehn Kapseln pro Kapseltyp und Körperregion wurden bestimmt. Bei der Vermessung der Größe der Nematocysten wurden die in Tabelle 10 aufgeführten Werte für die Länge und die Breite der verschiedenen Kapseltypen bestimmt.

**Tabelle 10:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Polypen (Hälterungssalinität 35). a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen \* $P < 0,05$ .

Kapseltyp	Körperteil					
	Tentakel			Restpolyp		
	Länge	Breite	Länge/Breite	Länge	Breite	Länge/Breite
Eu	<b>12,9</b> (11,8; 13,2)	<b>10,2</b> (9,6; 10,8)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>13,0</b> (12,1; 14,5)	<b>10,2</b> (9,6; 10,8)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)
a	<b>*7,4</b> (6,8; 8,3)	<b>*4,6</b> (4,3; 5,0)	<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>*6,8</b> (4,9; 7,5)	<b>*4,2</b> (3,5; 4,7)	<b>1,6</b> (1,5; 1,8)
O	-	-	-	<b>11,6</b> (10,3; 12,6)	<b>9,8</b> (9,1; 11,4)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)

Die Eurytelen waren die längsten und breitesten Nematocysten in den Polypen. Die O-Isorhizen zeigten ein niedriges Längen-Breiten-Verhältnis, was eine runde Form dieses Kapseltyps widerspiegelte. Die a-Isorhizen waren mit einer Länge von ca. 7  $\mu\text{m}$  die kleinsten Nematocysten im Polypengewebe.

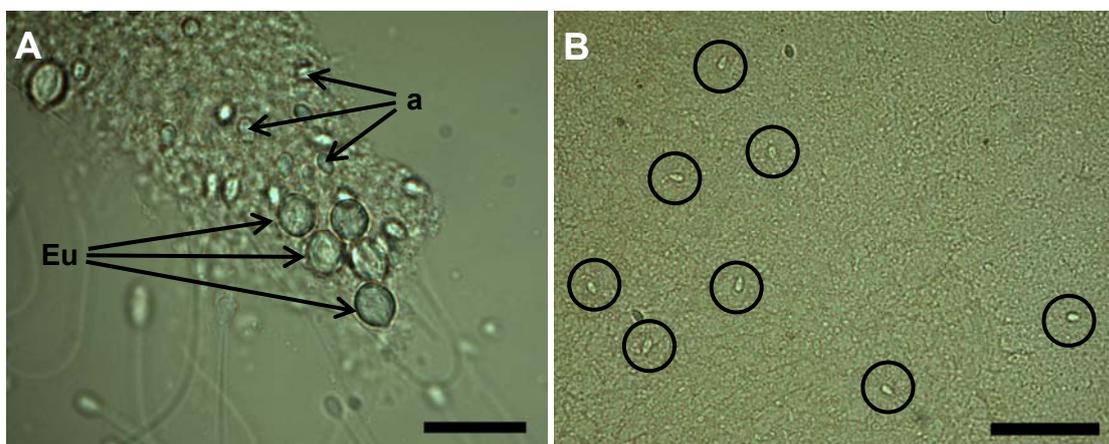
Die Nematocystengrößen der Tentakel wurden mit denen des Polypenkörpers verglichen. Die Größenunterschiede der Eurytelen in den Tentakeln und im Polypenkörper waren nicht signifikant, wohingegen die  $\alpha$ -Isorhizen in den Tentakeln signifikant länger ( $H_{5, 357} = 85,13$ ) und signifikant breiter ( $H_{5, 357} = 85,03$ ) waren als die, die im Polypenkörper gefunden wurden.

### 3.2.1.2 Nematocysten im Gewebe der Ephyren

Die Polypen erzeugten durch Strobilation Ephyren, welche in den Frühjahrs- bis Sommermonaten (April-Juli) erfolgte.

Als Referenzprobe zum Vergleich von Nematocysten im Lebensstadium Ephyre wurden sieben Präparate der jungen Ephyren herangezogen, die bei der Präparation maximal eine Woche alt waren. Es wurden jeweils die Gesamtzahl der Nematocysten pro Randlappenspitze sowie die Nematocystenzahl in bis zu zehn Quadraten pro Ephyre bestimmt.

In den Ephyren waren Eurytelen, A-,  $\alpha$ - und O-Isorhizen im Gewebe vorhanden. In Abbildung 15A ist eine Randlappenspitze einer Ephyre mit  $\alpha$ -Isorhizen und Eurytelen gezeigt. In den Spitzen der Randlappen der Ephyren waren kleine Ansammlungen von durchschnittlich 2 (0; 4) Eurytelen pro Randlappenspitze zu sehen. Weiter innen, auf Höhe der Rhopalien bis hin zur Mitte des Tieres, wurden vereinzelt O-Isorhizen gefunden. Der dominierende Kapseltyp in den Randlappen war jedoch die  $\alpha$ -Isorhize, die gleichmäßig im Gewebe verteilt war.



**Abbildung 15:** Nematocysten im Gewebe von Ephyren (maximal eine Woche alt): (A) Randlappenspitzen mit Eurytelen und  $\alpha$ -Isorhizen, Maßstab 50  $\mu\text{m}$ . (B) Restephyre mit  $\alpha$ -Isorhizen, Eu = Eurytelen, a =  $\alpha$ -Isorhizen, schwarze Kreise:  $\alpha$ -Isorhizen, Maßstab 50  $\mu\text{m}$ .

Die Kapseldichte im Gewebe der Restephyre und des Mundrohrs war insgesamt geringer als in den Randlappen. Der dominierende Nematocystentyp war auch hier die  $\alpha$ -Isorhize, wie Abbildung 15B verdeutlicht. In drei der sieben untersuchten Präparate wurden A-Isorhizen

gefunden. Auch die anderen beiden größeren Kapseltypen, die O-Isorhizen und die Eurytelen, waren im Gewebe vorhanden.

Die a-Isorhizen hatten mit einem Wert von 8 (5; 15) eine größere Dichte in den Randlappen als im Restephyren- bzw. Mundrohrgewebe, in dem durchschnittlich 2 (0; 6) a-Isorhizen pro Zählquadrat gefunden wurden. Die Anzahl der a-, A- und O-Isorhizen waren so gering, dass sich jeweils ein Median von 0 für diese Nematocystentypen ergab (Tab. 11).

**Tabelle 11:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten pro Zählquadrat in verschiedenen Körperteilen von Ephyren (eine Woche alt, Salinität 35). a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. \* $P < 0,05$ .

Kapseltyp	Randlappen		Restephyre Anzahl/Quadrat
	Anzahl/ Randlappenspitze	Anzahl/Quadrat	
Eu	<b>2</b> (0; 4)	-	<b>0</b> (0; 0)
a	-	<b>8</b> (5; 15)	<b>2</b> (0; 6)
O	-	-	<b>0</b> (0; 0)

Es wurden bis zu zehn Nematocysten pro Ephyre und Körperregion vermessen. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Eurytelen und den a-Isorhizen der Randlappen und der Restephyre mit Mundrohr (Tab. 12). In den Ephyren unterschieden sich die gleichen Kapseltypen in den beiden untersuchten Geweben also nicht voneinander.

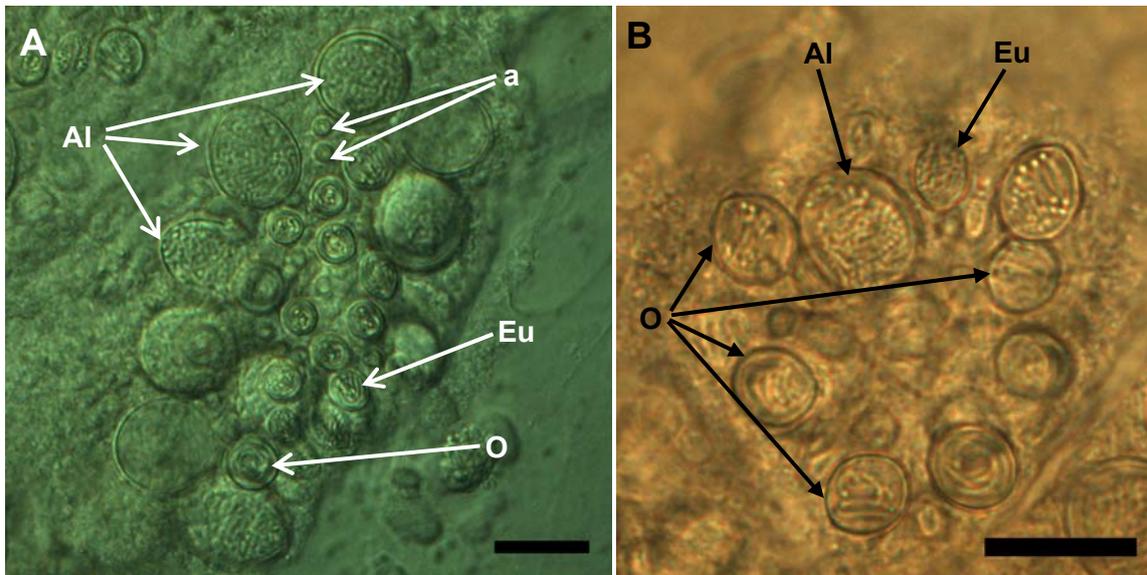
**Tabelle 12:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen und Breiten angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse von Nematocysten im Gewebe von eine Woche alten Ephyren (Hälterungssalinität 35). A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. \* $P < 0,05$ .

Kapseltyp	Körperteil					
	Randlappen			Restephyre/Mundrohr		
	Länge	Breite	Länge/Breite	Länge	Breite	Länge/Breite
Eu	<b>12,3</b> (11,2; 13,2)	<b>10,2</b> (9,2; 10,9)	<b>1,2</b> (1,1; 1,3)	<b>11,8</b> (11,5; 12,7)	<b>10,3</b> (9,7; 11,4)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)
A	-	-	-	<b>10,3</b> (8,9; 12,2)	<b>9,3</b> (8,2; 11,1)	<b>1,1</b> (1,0; 1,3)
a	<b>6,9</b> (6,1; 7,8)	<b>4,5</b> (4,0; 5,0)	<b>1,5</b> (1,4; 1,7)	<b>6,8</b> (5,9; 7,6)	<b>4,5</b> (3,8; 5,3)	<b>1,5</b> (1,4; 1,6)
O	-	-	-	<b>11,3</b> (10,2; 12,6)	<b>10,5</b> (9,7; 11,4)	<b>1,1</b> (1,0; 1,2)

Die Eurytele war der größte Kapseltyp im Gewebe der Ephyren. Die O-Isorhizen waren nur geringfügig schmaler. Beiden Kapseltypen zeigten ein niedriges Längen-Breiten-Verhältnis und hatten somit eine runde Form. Die a-Isorhizen waren die kleinsten und länglichsten Kapseln im Gewebe der Ephyren.

### 3.2.1.3 Nematocysten im Gewebe der Medusen

Das Gewebe der Medusen (Schirmdurchmesser 10-20 cm, durchschnittlicher Schirmdurchmesser 14,8 cm) enthielt Eurytelen, A-, a- und O-Isorhizen. Lichtmikroskopische Aufnahmen (Abb. 16) zeigen die konzentrierte Anordnung aller Kapseltypen in Form von Kapselbatterien in den Tentakeln der untersuchten Medusendauerpräparate.



**Abbildung 16:** Kapselbatterien in den Tentakeln von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm): (A) (DIC) Kapselbatterie im distalen Bereich eines Tentakels, die Nematocysten sind in Aufsicht getroffen, (B) (Durchlicht) Kapselbatterie im Bereich der Tentakelbasis, AI =A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen, Maßstab 20  $\mu\text{m}$ .

Es wurden zehn Medusen hinsichtlich der Nematocystenverteilung und –größen untersucht. Es wurden bei der Bestimmung der Nematocysten bis zu sieben Kapselbatterien und bis zu 16 Zählquadrate pro Tier und Körperregion ausgewertet. In Tabelle 13 sind die Ergebnisse der Kapselauszählung zusammengefasst.

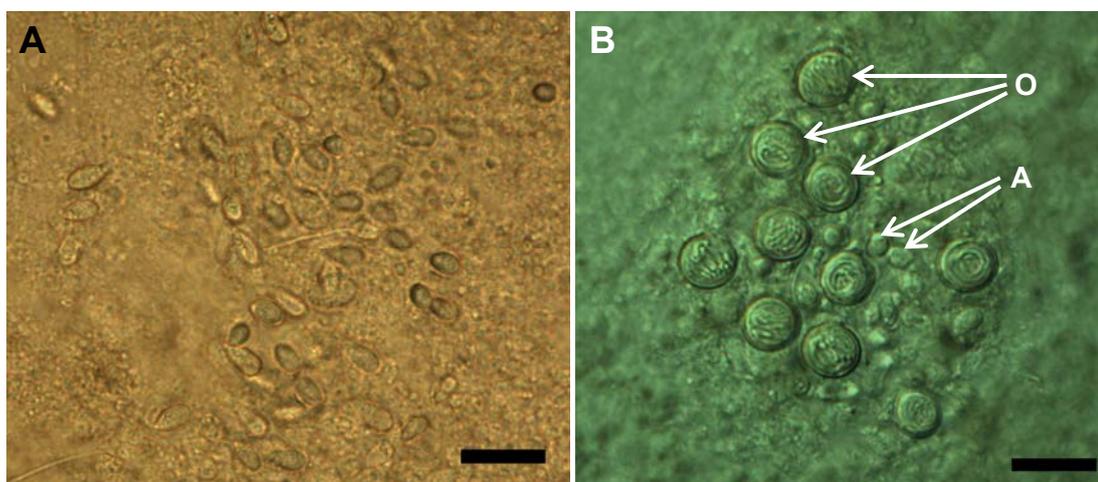
**Tabelle 13:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von Medusen. GF = Gastralfilamente, n = Anzahl, RL = Randlappen, TB = Tentakelbasis. \* $P < 0,05$ .

Kapsel- typ	Tentakel n/Batterie	TB n/Quadrat	Mundlappen		GF n/Quadrat	RL n/Quadrat	Exumbrella	
			n/Quadrat	n/Batterie			n/Quadrat	n/Batterie
Eu	<b>5</b> (2; 11)	-	-	-	<b>3</b> (1; 5)	-	-	-
A	<b>3</b> (1; 7)	<b>0</b> (0; 1)	<b>9</b> (5; 16)	<b>7</b> (3; 16)	-	-	-	-
a	<b>13</b> (6; 23)	-	-	-	-	-	-	-
O	<b>1</b> (0; 5)	<b>1</b> (0; 2)	-	<b>5</b> (2; 8)	<b>4</b> (1; 7)	<b>1</b> (0; 3)	<b>1</b> (0;3)	<b>7</b> (4; 10)

Die Tentakel waren dicht mit Nematocystenbatterien besetzt. In diesen Batterien dominierten die a-Isorhizen mit durchschnittlich 13 (6; 23) Kapseln, gefolgt von den Eurytelen mit 5 (2; 11) Kapseln pro Batterie. Von den A-Isorhizen waren durchschnittlich 3 (1; 7) und von den O-Isorhizen 1 (0; 7) pro Nematocystenbatterie zu finden.

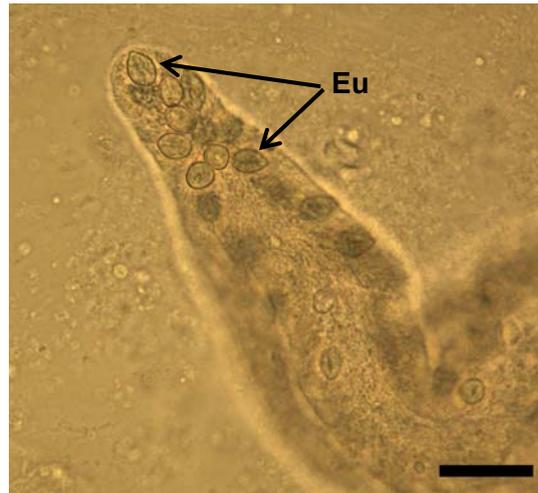
Weiter zur Tentakelbasis waren die Nematocystenbatterien anders gestaltet als an der Spitze der Tentakel. Die an der Außenseite des Tentakelgewebes liegenden Batterien enthielten O-Isorhizen als dominierenden Kapseltyp. Im inneren Teil des Gewebes an der Tentakelbasis waren die Nematocysten nicht in Batterien angeordnet, sondern lagen locker und gleichmäßig im Gewebe verstreut. Es war durchschnittlich 1 (0; 2) O-Isorhizen pro Zählquadrat zu finden.

An den Rändern der Mundlappen der Medusen war eine erhöhte Kapseldichte zu beobachten (Abb. 17A). Hier ergab eine Auszählung mit Hilfe des Messrasters für die A-Isorhizen einen Wert von 9 (5; 16). Vereinzelt lagen Eurytelen und O-Isorhizen zwischen den A-Isorhizen. In den Mundlappen der Medusen war die Kapseldichte insgesamt wesentlich niedriger als im Tentakelgewebe. Nematocystenbatterien lagen locker verstreut im Gewebe und enthielten durchschnittlich 5 (2; 8) O-Isorhizen und 7 (3; 16) A-Isorhizen (Abb. 17B).



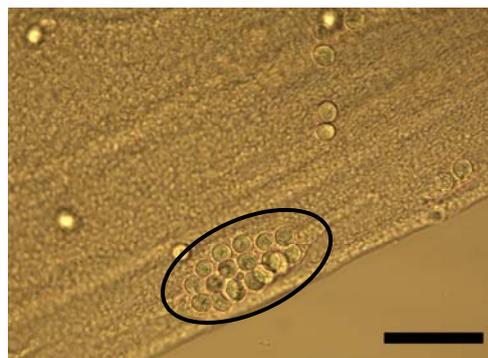
**Abbildung 17:** Nematocysten in den Mundlappen von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm): (A) (Durchlicht) Randbereich des Mundlappens mit hoher a-Isorhizen-Dichte, (B) (DIC) Kapselbatterie mit A- und O-Isorhizen im mittleren Bereich des Mundlappengewebes, A = A-Isorhizen, O = O-Isorhizen, Maßstab 20 µm.

In den Gastralfilamenten war der dominierende Kapseltyp die Eurytele mit einer Anzahl von durchschnittlich 3 (1; 5) pro Zählquadrat. Vor allem in den Spitzen der Gastralfilamente waren dichte Ansammlungen dieses Kapseltyps zu finden wie Abbildung 18 verdeutlicht. Weiter innen, an der Ansatzstelle der Gastralfilamente an der Gastrodermis, befanden sich dicht gepackte O-Isorhizen (4, 1; 7).



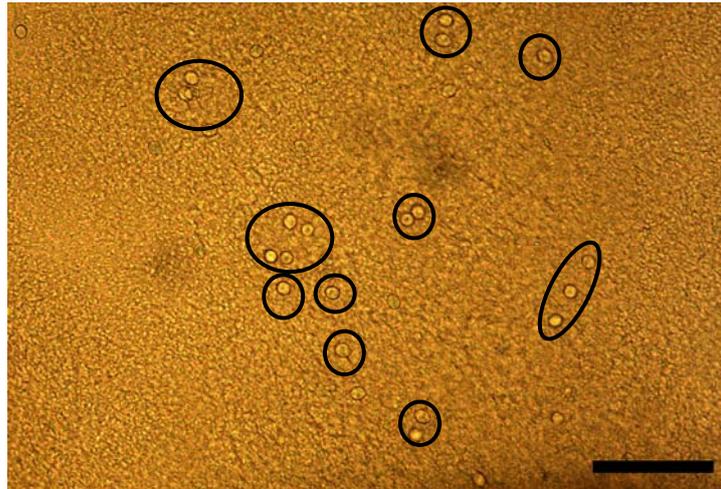
**Abbildung 18:** Eurytelen in den Spitzen der Gastralfilamente von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm), Eu = Eurytelen, Maßstab 40  $\mu\text{m}$ .

In den Randlappen war die Kapseldichte in der überwiegenden Anzahl der zehn untersuchten Präparate niedriger als in den anderen untersuchten Körperregionen, wie Abbildung 19 zeigt. Es wurden fast ausschließlich O-Isorhizen gefunden, die in Kapselbatterien oder einzeln im Gewebe angeordnet waren (Abb. 19). Es wurden durchschnittlich 1 (0; 3) Kapseln pro Zählquadrat erfasst. In der Hälfte der Präparate waren Ansammlungen dieses Kapseltyps zu finden. Vereinzelt lagen im Gewebe a-Isorhizen.



**Abbildung 19:** O-Isorhizen im Randlappengewebe von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm), schwarzer Kreis: Kapselbatterie, Maßstab 60  $\mu\text{m}$ .

In den meisten Präparaten war die Exumbrella praktisch kapselfrei. In drei der neun untersuchten Präparate waren locker verstreute bzw. in Ansammlungen konzentrierte O-Isorhizen zu finden, wie in Abbildung 20 zu erkennen. Die durchschnittliche Anzahl der O-Isorhizen betrug in den Batterien 7 (4; 10), wenn die Kapseln im Gewebe verstreut lagen betrug sie 1 (0; 3) pro Zählraster.



**Abbildung 20:** O-Isorhizen in der Exumbrella von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 10-20 cm), schwarze Kreise: O-Isorhizen, Maßstab 100  $\mu\text{m}$ .

Die Längen, Breiten sowie das Länge-Breiten-Verhältnis der Nematocysten aus Medusen (Schirmdurchmesser 10-20 cm) sind in Tabelle 14 in den Spalten mit der Bezeichnung „mittelgroße Medusen“ aufgeführt.

Der Vergleich gleicher Nematocystentypen in verschiedenen Körperteilen der Medusen ergab, dass die A-Isorhizen in den Tentakeln und in den Tentakelbasen im Vergleich zu den A-Isorhizen in allen anderen Körperteilen signifikant am längsten ( $H_{4, 234} = 82,41$ ) und breitesten ( $H_{4, 234} = 86,51$ ) waren. Die A-Isorhizen in den Mundlappen und der Exumbrella waren am kleinsten. Die in großer Zahl in den Gastralfilamenten vorhandenen Eurytelen und O-Isorhizen waren signifikant länger ( $H_{5, 340} = 185,42$  bzw.  $H_{5, 477} = 26,77$ ) und breiter ( $H_{5, 340} = 186,55$  bzw.  $H_{5, 477} = 62,03$ ) als in den anderen Körperteilen der Meduse. Der kleinste Kapseltyp, die a-Isorhize, zeigte die signifikant größte Länge in den Mundlappen ( $H_{4, 331} = 153,92$ ).

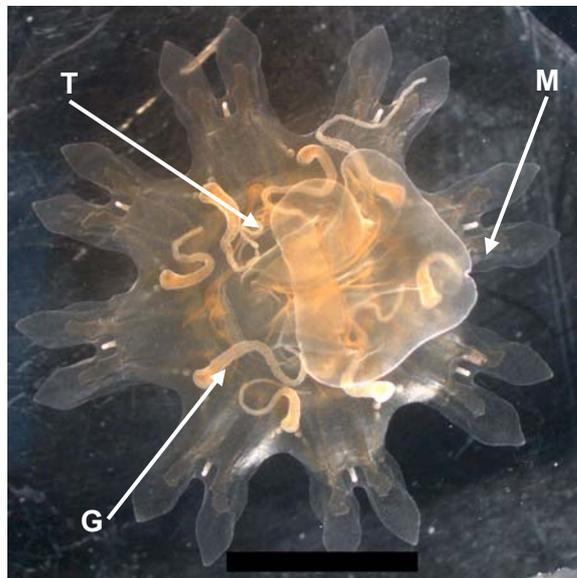
**Tabelle 14:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in µm sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von neun untersuchten Nordseemedusen (Schirmdurchmesser 10-20 cm) und einer großen Nordseemeduse (Schirmdurchmesser 55 cm). \* $P < 0,05$ .

		<b>mittelgroße Medusen</b>	<b>große Meduse</b>	<b>mittelgroße Medusen</b>
<b>Tentakel</b>				<b>Randlappen</b>
<b>Eurytelen</b>	L	<b>*12,9</b> (11,2; 14,4)	<b>*13,4</b> (12,1; 14,0)	<b>*12,3</b> (10,0; 14,8)
	B	<b>*7,5</b> (6,6; 8,6)	<b>8,0</b> (7,2; 8,6)	<b>*7,4</b> (6,5; 9,4)
	L/B	<b>*1,7</b> (1,5; 1,8)	<b>*1,7</b> (1,5; 1,8)	<b>1,6</b> (1,5; 1,8)
<b>A-Isorhizen</b>		<b>*23,1</b> (17,6; 26,4)	<b>*24,1</b> (21,8; 27,4)	<b>*23,0</b> (13,5; 25,8)
		<b>*18,2</b> (12,8; 20,9)	<b>*18,3</b> (16,4; 22,2)	<b>*17,9</b> (8,3; 20,5)
		<b>1,3</b> (1,2; 1,4)	<b>*1,3</b> (1,2; 1,4)	<b>1,3</b> (1,2; 1,6)
<b>a-Isorhizen</b>		<b>*7,8</b> (6,6; 8,8)	<b>*7,9</b> (7,1; 8,8)	<b>*7,7</b> (6,8; 8,7)
		<b>*4,2</b> (3,7; 4,7)	<b>*4,4</b> (3,9; 4,7)	<b>*4,5</b> (4,0; 5,4)
		<b>1,8</b> (1,6; 2,1)	<b>1,8</b> (1,6; 2,1)	<b>*1,7</b> (1,5; 1,8)
<b>O-Isorhizen</b>		<b>*13,9</b> (12,5; 15,4)	<b>*14,0</b> (12,9; 14,9)	<b>*14,0</b> (12,9; 15,5)
		<b>*11,6</b> (9,3; 12,6)	<b>11,7</b> (11,3; 12,4)	<b>*11,2</b> (10,5; 12,1)
		<b>1,2</b> (1,1; 1,3)	<b>*1,2</b> (1,1; 1,2)	<b>*1,2</b> (1,2; 1,3)
<b>Tentakelbasis</b>				<b>Exumbrella</b>
<b>Eurytelen</b>		<b>*13,9</b> (12,2; 15,5)	<b>*12,2</b> (10,6; 14,1)	<b>*13,6</b> (11,2; 15,1)
		<b>*8,1</b> (7,4; 9,2)	<b>8,1</b> (7,2; 9,5)	<b>*9,2</b> (7,4; 11,3)
		<b>*1,7</b> (1,5; 1,9)	<b>*1,5</b> (1,4; 1,6)	<b>*1,4</b> (1,2; 1,7)
<b>A-Isorhizen</b>		<b>*21,4</b> (16,8; 24,7)	-	<b>*14,9</b> (13,6; 22,4)
		<b>*16,8</b> (12,3; 19,4)	-	<b>*9,7</b> (8,7; 18,0)
		<b>1,3</b> (1,2; 1,5)	-	<b>1,5</b> (1,3; 1,6)
<b>a-Isorhizen</b>		<b>*7,7</b> (6,8; 8,5)	-	<b>*7,3</b> (6,1; 8,1)
		<b>*4,2</b> (3,7; 4,4)	-	<b>*4,7</b> (4,1; 5,0)
		<b>1,8</b> (1,6; 2,0)	-	<b>*1,6</b> (1,3; 1,7)
<b>O-Isorhizen</b>		<b>14,2</b> (13,0; 15,4)	<b>14,6</b> (13,7; 15,4)	<b>*13,6</b> (12,2; 15,1)
		<b>*11,4</b> (10,8; 12,3)	<b>*12,2</b> (11,7; 12,6)	<b>*10,9</b> (10,3; 11,5)
		<b>*1,2</b> (1,1; 1,3)	<b>*1,2</b> (1,1; 1,2)	<b>*1,2</b> (1,2; 1,4)
<b>Mundlappen</b>				
<b>Eurytelen</b>		<b>14,5</b> (9,3; 16,3)	<b>11,6</b> (11,1; 13,2)	
		<b>9,7</b> (6,1; 10,8)	<b>8,2</b> (7,7; 8,6)	
		<b>*1,5</b> (1,4; 1,6)	<b>1,5</b> (1,4; 1,6)	
<b>A-Isorhizen</b>		<b>*13,9</b> (11,8; 16,0)	<b>*21,0</b> (16,8; 27,0)	
		<b>*8,8</b> (8,0; 12,0)	<b>*15,8</b> (11,8; 22,8)	
		<b>*1,5</b> (1,3; 1,7)	<b>*1,3</b> (1,2; 1,5)	
<b>kleine A-Isorhizen</b>		<b>8,7</b> (7,5; 9,9)	<b>9,1</b> (7,6; 9,5)	
		<b>*4,6</b> (4,2; 5,2)	<b>*4,9</b> (4,4; 5,3)	
		<b>1,9</b> (1,6; 2,1)	<b>1,8</b> (1,5; 2,0)	
<b>O-Isorhizen</b>		<b>*14,2</b> (13,0; 15,3)	<b>*15,8</b> (13,8; 16,7)	
		<b>*11,8</b> (10,8; 12,8)	<b>*13,2</b> (12,5; 13,9)	
		<b>1,2</b> (1,1; 1,3)	<b>1,2</b> (1,2; 1,3)	
<b>Gastralfilamente</b>				
<b>Euytelen</b>		<b>*16,8</b> (15,1; 18,2)	<b>*14,4</b> (13,0; 15,7)	
		<b>*10,5</b> (9,4; 11,5)	<b>8,9</b> (7,9; 9,5)	
		<b>1,6</b> (1,5; 1,7)	<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	
<b>O-Isorhizen</b>		<b>*14,6</b> (13,4; 16,2)	<b>14,7</b> (13,7; 15,7)	
		<b>12,1</b> (10,7; 13,5)	<b>*12,3</b> (11,5; 13,4)	
		<b>*1,2</b> (1,1; 1,3)	<b>1,2</b> (1,2; 1,3)	

### 3.2.2 Verteilung und Größe der Nematocysten in jungen und alten Ephyren

Im Folgenden werden die Verteilung und die Größe von Nematocysten im Gewebe von Ephyren unterschiedlichen Alters erläutert. Es wurden junge und ältere Ephyren miteinander verglichen, deren Alter bei maximal einer Woche bzw. zwei bis drei Wochen lag. Zusätzlich wurden Meta-Ephyren mit einem Alter von vier Wochen in den Vergleich einbezogen.

Das äußere Erscheinungsbild der Ephyren veränderte sich während ihrer Entwicklung. Die frisch abgelösten Ephyren trugen Tentakelknospen an der Unterseite zwischen den Stammlappen des Schirms. Bei den zwei bis drei Wochen alten Ephyren waren die Tentakel deutlich weiter entwickelt. Bei den vier Wochen alten Meta-Ephyren trat der Übergang zum Lebensstadium der Meduse deutlich hervor. Es waren mehrere Tentakel ausgebildet und das Mundrohr war zu Mundlappen ausgewachsen (Abb. 21).



**Abbildung 21:** Vier Wochen alte Meta-Ephyre von *Cyanea capillata*. G: Gastralfilamente, M: Mundrohr/Mundlappen, T: Tentakel, Maßstab: 2 mm.

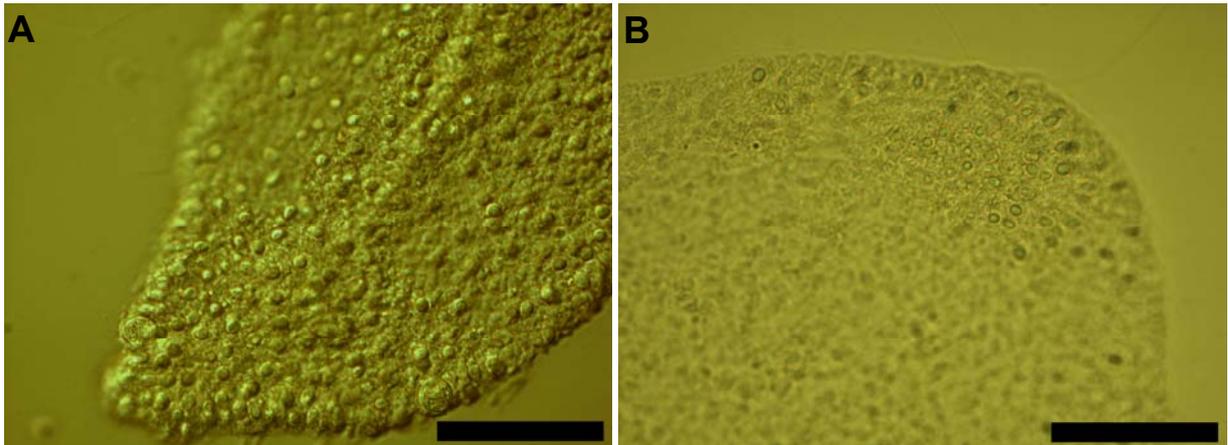
Die Verteilung der Nematocysten in den untersuchten Körperteilen der Ephyren unterschied sich zwischen den untersuchten Altersklassen der Ephyren (Tab. 15).

**Tabelle 15:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von jungen (max. eine Woche alt) und älteren (zwei bis drei Wochen alt) Ephyren sowie Meta-Ephyren (vier Wochen alt), A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. \* $P < 0,05$ .

	junge Ephyren	alte Ephyren	Meta-Epyhren
<b>Randlappen</b>			
Eu/Randlappenspitze	<b>2</b> (0; 4)	<b>4</b> (3; 9)	-
a/Quadrat	<b>*8</b> (5; 15)	<b>*5</b> (1; 10)	<b>*1</b> (0; 8)
O/Randlappen	-	<b>6</b> (2; 15)	<b>5</b> (2; 7)
<b>Restephyre/Mundrohr</b>			
Eu/Quadrat	<b>0</b> (0; 0)	-	-
A/Quadrat	-	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 0)
a/Quadrat	<b>*2</b> (0; 6)	<b>*4</b> (2; 9)	-
O/Quadrat	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 1)	-
<b>Mundlappen</b>			
A/Quadrat	-	-	<b>0</b> (0; 0)
a/Quadrat	-	-	<b>2</b> (0; 5)
O/Quadrat	-	-	<b>0</b> (0; 0)
<b>Tentakel</b>			
A/Quadrat	-	-	<b>1</b> (0; 2)
a/Quadrat	-	-	<b>9</b> (5; 15)

Der Hauptunterschied bestand in der Ausstattung der Randlappenspitzen mit Nematocysten. In allen Präparaten der jungen Ephyren lagen in den Spitzen der Randlappen Eurytelen, wogegen in den Randlappen der älteren Ephyren nur in drei der neun untersuchten Präparate und in keinem der Meta-Ephyrenpräparate Eurytelen in den Randlappenspitzen zu finden waren.

Im Randlappengewebe der jüngeren und älteren Ephyren waren die a-Isorhizen der dominierende Nematocystentyp mit durchschnittlich 8 (5; 15) bzw. 5 (1; 10) Kapseln pro Zählquadrat. Die höhere Anzahl dieser Kapseln in den jungen Ephyren gegenüber den älteren den Meta-Epyhren war signifikant ( $H_{3, 184} = 53,46$ ). Auffällig war die niedrige Menge a-Isorhizen in den Randlappen der Meta-Epyhren. Es war durchschnittlich 1 (0; 8) Kapsel pro Zählquadrat vorhanden. Damit waren die Meta-Ephyren mit der signifikant niedrigsten Anzahl a-Isorhizen in ihren Randlappen ausgestattet ( $H_{3, 184} = 53,46$ ) (Abb. 22).



**Abbildung 22:** Randlappengewebe von Ephyren bzw. Meta-Ephyren: (A) Gewebe einer jungen Ephyre (max. eine Woche alt) mit hoher Dichte an a-Isorhizen, (B) Gewebe einer Meta-Ephyre (ca. vier Wochen alt) mit wenigen a-Isorhizen in der Randlappenspitze, Maßstab: 50  $\mu\text{m}$ .

Bei den drei untersuchten Altersklassen der Ephyren lagen auf Höhe der Rhopalien O-Isorhizen in verschiedenen großen Ansammlungen. Bei den älteren Ephyren waren es 6 (2; 15), bei den Meta-Ephyren 5 (2; 8). Allerdings war die Dichte der O-Isorhizen in den jungen Ephyren so niedrig, dass sich ein Median von 0 ergab und diese Altersklasse sich somit deutlich von den beiden älteren Ephyrengruppen unterschied.

Im Gewebe der Restephyre war die Kapseldichte insgesamt niedriger als in den Randlappen. Bei den jüngeren und älteren Ephyren dominierten die a-Isorhizen mit 2 (0; 6) bzw. 4 (2; 9) Kapseln pro Zählquadrat. Die größeren Nematocystentypen, Eurytelen, A- und O-Isorhizen, traten vereinzelt auf, jedoch in so geringer Zahl, dass der Median jeweils 0 betrug. Im Gewebe der Meta-Ephyren war die Nematocystendichte ebenfalls sehr gering. Sofern im Präparat Subumbrella und Exumbrella getrennt vorlagen, war die Exumbrella kapselfrei. Das Gewebe der Subumbrella wies sehr wenige Kapseln auf und/oder wenige kleine Kapselansammlungen, die aus O-Isorhizen bestanden.

In der Tabelle 16 werden die Mediane der Längen, Breiten und der Länge-Breiten-Verhältnisse der Nematocysten in den drei untersuchten Entwicklungsstadien von Ephyren (max. eine Woche, zwei bis drei Wochen bzw. vier Wochen alt) einander gegenüber gestellt.

**Tabelle 16:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von jüngeren Ephyren (maximal eine Woche alt) im Vergleich zu älteren Ephyren (zwei bis drei Wochen alt) und Meta-Ephyren (vier Wochen alt). \* $P < 0,05$ .

		junge Epyhren	alte Epyhren	Meta-Epyhren
<b>Randlappen</b>				
<b>Eurytelen</b>	L	<b>12,3</b> (11,2; 13,2)	-	-
	B	<b>10,2</b> (9,2; 10,9)	-	-
	L/B	<b>1,2</b> (1,1; 1,3)	-	-
<b>a-Isorhizen</b>		<b>*6,9</b> (6,1; 7,8)	<b>*6,0</b> (4,9; 6,9)	<b>*5,8</b> (5,3; 6,1)
		<b>*4,5</b> (4,0; 5,0)	<b>*4,0</b> (3,3; 4,6)	<b>*3,6</b> (3,3; 3,9)
		<b>*1,5</b> (1,4; 1,7)	<b>*1,5</b> (1,3; 1,6)	<b>*1,6</b> (1,5; 1,8)
<b>O-Isorhizen</b>		-	<b>10,6</b> (8,5; 12,4)	<b>10,6</b> (9,7; 11,3)
		-	<b>9,7</b> (8,0; 11,4)	<b>9,3</b> (8,8; 9,8)
		-	<b>1,1</b> (1,0; 1,2)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)
<b>Restephyre/Mundrohr</b>				
<b>Eurytelen</b>		<b>*11,8</b> (11,5; 12,7)	<b>*9,5</b> (8,4; 10,3)	<b>*9,1</b> (7,8; 10,1)
		<b>*10,3</b> (9,7; 11,4)	<b>*7,1</b> (6,4; 8,0)	<b>*7,2</b> (6,9; 8,0)
		<b>*1,1</b> (1,1; 1,2)	<b>*1,3</b> (1,2; 1,4)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)
<b>A-Isorhizen</b>		<b>10,3</b> (8,9; 12,2)	<b>*9,9</b> (8,4; 12,8)	<b>*11,9</b> (10,9; 12,7)
		<b>*9,3</b> (8,2; 11,1)	<b>*7,4</b> (6,1; 7,8)	<b>*7,6</b> (5,7; 8,4)
		<b>*1,1</b> (1,0; 1,3)	<b>*1,4</b> (1,2; 1,6)	<b>*1,6</b> (1,4; 1,8)
<b>a-Isorhizen</b>		<b>*6,8</b> (5,9; 7,6)	<b>*5,6</b> (5,0; 6,9)	<b>*5,8</b> (5,3; 5,6)
		<b>*4,5</b> (3,8; 5,3)	<b>*3,9</b> (3,3; 4,6)	<b>*3,8</b> (3,3; 4,2)
		<b>1,5</b> (1,4; 1,6)	<b>1,5</b> (1,3; 1,6)	<b>1,5</b> (1,4; 1,7)
<b>O-Isorhizen</b>		<b>11,3</b> (10,2; 12,6)	<b>11,5</b> (10,1; 12,4)	<b>10,6</b> (10,2; 11,8)
		<b>10,5</b> (9,7; 11,4)	<b>10,4</b> (9,2; 11,7)	<b>10,2</b> (9,4; 10,6)
		<b>1,1</b> (1,0; 1,2)	<b>1,1</b> (1,0; 1,1)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)

Die Kapseln der jungen, maximal eine Woche alten Ephyren waren tendenziell größer als die der beiden Gruppen älterer Ephyren. Die a-Isorhizen in den Randlappen und dem Restephyrengewebe der jungen Ephyren waren signifikant länger ( $H_{2, 180} = 68,78$  bzw.  $H_{2, 192} = 57,52$ ) und breiter ( $H_{2, 180} = 78,46$  bzw.  $H_{2, 192} = 72,50$ ) als in den älteren Ephyren und den Meta-Ephyren. Die Eurytelen waren in den jungen Tieren ebenfalls signifikant länger ( $H_{3, 18} = 9,04$ ) und breiter ( $H_{3, 18} = 10,26$ ) als in den beiden Gruppen älterer Ephyren. Bei den A-Isorhizen war kein durchgehender Trend in den Größen der Kapseln in den Entwicklungsstadien zu erkennen. Dieser Kapseltyp war in den jungen Ephyren signifikant breiter ( $H_{2, 51} = 21,28$ ) als in den anderen beiden Untersuchungsgruppen und in den Meta-

Ephyren signifikant länger ( $H_{2,51} = 7,54$ ) als in den älteren Ephyren. Die O-Isorhizen der untersuchten Gruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede.

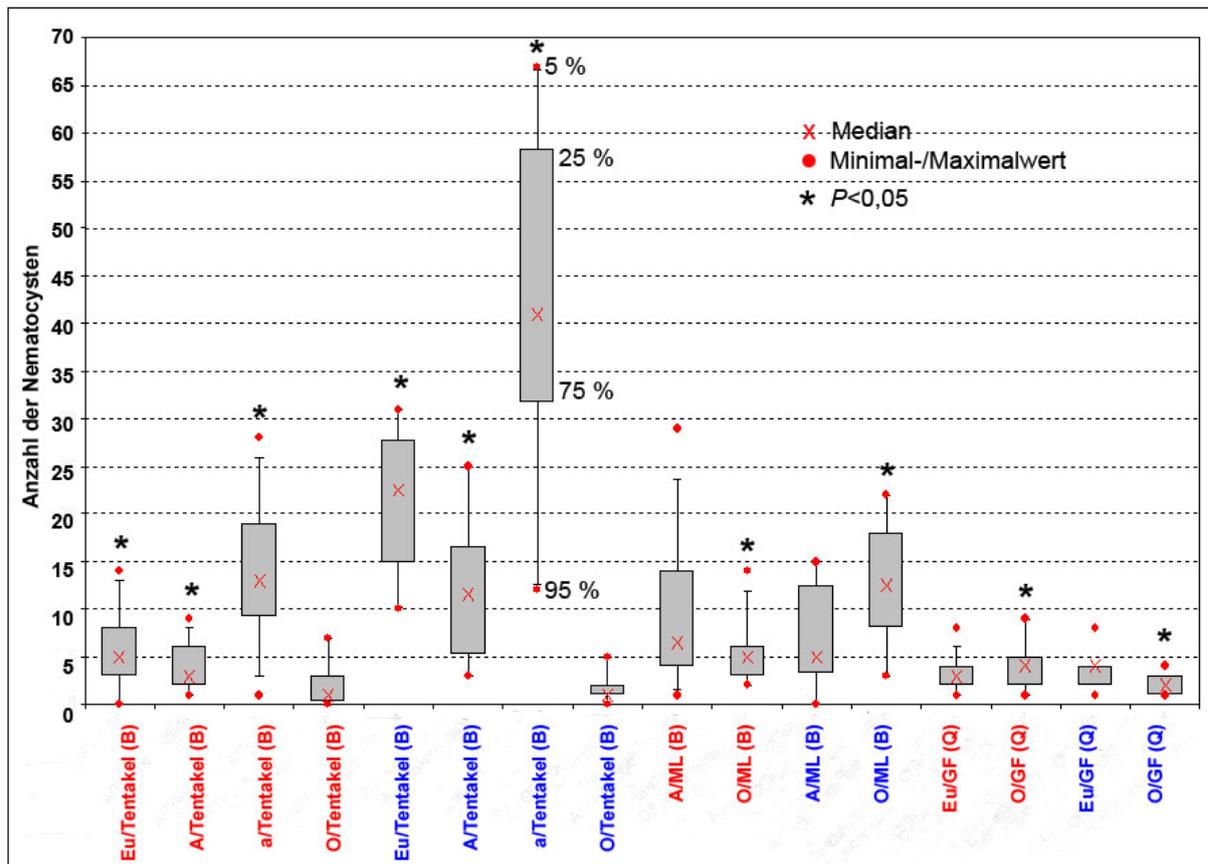
### 3.2.3 Änderungen der Nematocysten mit dem Schirmdurchmesser

Um zu überprüfen, ob sich mit zunehmender Größe der Medusen Unterschiede der Nematocysten im Gewebe ergeben, wurde die Gruppe der mittelgroßen Nordseemedusen (Schirmdurchmesser 10-20 cm, durchschnittlicher Schirmdurchmesser 14,8 cm) mit einem Exemplar einer Nordseemeduse mit einem Schirmdurchmesser von 55 cm verglichen.

Die jeweils dominanten Kapseltypen waren in den untersuchten Körperregionen der mittelgroßen Meduse und der großen Meduse die gleichen. In beiden Untersuchungsgruppen waren die Nematocysten der Tentakel in Batterien angeordnet, in denen die a-Isorhize der dominierende Kapseltyp war. In der Tentakelbasis enthielten die Kapselbatterien O-Isorhizen oder die O-Isorhizen lagen verstreut im Gewebe. Die Mundlappen beider Untersuchungsgruppen der Medusen waren durch eine erhöhte Kapseldichte am Rand des Gewebes gekennzeichnet, wobei die a-Isorhize der dominierende Kapseltyp war. Daneben wurden weiter innen locker verstreut liegenden Kapselbatterien mit a- und O-Isorhizen gefunden. Der dominierende Kapseltyp in den Gastralfilamenten war sowohl bei den mittelgroßen Medusen als auch bei der großen Meduse die Eurytele. An der Ansatzstelle der Gastralfilamente an der Gastrodermis lagen dicht gepackt O-Isorhizen.

Die absolute Anzahl der Kapseln in den Kapselbatterien bzw. den Zählquadraten der untersuchten Körperteile unterschied sich jedoch zwischen den beiden Medusengruppen. Abbildung 23 stellt die Anzahl der Nematocysten in den verschiedenen Geweben der kleineren Medusen und des großen Tieres gegenüber. Die blaue Beschriftung der Abszisse bezieht sich auf die mittelgroßen Medusen, die rote auf die große Meduse.

Die große Meduse enthielt insgesamt mehr Nematocysten in den einzelnen Tentakelbatterien als die kleineren Tiere. So waren dort drei Mal so viele A- und a-Isorhizen zu finden wie in den Nematocystenbatterien der kleineren Medusen ( $H_{3,105} = 26,44$  bzw.  $H_{3,105} = 63,35$ ). Der Anteil der Eurytelen war in den Kapselbatterien der großen Medusen fast fünf Mal so hoch wie im Tentakelgewebe der neun kleinen Medusen ( $H_{3,105} = 53,08$ ). Außerdem war die Anzahl der O-Isorhizen in den Mundlappen der großen Meduse signifikant um einen Faktor von 2,5 im Vergleich zur Gruppe der kleineren Medusen erhöht ( $H_{3,105} = 21,83$ ). Der Vergleich der Anzahl der O-Isorhizen in den Gastralfilamenten zeigte ein umgekehrtes Bild. Im Gewebe der großen Meduse wurden nur halb so viele O-Isorhizen pro Zählquadrat registriert wie durchschnittlich in den kleineren Tieren ( $U_{1,31} = 56$ ).



**Abbildung 23:** Anzahl von Nematocysten in verschiedenen Körperteilen von kleineren Nordseemedusen (neun Tiere, Schirmdurchmesser 10-20 cm) im Vergleich zu einer großen Nordseemeduse (Schirmdurchmesser 55 cm). Die rote Beschriftung der Abszisse bezieht sich auf die mittelgroßen Medusen, die blaue auf die große Meduse. Die roten Kreuze innerhalb der grauen Rechtecke markieren die Mediane, obere und untere Ränder der grauen Rechtecke das Perzentil 25 % bzw. 75 %, das obere und untere Ende der Fehlerbalken das Perzentil 5 % bzw. 95 %, die roten Punkte Minimal- und Maximalwert. A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, B = Nesselkapselbatterie, Eu = Eurytelen, GF = Gastralfilament, ML = Mundlappen, O = O-Isorhizen, Q = Zählquadrat. \*  $P < 0,05$ .

Tabelle 14 (S. 42) gibt die Vermessungsdaten der Nematocysten der großen Meduse im Vergleich zu den Vermessungsdaten der neun mittelgroßen Medusen wieder.

Eine klare Tendenz in den Größen der Nematocysten war beim Vergleich der Kapselbatterien der Tentakel zu erkennen. Die Nematocysten der großen Meduse waren hier länger und breiter als die der kleineren Medusen, wobei nur im Falle der A-Isorhizen dieser Unterschied auch signifikant war ( $H_{4, 251} = 89,08$  bzw.  $H_{4, 251} = 79,2$ ).

Die Eurytelen der kleinen Medusen waren in den Tentakelbasen signifikant länger als bei der großen Meduse ( $H_{7, 412} = 207,93$ ).

In den Mundlappen der untersuchten Tiere zeichnete sich ein Trend zu größeren Nematocysten in der großen Meduse ab, die Größenunterschiede waren jedoch nur im Falle der A- und O-Isorhizen signifikant (A-Isorhizen-Länge bzw. -Breite:  $H_{4, 251} = 89,08$  bzw.  $H_{4, 251} = 79,2$ ; O-Isorhizen-Länge bzw. -Breite:  $H_{7, 457} = 88,37$  bzw.  $H_{7, 457} = 125,07$ ).

Ein umgekehrtes Bild lieferten auch hier, wie bei der Anzahl der Nematocysten, die Gastralfilamente. Die Eurytelen in den kleineren Medusen waren signifikant länger und breiter als in den Gastralfilamenten der Gewebeprobe des Tieres mit dem großen Schirmdurchmesser ( $H_{7\ 412} = 207,93$  bzw.  $H_{7\ 412} = 209,63$ ).

### **3.2.4 Einfluss biologischer und physikalischer Parameter auf die Ausprägung von Nematocysten**

Der Einfluss von biologischen und physikalischen Parametern auf die Größe von Nematocysten und ihre Verteilung im Gewebe wurde mit Hilfe der Variation der Parameter Nahrung und Salinität des Hälterungsmediums unter kontrollierten Bedingungen untersucht. Als biologischer Parameter wurden Fütterungsart und Fütterungshäufigkeit bei Polypen sowie die Futterart bei Meta-Ephyren variiert. Um den Einfluss physikalischer Parameter zu untersuchen, wurden die Nesselkapseln von Polypen aus verschiedenen Hälterungssalinitäten miteinander verglichen sowie die von diesen Polypen gebildeten Ephyren.

#### **3.2.4.1 Einfluss von Fütterungsfrequenz und Futtermenge auf die Nematocysten von Polypen**

Im Folgenden werden die Ergebnisse des Fütterungsversuches, wie er in Kapitel 2.1.4 (S. 18) beschrieben wurde, dargestellt.

In allen untersuchten Gruppen waren die  $\alpha$ -Isorhizen der dominierende Nematocystentyp in den Tentakeln (Tab. 17), wobei die Anzahl in der Gruppe P35 o/w (P35 = Polyp aus Hälterungssalinität 35) signifikant niedriger war als in P35 o/v und P35 s/w ( $H = 23,38_{4, 245}$ ). Die Mediane der Eurytelenzahl war in allen Proben 0, jedoch wurde tendenziell eine niedrigere Zahl dieses Nematocystentyps in der Gruppen P35 o/v, den oft und viel gefütterten Polypen, gefunden. Die P35 o/v-Polypen war die einzige Versuchsgruppe, bei der die Tentakel keine Eurytelen enthielten. In den anderen Versuchsgruppen KoP 35, P35 o/w, P35 s/v und P35 s/w, waren jeweils in der Hälfte der Präparate Eurytelen in den Tentakeln der Polypen zu finden.

Das Gewebe des Restpolypen unterschied sich in der allgemeinen Verteilung der Nematocysten nur geringfügig. In fast allen Präparaten waren die Eurytelen der einzige Kapseltyp. Pro Untersuchungsgruppe gab es jeweils zwei bis drei Polypen, in deren Gewebe eine erhöhte Anzahl von O-Isorhizen auftrat.

**Tabelle 17:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Polypen nach einem Fütterungsversuch. Kontrollpolypen (KoP 35); P35 o/v: oft und viel gefüttert; P35 o/w: oft und wenig gefüttert; P35 s/v: selten und viel gefüttert; P35 s/w: selten und wenig gefüttert. a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen, \* $P < 0,05$ .

	KoP 35	P35 o/v	P35 o/w	P35 s/v	P35 s/w
<b>Tentakel</b>					
Eu/Quadrat	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 1)
a/Quadrat	<b>14</b> (6; 28)	<b>*15</b> (11; 21)	<b>*12</b> (8; 18)	<b>15</b> (8; 21)	<b>*18</b> (11; 25)
<b>Restpolyp</b>					
Eu/Quadrat	<b>2</b> (1; 3)	<b>1</b> (0; 4)	<b>1</b> (0; 4)	<b>2</b> (0; 4)	<b>2</b> (1; 4)
a/Quadrat	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 0)
O/Quadrat	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 2)	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 1)

In den Versuchsgruppen wurden nur geringfügige Größenunterschiede der Nematocystentypen gemessen. Folgende signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen der unterschiedlich gefütterten Polypen wurden statistisch ermittelt (Tab. 18).

**Tabelle 18:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Polypen. Kontrollpolypen (KoP 35) P35 o/v: oft und viel gefüttert; P35 o/w: oft und wenig gefüttert; P35 s/v: selten und viel gefüttert; P35 s/w: selten und wenig gefüttert. \* $P < 0,05$ .

		KoP 35	P35 o/v	P35 o/w	P35 s/v	P35 s/w
<b>Tentakel</b>						
Eurytelen	L	<b>12,9</b> (11,8; 13,2)	-	-	<b>12,7</b> (11,6; 13,7)	<b>12,5</b> (11,6; 13,8)
	B	<b>10,2</b> (9,6; 10,8)	-	-	<b>10,1</b> (9,3; 10,8)	<b>10,1</b> (9,3; 10,8)
	L/B	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	-	-	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)
a-Isorhizen		<b>7,4</b> (6,8; 8,3)	<b>7,7</b> (6,8; 8,6)	<b>7,6</b> (6,9; 8,5)	<b>7,5</b> (6,7; 8,2)	<b>7,5</b> (6,8; 8,2)
		<b>*4,6</b> (4,3; 5,0)	<b>*4,9</b> (4,5; 5,6)	<b>*4,9</b> (4,4; 5,4)	<b>*4,7</b> (4,2; 4,6)	<b>*4,7</b> (4,3; 5,2)
		<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>1,6</b> (1,4; 1,7)	<b>1,6</b> (1,4; 1,7)	<b>1,6</b> (1,4; 1,8)	<b>1,6</b> (1,5; 1,7)
<b>Restpolyp</b>						
Eurytelen		<b>*13,0</b> (12,1; 14,5)	<b>*13,4</b> (12,1; 14,4)	<b>*12,4</b> (11,5; 13,3)	<b>*13,1</b> (12,2; 13,7)	<b>*13,0</b> (12,0; 13,7)
		<b>*10,2</b> (9,6; 10,8)	<b>*10,5</b> (9,4; 11,2)	<b>*9,7</b> (8,7; 10,6)	<b>*10,3</b> (9,5; 10,8)	<b>*10,4</b> (9,3; 11,1)
		<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>1,3</b> (1,2; 1,4)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)
a-Isorhizen		<b>6,8</b> (4,9; 7,5)	<b>6,7</b> (5,7; 7,8)	<b>7,1</b> (6,1; 7,8)	<b>7,0</b> (5,6; 7,8)	<b>6,9</b> (5,6; 7,7)
		<b>4,2</b> (3,5; 4,7)	<b>4,5</b> (3,6; 5,0)	<b>4,5</b> (4,1; 5,2)	<b>4,5</b> (3,8; 4,9)	<b>4,5</b> (3,6; 4,9)
		<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>1,5</b> (1,4; 1,7)	<b>1,5</b> (1,4; 1,7)	<b>1,6</b> (1,4; 1,7)	<b>1,5</b> (1,4; 1,7)
O-Isorhizen		<b>*11,6</b> (10,3; 12,6)	<b>*12,7</b> (12,3; 13,2)	<b>*12,3</b> (12,0; 12,7)	<b>*12,1</b> (11,6; 12,7)	<b>*12,7</b> (12,1; 13,2)
		<b>*9,8</b> (9,1; 11,4)	<b>*10,7</b> (10,3; 11,3)	<b>*10,5</b> (9,7; 10,7)	<b>*10,7</b> (10,3; 11,2)	<b>*10,9</b> (10,2; 11,3)
		<b>*1,1</b> (1,1; 1,2)	<b>*1,2</b> (1,1; 1,2)	<b>*1,2</b> (1,2; 1,3)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)	<b>1,2</b> (1,1; 1,2)

Die a-Isorhizen in den Tentakeln der oft gefütterten Polypen (P35 o/v und P35 o/w) waren signifikant breiter als in den anderen untersuchten Polypen-Gruppen ( $H_{4, 492} = 50,19$ ). Die Eurytelen im Restpolypengewebe P35 o/w-Polypen waren kürzer und schmaler als in den

anderen Polypen-Gruppen ( $H_{4,478} = 60,75$  bzw.  $H_{4,478} = 61,93$ ). Die O-Isorhizen, die ausschließlich im Gewebe des Restpolypen vorhanden waren, waren in den Kontrollpolypen (KoP 35) signifikant kürzer und schmaler als in den Polypen aus allen Gruppen des Fütterungsversuches ( $H_{4,67} = 28,45$  bzw.  $H_{4,67} = 14,4$ ). Außerdem war die Form dieses Kapseltyps in den oft gefütterten Tieren (P35 o/v und P35 o/w) länglicher als in KoP 35 ( $H_{4,67} = 32,13$ ), was an dem höheren Längen-Breiten-Verhältnis letzterer Gruppe erkennbar war.

### 3.2.4.2 Einfluss der Futterart auf die Nematocysten von Meta-Ephyren

Der Einfluss der Futterart auf die Nematocysten wurde in einem Experiment mit Meta-Ephyren untersucht. Eine Gruppe wurde täglich mit *Artemia*-Nauplien (Gruppe MetaE-Gr.Art.), die andere mit frisch abgelösten Ephyren von *A. aurita* (MetaE-Gr.Jelly.) gefüttert. Die Ephyren wurden über einen Zeitraum von zwei Monaten gehältert.

Die Ephyren unterschieden sich morphologisch nur geringfügig voneinander. Alle hatten Tentakel ausgebildet und zeigten ein Wachstum des Mundrohrs zu den ausgezogenen Mundlappen. Der Gesamtdurchmesser des Schirms unterschied sich zwischen den beiden Versuchsgruppen bei Versuchsende um durchschnittlich 1 mm (Gruppe MetaE-Gr.Art.: 5,1 mm; MetaE-Gr.Jelly.: 6,1 mm).

Die beiden untersuchten Gruppen unterschieden hinsichtlich ihrer allgemeinen Verteilung der Nematocysten im Gewebe nicht voneinander. In Tabelle 19 sind die Anzahl der Nematocysten in den beiden Untersuchungsgruppen der Meta-Ephyren wiedergegeben.

**Tabelle 19:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Meta-Ephyren nach einem Fütterungsversuch. MetaE-Gr.Art.: Meta-Ephyren, die mit *Artemia*-Nauplien gefüttert worden waren, MetaE-Gr.Jelly.: Meta-Ephyren, die mit *Aurelia aurita*-Ephyren gefüttert worden waren. A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, O = O-Isorhizen. \* $P < 0,05$ .

	MetaE-Gr.Art.	MetaE-Gr.Jelly.
<b>Randlappen</b>		
a/Quadrat	<b>1</b> (0; 8)	<b>2</b> (0; 5)
O/Randlappen	<b>5</b> (2; 7)	<b>9</b> (2; 14)
<b>Mundlappen</b>		
a/Quadrat	<b>2</b> (0; 5)	<b>1</b> (0; 3)
O/Quadrat	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 2)
<b>Tentakel</b>		
A/Quadrat	<b>*1</b> (0; 2)	<b>*0</b> (0; 1)
a/Quadrat	<b>9</b> (5; 15)	<b>8</b> (4; 15)

In den Tentakeln war die a-Isorhize in beiden Untersuchungsgruppen der am häufigsten auftretende Nematocystentyp. In der Gruppe MetaE-Gr.Art. wurden durchschnittlich 9 (5; 15), in der MetaE-Gr.Jelly.-Gruppe durchschnittlich 8 (4; 15) Nematocysten pro Quadrat gezählt. A-Isorhizen traten vereinzelt auf, wobei sie in der Gruppe MetaE-Gr.Art. mit einem Wert von 1 (0; 2) signifikant häufiger zu finden waren als in MetaE-Gr.Jelly. mit einem Wert 0 (0;1) ( $U_{1,36} = 91$ ).

Die Mundlappen der Tiere waren durch eine insgesamt geringe Kapseldichte ausgezeichnet. In den Randlappen beider Versuchsgruppen waren auf Höhe der Rhopalien Ansammlungen von O-Isorhizen zu sehen. In der Gruppe MetaE-Gr.Jelly. waren diese Ansammlungen mit durchschnittlich 9 (2; 14) Kapseln pro Gruppe größer als bei den MetaE-Gr.Art., die durchschnittlich 5 (2; 7) Kapseln in den Kapselansammlungen trugen. Dieser Unterschied war allerdings nicht signifikant.

Beim Größenvergleich der Nematocysten der beiden Fütterungsgruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Längen, Breiten und dem Längen-Breiten-Verhältnis gleicher Kapseltypen (Tab. 20).

**Tabelle 20:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %; 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Meta-Ephyren nach einem Fütterungsversuch mit verschiedenen Futtersorten. MetaE-Gr.Art.: Meta-Ephyren, die mit *Artemia*-Nauplien gefüttert worden waren, MetaE-Gr.Jelly.: Meta-Ephyren, die mit *Aurelia aurita*-Ephyren gefüttert worden waren.

		MetaE-Gr.Art.	MetaE-Gr.Jelly.			MetaE-Gr.Art.	MetaE-Gr.Jelly.
<b>Randlappen</b>				<b>Mundlappen</b>			
a-Isorhizen	L	<b>5,8</b> (5,3; 6,1)	<b>5,9</b> (5,2; 6,4)	Eurytelen	L	<b>9,6</b> (8,3; 10,7)	-
	B	<b>3,6</b> (3,3; 3,9)	<b>3,6</b> (3,3; 6,4)		B	<b>7,4</b> (6,9; 8,0)	-
	L/B	<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>1,6</b> (1,4; 1,8)		L/B	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	-
O-Isorhizen		<b>10,6</b> (9,7; 11,3)	<b>10,7</b> (9,6; 12,2)	A-Isorhizen		<b>11,3</b> (10,2; 12,6)	<b>11,8</b> (10,7; 13,1)
		<b>9,3</b> (8,8; 9,8)	<b>9,5</b> (8,8; 10,6)			<b>7,3</b> (6,4; 8,3)	<b>8,2</b> (7,4; 9,1)
		<b>1,1</b> (1,1; 1,2)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)			<b>1,5</b> (1,3; 1,8)	<b>1,5</b> (1,3; 1,6)
				a-Isorhizen		<b>5,8</b> (5,0; 6,4)	<b>6,1</b> (5,5; 6,7)
<b>Restephyre/Mundrohr</b>						<b>3,8</b> (3,5; 4,0)	<b>3,7</b> (3,3; 4,0)
Eurytelen		<b>9,1</b> (7,8; 10,1)	<b>8,6</b> (8,3; 9,9)			<b>1,5</b> (1,3; 1,8)	<b>1,7</b> (1,4; 1,9)
		<b>7,2</b> (6,9; 8,0)	<b>6,3</b> (5,9; 7,3)	O-Isorhizen		<b>10,7</b> (10,5; 10,9)	-
		<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>1,3</b> (1,3; 1,4)			<b>9,7</b> (9,6; 10,1)	-
A-Isorhizen		<b>11,9</b> (10,9; 12,7)	-			<b>1,1</b> (1,0; 1,1)	-
		<b>7,6</b> (5,7; 8,4)	-	<b>Tentakel</b>			
		<b>1,6</b> (1,4; 1,8)	-	A-Isorhizen		<b>11,3</b> (10,0; 12,8)	<b>12,0</b> (10,8; 13,7)
a-Isorhizen		<b>5,8</b> (5,3; 5,6)	<b>5,6</b> (5,1; 6,1)			<b>7,5</b> (6,3; 8,3)	<b>8,0</b> (6,9; 9,6)
		<b>3,8</b> (3,3; 4,2)	<b>3,7</b> (3,4; 4,1)			<b>1,5</b> (1,4; 1,6)	<b>1,5</b> (1,4; 1,8)
		<b>1,5</b> (1,4; 1,7)	<b>1,5</b> (1,4; 1,6)	a-Isorhizen		<b>5,5</b> (5,3; 6,1)	<b>6,0</b> (5,2; 6,5)
O-Isorhizen		<b>10,6</b> (10,2; 11,8)	<b>10,6</b> (10,2; 11,8)			<b>3,6</b> (3,3; 3,9)	<b>3,8</b> (3,4; 4,1)
		<b>10,2</b> (9,4; 10,6)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)			<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>1,6</b> (1,4; 1,8)
		<b>1,1</b> (1,1; 1,2)					

### 3.2.4.3 Einfluss der Salinität auf die Nematocysten von Polypen

Der Vergleich von Polypen aus unterschiedlichen Hälterungssalinitäten (s. Kapitel 2.1.4, S. 18) sollte den Einfluss des Salzgehaltes des Wassers auf die Nematocysten zeigen.

Die Ausstattung der Tentakel in den drei untersuchten Gruppen war gleich. Die a-Isorhize war der dominierende Nematocystentyp und es gab keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl dieser Kapsel (Tab. 21).

**Tabelle 21:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Polypen. KoP 35: Polypen aus Wasser der Salinität 35, KoP 20: Polypen aus Wasser der Salinität 20, KoP 15: Polypen aus Wasser der Salinität 15. a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. \* $P < 0,05$ .

	KoP 35	KoP 20	KoP 15
<b>Tentakel</b>			
<b>Eu/Quadrat</b>	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 1)
<b>a/Quadrat</b>	<b>14</b> (6; 28)	<b>17</b> (10; 28)	<b>18</b> (10; 24)
<b>Restpolyp</b>			
<b>Eu/Quadrat</b>	<b>*2</b> (1; 3)	<b>*1</b> (0; 3)	<b>*0</b> (0; 3)
<b>a/Quadrat</b>	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 0)	<b>0</b> (0; 0)
<b>O/Quadrat</b>	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 3)	<b>0</b> (0; 2)

Eurytelen waren in allen untersuchten Tieren über die Tentakel verteilt. Mit einem durchschnittlichen Wert von jeweils 0 (0; 1) pro Zählquadrat war die Anzahl jedoch insgesamt gering.

Im Gewebe des Restpolypen wurden Eurytelen und O-Isorhizen in unterschiedlicher Zahl gefunden. Die in Wasser der Salinität 35 gehälterten Polypen (KoP 35) beherbergten dabei signifikant die meisten Eurytelen ( $H_{2, 150} = 26,84$ ). In der Gruppe KoP 35 waren in zwei der zehn untersuchten Polypen im Restpolypengewebe O-Isorhizen in großer Zahl zu sehen. Da dieser Kapseltyp nur in zwei Präparaten vorhanden war, lag der ermittelte durchschnittliche Wert jedoch bei 0 (0; 1). In der Versuchsgruppe KoP 20 wurde in der Hälfte der Präparate O-Isorhizen im Restpolypen gefunden, in zwei Präparaten allerdings nur wenige. In den anderen drei Präparaten überwogen die O-Isorhizen gegenüber den Eurytelen. In den Präparaten der Gruppe KoP 15 waren in neun von zehn Präparaten O-Isorhizen zu finden. In dieser Gruppe überwog in fast der Hälfte der Fälle tendenziell die Anzahl der O-Isorhizen die der Eurytelen.

Der Vergleich der Größen der Nematocysten ist in Tabelle 22 zusammengefasst.

Die a-Isorhizen in den Tentakeln der KoP 35 waren länger und breiter als die in den Tentakeln der Gruppen KoP 20 und KoP 15 ( $H_{5, 357} = 85,13$  bzw.  $H_{5, 357} = 85,03$ ). Außerdem hatte dieser Kapseltyp in der Gruppe KoP 35 eine länglichere Form als in der Gruppe KoP 15 ( $H_{5, 357} = 28,59$ ).

**Tabelle 22:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Polypen aus drei unterschiedlichen Salinitäten. KoP 35: Polypen aus Wasser der Salinität 35, KoP 20: Polypen aus Wasser der Salinität 20, KoP 15: Polypen aus Wasser der Salinität 15. \* $P < 0,05$ .

		KoP 35	KoP 20	KoP 15
<b>Tentakel</b>				
<b>Eurytelen</b>	L	<b>*12,9</b> (11,8; 13,2)	<b>*11,3</b> (10,6; 12,2)	<b>*11,5</b> (9,6; 11,9)
	B	<b>*10,2</b> (9,6; 10,8)	<b>*8,8</b> (8,0; 9,6)	<b>*8,9</b> (8,0; 9,9)
	L/B	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>1,3</b> (1,2; 1,4)	<b>1,3</b> (1,2; 1,3)
<b>a-Isorhizen</b>		<b>*7,4</b> (6,8; 8,3)	<b>*6,8</b> (6,2; 7,4)	<b>*7,1</b> (6,4; 7,8)
		<b>*4,6</b> (4,3; 5,0)	<b>*4,3</b> (3,9; 4,7)	<b>*4,7</b> (4,3; 5,1)
		<b>*1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>1,6</b> (1,4; 1,7)	<b>*1,5</b> (1,4; 1,6)
<b>Restpolyp</b>				
<b>Eurytelen</b>		<b>*13,0</b> (12,1; 14,5)	<b>*11,6</b> (10,9; 12,5)	<b>*11,3</b> (10,6; 12,4)
		<b>*10,2</b> (9,6; 10,8)	<b>*9,1</b> (8,4; 9,7)	<b>*9,3</b> (8,8; 9,9)
		<b>*1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>*1,3</b> (1,2; 1,3)	<b>*1,2</b> (1,2; 1,3)
<b>a-Isorhizen</b>		<b>6,8</b> (4,9; 7,5)	<b>7,2</b> (6,6; 7,9)	<b>6,7</b> (6,2; 7,3)
		<b>4,2</b> (3,5; 4,7)	<b>4,6</b> (4,2; 4,8)	<b>4,7</b> (4,3; 5,1)
		<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>1,6</b> (1,5; 1,7)	<b>1,6</b> (1,4; 1,6)
<b>O-Isorhizen</b>		<b>11,6</b> (10,3; 12,6)	<b>11,3</b> (10,4; 12,0)	<b>11,0</b> (10,1; 12,0)
		<b>9,8</b> (9,1; 11,4)	<b>10,1</b> (9,5; 10,5)	<b>9,7</b> (9,0; 10,5)
		<b>1,1</b> (1,1; 1,2)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)	<b>1,1</b> (1,1; 1,2)

Eine klare Tendenz war im Falle der Eurytelen zu erkennen. Sie waren in den Tentakeln und im Restpolypen des Nordseepolypen (KoP 35) signifikant länger und breiter als in den beiden anderen untersuchten Gruppen ( $H_{5, 269} = 152,48$  bzw.  $H_{5, 269} = 145,65$ ). Beim Kapseltyp O-Isorhize wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden.

#### 3.2.4.4 Einfluss der Salinität auf die Nematocysten von Ephyren

Die Polypen, die in Wasser mit unterschiedlicher Salinität gehältert wurden, produzierten durch Strobilation Ephyren. Die Strobilation erfolgte bei den Nordseepolypen (Salinität 35) in Kultur in den Frühjahrs- bis Sommermonaten (April-Juli). Die Ostseepolypen, die in Wasser mit einer Salinität von 15 gehältert wurden, strobilierten in Kultur im Herbst oder Winter (September-Dezember). Die Ephyren wurden hinsichtlich der Größen und der Verteilung der Nematocysten untersucht. Es wurden Ephyren aus Wasser der Salinität 35 (Ephy35) mit Ephyren verglichen, die von Polypen aus einer Hälterungssalinität 15 (Ephy15) erzeugt worden waren. Die Ephyren beider Untersuchungsgruppen waren wenige Tage alt. Sowohl die Ephyren aus der Salinität 15 als auch die aus Salinität 35 hatten zum Zeitpunkt der Präparation einen durchschnittlich 2,2 mm großen Schirmdurchmesser.

Tabelle 23 gibt die Anzahl der Nematocysten in den untersuchten Körperteilen Randlappen und Restephyrengewebe wieder.

**Tabelle 23:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl von Nematocysten im Gewebe von Ephyren aus Salinität 15 (Ephy15) und Ephyren aus Salinität 35 (Ephy35). A = A-Isorhizen, a = a-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen. \* $P < 0,05$ .

	Ephy15	Ephy35
<b>Randlappen</b>		
<b>Eu/Randlappenspitze</b>	<b>*4</b> (1; 7)	<b>*2</b> (0; 4)
<b>a/Quadrat</b>	<b>9</b> (3; 14)	<b>8</b> (5; 15)
<b>O/Randlappen</b>	<b>*24</b> (17; 32)	<b>*0</b> (0; 1)
<b>Restephyre/Mundrohr</b>		
<b>Eu/Quadrat</b>	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 0)
<b>A/Quadrat</b>	<b>0</b> (0; 0)	-
<b>a/Quadrat</b>	<b>4</b> (0;7)	<b>2</b> (0; 6)
<b>O/Quadrat</b>	<b>0</b> (0; 1)	<b>0</b> (0; 0)

In beiden untersuchten Gruppen war die a-Isorhize der häufigste Nematocystentyp in den Randlappen. Die Anzahl dieses Kapseltyps unterschied sich in den Ephyren nicht signifikant voneinander. Beide Untersuchungsgruppen trugen in ihren Randlappenspitzen Eurytelen. Bei den Ephy15 waren es mit durchschnittlich 4 (1; 7) doppelt so viele wie mit durchschnittlich 2 (0; 4) bei den Ephy35 ( $U_{1,55} = 199$ ). Auffällig war der große Unterschied in der Anzahl der O-Isorhizen, die auf Höhe der Rhopalien der Ephyren lagen. Im Gewebe der Ephy35 lagen die O-Isorhizen in so geringer Dichte vor, dass der Median 0 (0; 0) ergab. Bei den Ephy15 war die durchschnittliche Anzahl der O-Isorhizen 24 (17; 32) ( $U_{1,43} = 0$ ). Das Restephyrengewebe war bei beiden Ephyrengruppen mit wenigen Nematocystentypen ausgestattet. Zwischen der Anzahl der Kapseln gab es keine signifikanten Unterschiede.

Beim Größenvergleich der Nematocysten in den Ephy35 und Ephy15, wie in Tabelle 24 gezeigt, waren die Eurytelen der Ephy35 sowohl in den Randlappen als auch im Gewebe der Restephyre signifikant länger, breiter und runder als die Eurytelen der Ephy15 (Randlappen:  $U_{1,118} = 590$ ,  $U_{1,118} = 247$ ,  $U_{1,118} = 1120$ ; Restephyre:  $U_{1,26} = 18$ ,  $U_{1,26} = 7$ ,  $U_{1,26} = 16$ ). Die a-Isorhizen der Ephy35 waren ebenfalls in beiden untersuchten Körperregionen länger und breiter als die der Ephy15 (Randlappen:  $U_{1,142} = 705,5$ ,  $U_{1,142} = 1135$ ; Restephyre:  $U_{1,137} = 1124$ ,  $U_{1,137} = 1423,5$ ). Die A- und O-Isorhizen, die nur im Gewebe der Restephyre gefunden wurden, waren in den Ephy35 signifikant länger (A-Isorhizen:  $U_{2,29} = 60,5$ ; O-Isorhizen:  $U_{1,66} = 159$ ) und signifikant breiter als in Ephy15 (A-Isorhizen:  $U_{1,29} = 7$ ; O-Isorhizen:  $U_{1,66} = 93$ ). Somit waren sowohl die Nematocysten in den Randlappen als auch im Restephyrengewebe in den Ephyren aus der höheren Hälterungssalinität (Ephy35) größer

als in den Tieren aus niedrigerer Salinität (Ephy15). Die Nematocysten der Ephyren aus Salinität 35 hatten durchschnittlich etwas rundere Nematocysten als die der Ephyren aus Salinität 15.

**Tabelle 24:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie der Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten im Gewebe von Ephyren aus Salinität 15 (Ephy15) und Ephyren aus Salinität 35 (Ephy35). \* $P < 0,05$ .

		Ephy15	Ephy35
<b>Randlappen</b>			
<b>Eurytelen</b>	L	<b>*11,2</b> (10,2; 11,5)	<b>*12,3</b> (11,2; 13,2)
	B	<b>*9,0</b> (9,6; 4,6)	<b>*10,2</b> (9,2; 10,9)
	L/B	<b>*1,3</b> (1,2; 1,4)	<b>*1,2</b> (1,1; 1,3)
<b>a-Isorhizen</b>		<b>*6,0</b> (5,4; 6,7)	<b>*6,9</b> (6,1; 7,8)
		<b>*4,1</b> (3,6; 4,6)	<b>*4,5</b> (4,0; 5,0)
		<b>*1,4</b> (1,3; 1,7)	<b>*1,5</b> (1,4; 1,7)
<b>O-Isorhizen</b>		<b>10,5</b> (9,2; 11,3)	-
		<b>9,4</b> (8,4; 10,2)	-
		<b>1,1</b> (1,1; 1,2)	-
<b>Restephyre/Mundrohr</b>			
<b>Eurytelen</b>		<b>*11,1</b> (10,0; 11,9)	<b>*11,8</b> (11,5; 12,7)
		<b>*9,1</b> (8,4; 9,5)	<b>*10,3</b> (9,7; 11,4)
		<b>*1,2</b> (1,2; 1,3)	<b>*1,1</b> (1,1; 1,2)
<b>A-Isorhizen</b>		<b>*9,5</b> (1,1; 6,7)	<b>*10,3</b> (8,9; 12,2)
		<b>*6,7</b> (5,6; 7,1)	<b>*9,3</b> (8,2; 11,1)
		<b>*1,5</b> (1,3; 1,6)	<b>*1,1</b> (1,0; 1,3)
<b>a-Isorhizen</b>		<b>*6,0</b> (5,4; 4,6)	<b>*6,8</b> (5,9; 7,6)
		<b>*4,2</b> (3,7; 4,6)	<b>*4,5</b> (3,8; 5,3)
		<b>1,5</b> (1,3; 1,6)	<b>1,5</b> (1,4; 1,6)
<b>O-Isorhizen</b>		<b>*10,2</b> (9,0; 11,5)	<b>*11,3</b> (10,2; 12,6)
		<b>*9,3</b> (8,1; 10,1)	<b>*10,5</b> (9,7; 11,4)
		<b>1,1</b> (1,0; 1,2)	<b>1,1</b> (1,0; 1,2)

### 3.2.5 Lebensstadien übergreifender Vergleich der Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen

In einem Lebensstadien übergreifenden Vergleich wurden die Nematocysten von Polypen, Ephyren und Medusen untersucht. Die Nesselkapseltypen wurden dazu in funktionell gleichen Körperteilen der Tiere miteinander verglichen (Tab. 4, S. 22).

Bedingt durch das unterschiedliche Vorkommen einzelner Kapseltypen in funktionell gleichen Körperteilen und die sich ergebenden verschiedenen Arten der Auszählung der Nematocysten (Nematocysten pro Körperteil, Zählquadrat oder Kapselbatterie) ergaben sich

bei der Untersuchung der Kapselverteilung zwei mathematisch auswertbare Vergleiche, deren Ergebnisse in Tabelle 25 dargestellt sind.

**Tabelle 25:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Anzahl der Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen im Lebensstadien übergreifenden Vergleich. a = a-Isorhizen, Sal. = Salinität. \* $P < 0,05$ .

	<b>Polyp (Sal. 35)</b>	<b>Epyhre (Sal. 35)</b>
<b>a/Quadrat in Tentakel</b>	<b>*14</b> (6; 28)	<b>*9</b> (5; 15)
	<b>Epyhren (Sal. 15)</b>	<b>Medusen (Sal. 15)</b>
<b>a/Randlappen</b>	<b>*9</b> (3; 14)	<b>*1</b> (0; 3)

Es wurde die Anzahl der a-Isorhizen in den Tentakeln von Meta-Ephyren im Vergleich mit der von Polypen-Tentakeln analysiert. Dabei zeigte sich, dass in den Polypen mit einem durchschnittlichen Wert von 14 (6; 28) Kapseln pro Zählquadrat die Kapseldichte der Tentakel signifikant höher war als im Tentakelgewebe der Meta-Ephyren mit 9 (5; 15) a-Isorhizen pro Zählquadrat ( $U_{1,66} = 244,5$ ).

Der zweite durchgeführte Vergleich war der der Dichte der a-Isorhizen in den Randlappen Ostsee-Ephyren und Medusen aus der Ostsee. Dieser Vergleich ergab pro Zählquadrat eine signifikant höhere Kapseldichte in Ostsee-Ephyren (Median 9, Perzentile 3; 14) als in Medusen aus der Ostsee (Median 1, Perzentile 0; 3) Zählquadrat ( $U_{1,112} = 65,5_{1,112}$ ).

Bei dem übergreifenden Vergleich der Kapselgrößen ergaben sich die in Tabelle 26 zusammengefassten die Größenunterschiede.

Bei Ephyren und Medusen waren die untersuchten Kapseltypen a- und O-Isorhizen in den Randlappen der Medusen signifikant länger (a-Isorhizen:  $U_{1,105} = 464,5$ ; O-Isorhizen:  $U_{1,136} = 19$ ), und von der Form her länglicher (a-Isorhizen:  $U_{1,105} = 470$ ; O-Isorhizen:  $U_{1,136} = 192$ ) als im Gewebe der Ephyren.

Ein Vergleich der Nesselkapseln in Restpolyp und Restephyre zeigte, dass die Kapseln in den Polypen tendenziell größer waren als in den Ephyren, ein signifikanter Unterschied war jedoch nur im Falle der Länge der a-Isorhizen zu finden ( $U_{1,119} = 589,5$ ).

Die Nematocysten der Tentakel in Polypen und Medusen waren keinem klaren Trend unterworfen. Die Eurytelen waren in den Polypen breiter ( $U_{1,132} = 25$ ) und von der Form her runder ( $U_{1,132} = 0$ ) als in den Medusen. Die a-Isorhizen waren dagegen in den Polypen schmaler als im Tentakelgewebe der Medusen ( $U_{1,200} = 1730$ ).

**Tabelle 26:** Mediane (fett) und Perzentile (10 %, 90 %) der Längen (L) und Breiten (B) angegeben in  $\mu\text{m}$  sowie die Längen-Breiten-Verhältnisse (L/B) von Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen im Lebensstadien übergreifenden Vergleich. \* $P < 0,05$ .

		Ephyre	Meduse
a-Isorhizen Randlappen	L	<b>*6,9</b> (6,1; 7,6)	<b>*7,7</b> (6,8; 8,7)
	B	<b>4,5</b> (4,0; 5,0)	<b>4,5</b> (4,0; 5,4)
	L/B	<b>*1,5</b> (1,4; 1,7)	<b>*1,7</b> (1,5; 1,8)
O-Isorhizen Randlappen		<b>*10,6</b> (9,0; 12,4)	<b>*14,0</b> (12,0; 15,5)
		<b>*9,7</b> (8,0; 11,4)	<b>*11,2</b> (10,5; 12,1)
		<b>*1,1</b> (1,0; 1,2)	<b>*1,2</b> (1,2; 1,3)
		Polyp	Ephyre
a-Isorhizen Restgewebe		<b>*6,8</b> (5,6; 7,5)	<b>*5,6</b> (5,1; 6,9)
		<b>4,2</b> (3,5; 4,7)	<b>3,8</b> (3,3; 4,6)
		<b>1,6</b> (1,4; 1,7)	<b>1,5</b> (1,3; 1,7)
O-Isorhizen Restgewebe		<b>11,6</b> (10,3; 12,6)	<b>11,4</b> (9,4; 12,4)
		<b>9,8</b> (9,1; 11,4)	<b>10,4</b> (8,3; 11,7)
		<b>1,1</b> (1,1; 1,2)	<b>1,1</b> (1,0; 1,2)
		Polyp	Meduse
Eurytelen Tentakel		<b>12,9</b> (10,7; 13,8)	<b>12,9</b> (11,4; 14,4)
		<b>*10,2</b> (9,6; 10,8)	<b>*7,4</b> (6,7; 8,6)
		<b>*1,3</b> (1,3; 1,3)	<b>*1,7</b> (1,6; 1,8)
a-Isorhizen Tentakel		<b>7,4</b> (6,8; 8,3)	<b>7,7</b> (6,5; 8,8)
		<b>*4,6</b> (4,3; 5,0)	<b>*4,2</b> (3,6; 4,7)
		<b>1,6</b> (1,5; 1,8)	<b>1,8</b> (1,6; 2,1)

### 3.2.6 Volumina der Nematocysten verschiedener Lebensstadien

Um die Größenunterschiede der einzelnen Nematocystentypen zwischen den verschiedenen Lebensstadien Polyp, Ephyre und Meduse noch stärker zu verdeutlichen, wurden von allen Nematocysten die Volumina berechnet. Die Spannweite der Werte reichte von  $38 \mu\text{m}^3$  (a-Isorhizen in Tentakel der Meta-Ephyren) bis  $4683 \mu\text{m}^3$  (A-Isorhizen im Tentakelgewebe der großen Nordsee-Meduse, Schirmdurchmesser 55 cm) (Tab. 27).

**Tabelle 27:** Minimales und maximales Volumen der Nematocysten verschiedener Lebensstadien.

Kapseltyp min. - max. [ $\mu\text{m}^3$ ]	Polyp	Ephyre	Meduse
Eurytele	403 - 755	239 - 703	373 - 969
A-Isorhize	nicht vorhanden	224 - 513	427 - 4683
a-Isorhize	55 - 100	38 - 75	73 - 127
O-Isorhize	506 - 788	460 - 660	668 - 1427

Betrachtet man die Nematocysten-Volumina in den Lebensstadien und Körperteilen der Untersuchungsgruppen ergeben sich bemerkenswerte Tendenzen, die als Übersicht in

Tabelle 27 dargestellt werden und für besondere Fälle im Folgenden detailliert beschrieben werden.

Die a-Isorhizen hatten von den vier untersuchten Kapseltypen das geringste Volumen. Die kleinste Kapsel dieses Typs wurde in Meta-Ephyren gefunden ( $38 \mu\text{m}^3$ ), die größte in Medusen aus der Ostsee ( $127 \mu\text{m}^3$ ). Den größten Wert erreichten die A-Isorhizen mit  $4683 \mu\text{m}^3$ , was mehr als das 120-fache des kleinsten Wertes ist.

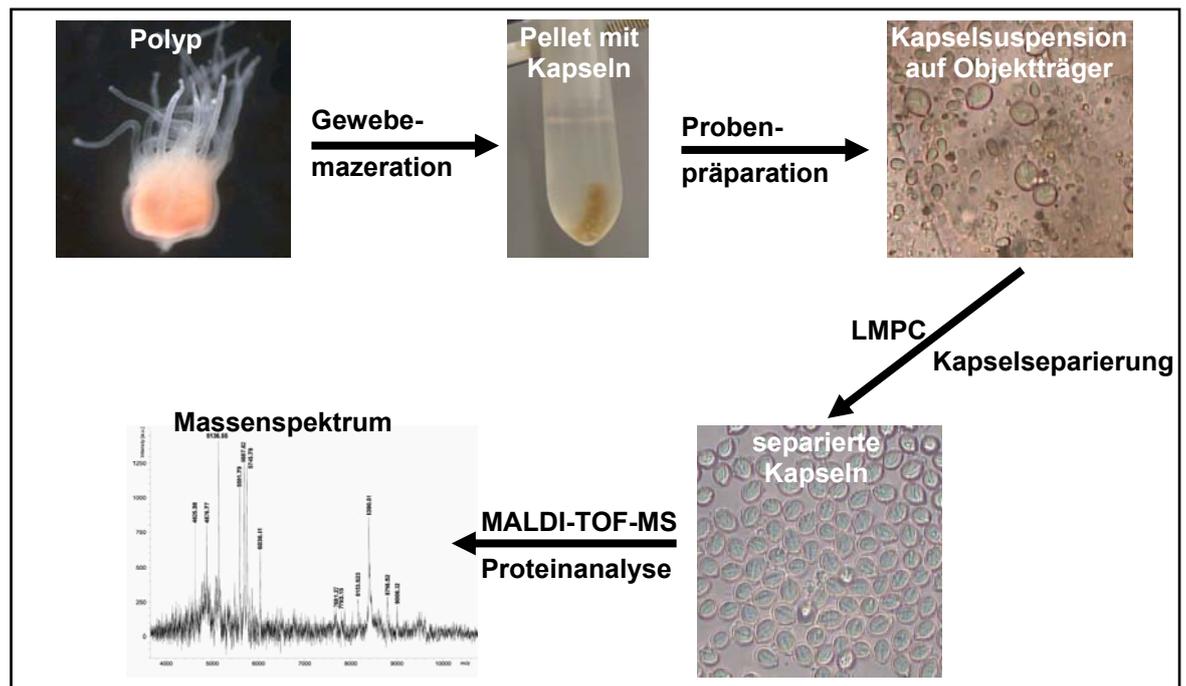
Die Werte wurden ihrer Größe nach in einer Rangfolge angeordnet. Die Nematocysten der Polypen hatten sehr unterschiedliche Volumina und konnten nicht klar in dieser Rangfolge mit den Ephyren und Medusen gebracht werden. Der kleinste errechnete Wert war  $54 \mu\text{m}^3$  (a-Isorhize), der größte lag bei  $788 \mu\text{m}^3$  (O-Isorhize). Die Werte für die Eurytelen und die a-Isorhizen waren über die gesamte Rangliste verstreut. Bei den O-Isorhizen zeigte sich die Tendenz, dass die Volumina der Polypen-Nematocysten in der unteren Hälfte der Rangliste lagen und dass die Polypen relativ zu den Medusen also eher kleine O-Isorhizen hatten.

Die Ephyren hatten tendenziell die kleinsten A-, a- und O-Isorhizen. Bei den Eurytelen der Ephyren war kein klarer Trend vorhanden, die Kapseln hatten sowohl Volumina im unteren als auch im oberen Bereich der Skala und zeigten eine Spannweite von  $38 \mu\text{m}^3$  (a-Isorhize) bis  $703 \mu\text{m}^3$  (Eurytele).

Im Falle der Medusen zeigten drei der vier untersuchten Nematocystentypen eine klare Tendenz. Die A-, a- und O-Isorhizen belegten jeweils die oberen Plätze in Rangliste. Die Medusen hatten also die im Vergleich zu den Polypen und Ephyren die größten Isorhizen. Die Volumina der Eurytelen waren bei den Medusen über gesamte Rangliste verstreut. Der kleinste Wert in der Gruppe der Medusen war  $73 \mu\text{m}^3$  (a-Isorhize), der größte  $4683 \mu\text{m}^3$  (A-Isorhize).

### 3.3 Protein-Inhalt der Nematocysten

Da die Kombination von LMPC mit MALDI-TOF-MS erstmals als Methode für die Untersuchung von Nematocysten angewandt wurde und ein neues Verfahren für die Untersuchung von Nesselkapseln darstellt, wurde als wesentliches Ergebnis dieser Arbeit eine Verfahrensanweisung für die Separierung und die massenspektrometrische Analyse von Nesselkapseln erstellt. Abbildung 24 gibt die Arbeitsschritte vor der massenspektrometrischen Analyse des Proteininhaltes wieder.

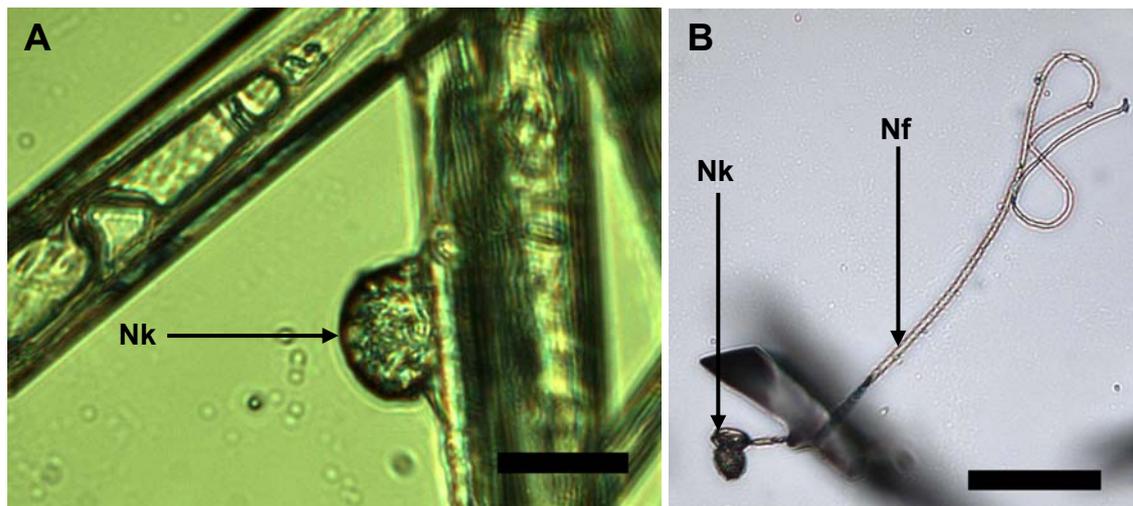


**Abbildung 24:** Fließschema der für die massenspektrometrische Proteinanalyse erfolgten Arbeitsschritte.

Als MALDI-Matrix wurde eine gesättigte Lösung von Sinapinsäure in Acetonitril/0,1%iger TFA (1:1 v:v) verwendet. Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung der Glastargets war eine optimale Kristallisation der Matrix festzustellen. Zwischen den Matrix-Kristallen waren sowohl intakte als auch entladene Nematocysten zu erkennen, wie Abbildung 25 zeigt. Die Glastargets haben sich als besonders geeignet erwiesen, da eine optische Kontrolle über den Entladungszustand und die Anzahl und Lage der Nesselkapseln erfolgen konnte.

Eine Entladung der Kapseln darf nicht während des Katapultierens mit LMPC erfolgen, da dadurch die Inhaltsstoffe verloren gehen könnten, sondern muss vor oder direkt während der massenspektrometrischen Analyse erfolgen.

Mit der entwickelten Methode war es möglich, zwei Nematocystentypen der Polypen (Eurytelen und  $\alpha$ -Isorhizen) sowie vier verschiedene Kapseltypen, der Medusen (Eurytelen, A-,  $\alpha$ - und O-Isorhizen) zu analysieren. Die Analysen der Nematocysten aus den Ephyren ergaben Spektren mit unzureichender Signalintensität. Sie wurden nicht in die Auswertung einbezogen.



**Abbildung 25:** Nematocysten zwischen Matrixkristallen auf einem Glastarget. (A) intakte A-Isorhize, Maßstab 20 µm. (B) entladene Kapsel, Maßstab 50 µm. Nf = Nesselfaden, Nk = Nesselkapsel.

Es wurden pro Probe bis zu acht Spots mit je einem Volumen von 1 µL auf das Target aufpipettiert. Es resultierten aus einer Nematocystenprobe folglich mehrere Spektren. Es wurden mindestens drei Spektren mit gleicher Signalverteilung und -intensität von jeder Probe ausgewertet. Es wurde die Komplexität der verschiedenen Spektren miteinander verglichen. Dabei wurden Signale gewertet, die ein Signal-Rausch-Verhältnis von >2 hatten.

Auf Grund der inhomogenen Kristallisation der untersuchten Kapselprobespots ergaben sich beim Vergleich der verschiedenen Spektren einer Probe Massendifferenzen von maximal 100 ppm für die detektierten Polypeptide, die jedoch im Bereich des Massenfehlers von ca. 100 ppm des verwendeten Messmodus (linearer Modus) lagen.

Die Ergebnisse werden im Folgenden als die Mediane der in den Spektren annotierten Massen der verschiedenen Proben in Form von Tabellen angegeben. Anhand von ausgewählten Spektren wird die Komplexität und Intensität der Massenpeaks verdeutlicht. In den abgebildeten Spektren ist die Abszisse mit  $m/z$  beschriftet. Die Einheit  $m/z$  entspricht bei einer angenommenen Ionenladung von +1 dem Molekulargewicht des Polypeptids in Dalton.

Das kleinste detektierte Polypeptid in allen untersuchten Proben hatte eine Molekülmasse von 3 314 Da, das größte eine Masse von 16 818 Da. Einige Polypeptide waren selten vertreten, andere waren in fast allen untersuchten Proben zu finden. Die in den Spektren gefundenen Peptidmassen wurden in Kategorien eingeteilt. Es gab Massen, die ausschließlich in einem Kapseltyp auftraten und solche die in zwei, drei oder vier verschiedenen Nematocystentypen zu finden waren. Rund ein Drittel der Massen waren in allen vier untersuchten Nematocystentypen Eurytelen, A-, a- und O-Isorhizen zu finden. Ein weiteres Drittel der Massen war in drei Nematocystentypen vertreten. Ein Viertel der

---

annotierten Massen waren in zwei verschiedenen Kapseltypen zu finden. Nur selten wurden Massen in ausschließlich einem der untersuchten Nematocystentypen gefunden.

### **3.3.1 Massenspektren des Nematocysteninhalts der Polypen**

In Tabelle 28 sind die Ergebnisse der massenspektrometrischen Untersuchung der Nematocysten von Polypen dargestellt.

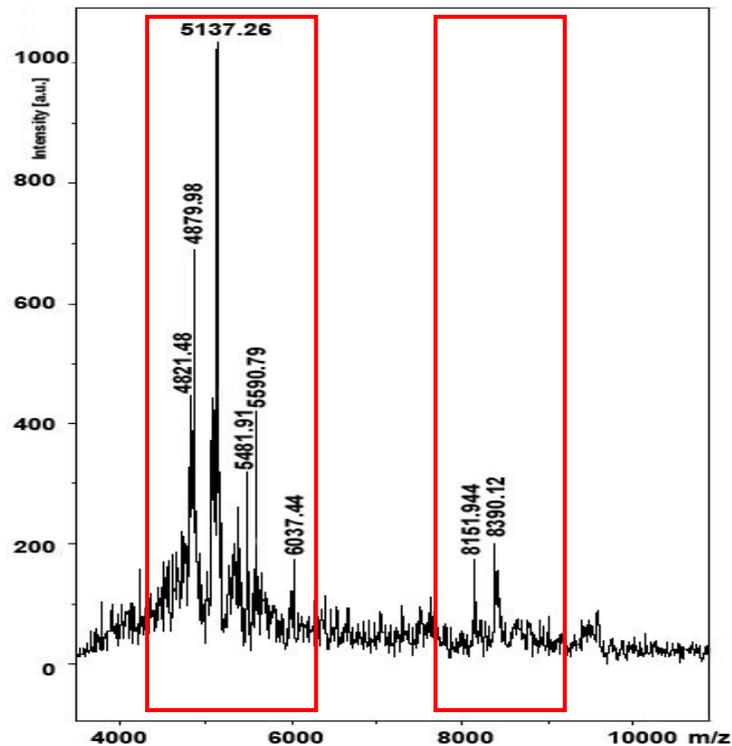
Die in den Eurytelen und  $\alpha$ -Isorhizen der Polypen gefundenen Peptidmassen lagen in einem Bereich von ca. 3 350 Da bis 16 800 Da.

Die meisten Massen waren in Spektren beider Nematocystentypen zu finden, lediglich 20 % der annotierten Massen waren entweder nur in den Eurytelen oder in den  $\alpha$ -Isorhizen vertreten. In allen untersuchten Proben waren die Massenpeaks nicht gleichmäßig über die Spektren verteilt, sondern in zwei Clustern im Bereich von 4 300 Da bis 6 100 Da und von 7 500 Da bis 8 500 Da angeordnet.

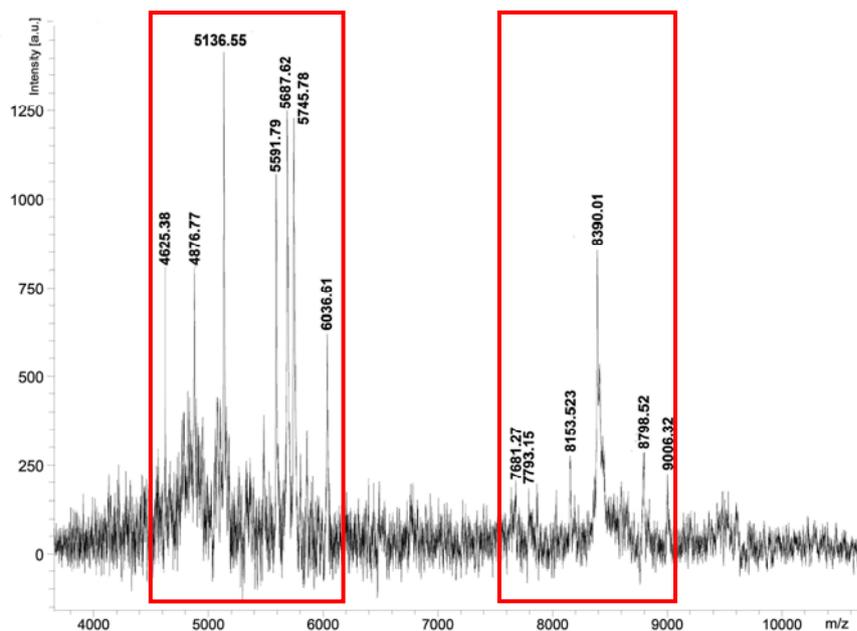
**Tabelle 28:** Detektierte Massen im Kapselinhalt von Polypen-Nematocysten. Gelbe Felder: Massen in Eurytelen und a-Isorhizen detektiert, graue Felder: Massen in Eurytelen (Eu) oder a-Isorhizen (a) detektiert. KoP 20 und KoP 35: Kontrollpolypen, Hälterungssalinität 20 bzw. 35; P35 o/v: Polypen aus Fütterungsversuch, oft und viel gefüttert; P35 s/v: Polypen aus Fütterungsversuch, selten und viel gefüttert. Rot gestrichelt umrandet: Massencuster.

KoP 20	KoP 35	P35 o/v	P35 s/v
3551	3552	3552	3547
	3588 (a)		
	3787		3794
3822		3837	
3870			
	3870	3872	
4047	4019	4033	4038
			4066
4134	4136	4132	4172
4274	4278	4280	
4295	4312	4320	
4434	4431	4426	4426
	4533	4539	4535
4549 (a)	4550 (a)		4550 (a)
4567	4567	4565	
4661	4663	4658	
	4724	4726	
	4799	4788	4786
4813 (Eu)			
4824	4823	4823	4821
	4843	4846	
4866	4866		
4881	4883	4880	4879
	4900	4896	
		4994 (a)	
5068	5080	5069	
5096	5096	5094	5095
	5106	5107	
5121			
5141	5139	5138	
	5156	5153	5151
5179		5180	5184
5217		5219	5221
	5392 (Eu)		
5487	5485	5484	
5595	5595	5593	5593
5608	5601	5601	
5678	5675	5674	5678
5694	5691	5690	5693
5754		5746	
5759	5764	5752	
5807		5806	5802
		5865	
5898			5902
6036	6036	6037	6036
	6107 (Eu)		
6730	6733		
	7677	7679	7674
	7885		
8003	7996	7991	
8086	8084	8078	
8160	8155	8153	
8226	8222	8220	8222
8396	8396	8391	8393
8402	8410	8406	8409
8448			8424
	8614	8614	8610
8623	8626	8631	8625
8748	8743	8737	
	8795	8796	8797
8806	8805	8806	8805
	8833		8846
	8940	8932	
9012	9005	9003	9006
10497 (Eu)			
12593 (Eu)	12594 (a)	12571 (Eu)	12579 (a)
16814	16806	16800	16790

Abbildung 26 und 27 zeigen Beispiele für Massenspektren von Eurytelen aus Polypen der Kontrollgruppe bzw. des Fütterungsexperiments. Die jeweils beiden Bereiche höherer Massendichte sind in den Spektren durch rote Rechtecke markiert.



**Abbildung 26:** Massenspektrum von Eurytelen aus Polypen der Kontrollgruppe (Fütterung mit *Artemia*-Nauplien alle zwei Wochen). Die beiden Bereiche mit höherer Massendichte sind mit roten Rechtecken umrandet.



**Abbildung 27:** Massenspektrum von Eurytelen aus Polypen des Fütterungsexperimentes (oft und viel mit *Artemia*-Nauplien gefüttert). Die beiden Bereiche mit höherer Massendichte sind mit roten Rechtecken umrandet.

Das Muster dieser Cluster unterschied sich nicht wesentlich zwischen den verschiedenen Untersuchungsgruppen und den beiden Nematocystentypen Eurytele und a-Isorhize. Die Spektren der Nematocysten von Polypen aus verschiedenen Hälterungssalinitäten und der Tiere, die ein Fütterungsexperiment durchlaufen hatten, zeigten große Ähnlichkeiten und ließen nur geringe tendenzielle Unterschiede in der Komplexität der Massen innerhalb der Cluster erkennen. So waren in den Spektren der oft gefütterten Polypen sowie in denen der Tiere aus der Hälterungssalinität 35 tendenziell mehr Molekülmassen zu erkennen als bei den selten gefütterten Polypen und den Polypen der Salinität 20.

### **3.3.2 Massenspektren des Nematocysteninhalts der Medusen**

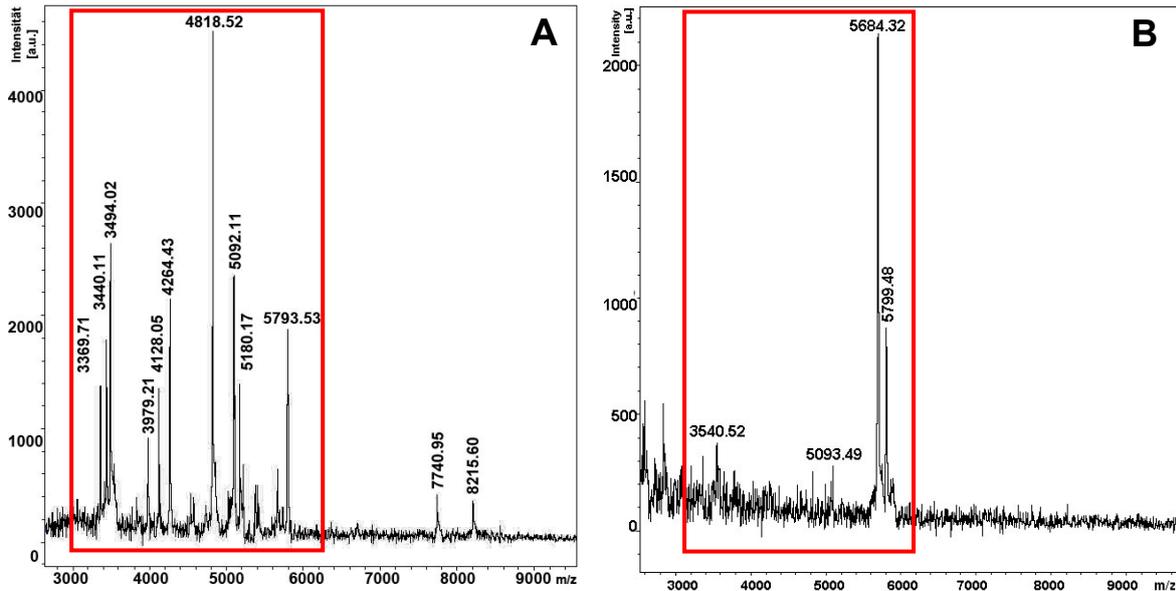
Tabelle 29 gibt die Ergebnisse der massenspektrometrischen Analysen der Proteininhaltsstoffe der Nematocysten von Medusen wieder.

Die Analyse des Inhaltes der Nematocysten aus Medusen ergab Spektren mit Peptidmassen von ca. 3 300 Da bis fast 17 000. Innerhalb dieses Bereiches wurden zahlreiche Massen detektiert, so dass sich ein komplexes Muster in den Spektren ergab. Der Vergleich des Nematocysteninhaltes von Medusen mit kleineren und größeren Schirmdurchmesser zeigte tendenziell eine leicht erhöhte Komplexität des Peakmusters bei Medusen mit einem größeren Schirmdurchmesser. Zwischen den verschiedenen Nematocystentypen Eurytelen, A-, a- und O-Isorhizen wurden keinen Unterschiede in der Komplexität der Massenspektren gefunden. Die Nematocysteninhalte der Ostseemedusen ergaben insgesamt Spektren mit weniger komplexen Proteinmustern als die der Nordseemedusen. Besonders in der Untersuchungsgruppe der kleinen Medusen aus der Ostsee wurden im Vergleich zu den anderen Spektren nur wenige Massen detektiert. Abbildung 28 zeigt die Massenspektren von A-Isorhizen von Medusen aus der Nordsee (Schirmdurchmesser 16-31 cm) bzw. kleinen Medusen aus der Ostsee (Schirmdurchmesser 4-11 cm).

In diesen beiden Spektren ist eine Häufung von Molekülmassen im unteren Massenbereich von ca. 3 300 Da bis 5 700 Da zu erkennen. Im höheren Massenbereich liegen vereinzelt Massen vor. Das Muster dieser beiden Spektren mit Clustern im unteren Massenbereich und vereinzelt Massen im höheren Bereich war ebenfalls in den anderen Untersuchungsgruppen der größeren Nordseemedusen und Ostseemedusen zu sehen. Hinsichtlich der Unterschiede zwischen den verschiedenen massenspektrometrisch untersuchten Nematocystentypen waren keine Unterschiede festzustellen. Das Massenmuster der einzelnen Kapseltypen ähnelte sich.

**Tabelle 29:** Detektierte Massen im Kapselinhalt von Medusen-Nematocysten. Gelbe Felder: Massen in allen Kapseltypen gefunden, hellblaue Felder: Massen in zwei bis drei Kapseltypen gefunden, graue Felder: Massen in einem Kapseltyp (A = A-Isorhizen, Eu = Eurytelen, O = O-Isorhizen) gefunden. Ns = Medusen aus der Nordsee, Os = Medusen aus der Ostsee. Rot gestrichelt umrandet: Massencluster.

kleine Ns	mittelgroße Ns	große Ns	kleine Os	große Os
3316	3319	3300		
3344	3370	3377		
3442	3442	3447		3441
	3494	3487		3509
3538	3547	3550	3553	3547
3564	3563	3563		3571
	3564			
	3802	3790		
3824	3825	3827	3831	3825
3851	3846			
	3878			
3969	3980			
4034	4037	4036		
4085	4096	4081		
4127	4129	4131		4124
		4176		
4268	4266	4267	4266	4265
		4317 (A)		
4376	4371	4377		
	4431	4435		
4528	4533			
4539	4547	4544		4547
	4566	4566		
4675	4678			
4758 (A)				
	4790	4785		
4804	4817	4814		4815
4821	4821	4822	4820	4821
	4846			
	4861			
	4890	4782		
4994	4990	4991		
	5061	5062	5069	5066
5093	5092	5094	5092	5092
5110	5107	5108		
	5149 (Eu)	5161 (A)		
5183	5181	5184		5179
	5217		5217	5216
5221 (A)	5221 (A)	5220 (A)		
	5298	5291		
5387	5381	5385		5379
	5403	5403		
	5433	5435		
5594	5587	5590		
5601	5603	5608		5629
5672	5674	5675		5673
5696	5697	5689	5688	5691
5734	5732	5742		5733
				5751
5795	5796	5795	5795	
5801	5802	5804	5803	5805
				5858 (A)
	5895		5894	
6038		6041		6036
		6112		6105
6174		6163		6182
	6727 (O)			
	6881	6887		
7748	7743	7745	7755	7741
7763	7756	7757		
7868	7883			
		8114 (O)		
	8147 (O)			
8219	8219	8220	8220	8222
	8395	8272		8401
8608			8609	
	8603			
	8851	8837		
16978 (A)		10321 (Eu)		



**Abbildung 28:** Massenspektrum von A-Isorhizen aus Nordseemedusen (A) und Ostseemedusen (B).

### 3.3.3 Vergleich der Massenspektren von Nematocysten aus Polypen und Medusen

Ein Vergleich der Spektren von Nematocysten aus Polypen mit denen aus Medusen zeigte insgesamt qualitativ bessere Spektren in allen Proben der Polypenkapseln. In den Spektren der Nematocystenproben der Polypen waren die Signalintensitäten im Vergleich zu den Medusenproben hoch und hoben sich von den jeweiligen gemessenen Untergrundintensitäten deutlich ab. Die Qualitäten der Massenspektren von Nesselkapseln aus Medusen waren insgesamt etwas schlechter. Es wurde jedoch kein Zusammenhang zwischen der Anzahl der Nematocysten in den untersuchten Proben und Qualität der Spektren bei den Polypen und den Medusen festgestellt.

Der Lebensstadien übergreifende Vergleich der Spektren ließ Unterschiede in den Mustern der annotierten Massen in Nematocysten von Polypen und Medusen erkennen. Die Spektren der Nematocysten aus Polypen wiesen eine erhöhte Dichte von Molekülmassen in zwei Bereichen auf (Abb. 26 und 27). Die Nesselkapseln der Medusen zeigten bei der massenspektrometrischen Analyse eine Häufung von Massen im unteren bis mittleren Massenbereich (Abb. 28). Der Massencluster der Medusen überschneidet sich mit den Massen im unteren Massenbereich der Polypen (unterer Massencluster), welches bei der Untersuchung der Polypen-Nematocysten festgestellt wurde.

Einige Massen waren sowohl in den untersuchten Nematocysten der Polypen als auch in denen der Medusen zu finden. Dies waren vor allem Massen im niedrigen Massenbereich wie 5 092 Da, 5 674 Da und 5 691 Da sowie 8 220 Da.

---

Die Masse 4 550 ( $\pm 3$ ) Da war in fast allen Untersuchungsgruppen der Polypen in den a-Isorhizen zu finden. Im Proteininhalt der A-Isorhizen der Medusen wurde die Masse 5 221 ( $\pm 1$ ) Da detektiert. Es wurden keine weiteren Kapsel- oder Lebensstadien spezifische Molekülmassen ausgemacht.

## 4 Diskussion

Medusen nehmen eine große Rolle in marinen Nahrungsnetzen ein. Sie ernähren sich u. a. von Zooplankton und zählen zu den Top-Prädatoren. Im Zusammenhang mit einer Änderung des Klimas wird eine Zunahme von Quallenblüten und Übernahme von ganzen Ökosystemen durch Quallen diskutiert (Mills 2001, Hay 2006, Lynam et al. 2006, Purcell et al. 2007, Richardson et al. 2009).

Die Nematocysten sind ein charakteristisches Merkmal der Cnidaria und werden bei Beutefang und Verteidigung eingesetzt. Bisher wurden die Nesselkapseln von *C. capillata* in den Polypen (Calder 1971), Ephyren (Calder 1977) und Medusen (Östman & Hydman 1997) beschrieben. Die Literatur ist allerdings lückenhaft, da z. B. die Lage der Kapseln in Ephyrengewebe während ihrer Entwicklung zur Meduse nicht berücksichtigt wurde. Der Einfluss verschiedener Umweltfaktoren wie Salinität und Futter auf die Nesselkapseln wurde bisher ebenfalls nicht analysiert. Die Ergebnisse solcher Untersuchungen können Hinweise auf eine mögliche Anpassung der Tiere auf eine sich ändernde Umwelt geben.

### 4.1 Identifizierung der Nesselkapseltypen

In den drei untersuchten Lebensstadien von *C. capillata* wurden bis zu vier verschiedene Nematocystentypen identifiziert. A-, a- und O-Isorhize, die zur Gruppe der homotrichen Haplonemen gehören und ein Typ aus der Gruppe der Heteronemen, die mikrobasische Eurytele. Die Identifizierung der verschiedenen Nematocystentypen erfolgte in der vorliegenden Arbeit bei den Polypen und Ephyren mit Hilfe der Nematocystenbeschreibungen von Calder (1971, 1977) und bei den Medusen mit Hilfe von Östman & Hydman (1997).

### 4.2 Lichtmikroskopische Untersuchungen

In den folgenden Kapiteln werden die Ergebnisse der lichtmikroskopischen Untersuchungen diskutiert. Es wird auf die morphologischen Daten der Nematocysten und auf ihre Verteilung im Gewebe eingegangen.

#### 4.2.1 Nematocysten der Polypen

Calder (1971) fand bei seinen Untersuchungen zur Nesselkapselausstattung von Polypen in *C. capillata* drei Kapseltypen, Eurytelen,  $\alpha$ - und a-Isorhizen. Die  $\alpha$ -Isorhizen befanden sich vor allem in der Mundregion des Polypen und unterschieden sich von den a-Isorhizen durch eine länglichere Kapselform mit einem Längen-Breiten-Verhältnis von 2,67-2,81 im Vergleich zu einem Wert von 1,52-1,53 bei den a-Isorhizen. Die  $\alpha$ -Isorhizen sind demnach durch eine sehr lang gestreckte Form gekennzeichnet und eindeutig identifizierbar. In der vorliegenden Arbeit wurden sie in keiner der untersuchten Gewebeproben von Polypen gefunden. Die

Hälterungsbedingungen in der Arbeit von Calder (1971) sind mit denen der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Der Grund für das Auftreten des Kapseltyps  $\alpha$ -Isorhize in den von Calder untersuchten Polypen ist vermutlich das Vorliegen zweier verschiedener *Cyanea*-Arten in der Studie von Calder und in der vorliegenden Arbeit. Untersuchungen und Vergleiche von *C. capillata*-Medusen, die an unterschiedlichen Orten gesammelt worden waren, zeigten genetische und morphologische Abweichungen voneinander und wurden daher von den Autoren verschiedenen *Cyanea*-Arten zugeordnet (Bayha 2005, Dawson 2005)

Die Nematocysten der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Polypen zeigten eine klare Verteilung in den Körperteilen der Tiere. Die hohe Dichte der Nematocysten in den Tentakeln ist auf die Art des Beutefangs zurückzuführen, denn die Tentakel dienen dem Polypen als Fangorgan. Der sessile Polyp fängt vorbei treibendes Zooplankton mit den Tentakeln und führt dieses zur Mundöffnung, um es zu fressen (Werner 1993, Arai 1997).

Die  $\alpha$ -Isorhize ist der dominierende Kapseltyp im Tentakelgewebe der Polypen. Er wird in der Literatur als Kapseltyp beschrieben, deren Nesselfaden sowohl hartschalige Krebslarven (*Artemia* sp.) als auch menschliche Haut durchschlägt (Heeger et al. 1992, Östman & Hydman 1997). Die  $\alpha$ -Isorhizen waren in allen Lebensstadien von *C. capillata* zu finden. Daher kann angenommen werden, dass dieser Typ die „Grundausstattung“ des Cnidoms bildet, da er die verschiedenen Körperoberflächen eines breiten Beutespektrums durchschlägt. Die in den Tentakeln sehr vereinzelt auftretenden Eurytelen werden ebenfalls als Durchschlagskapseln beschrieben (Rifkin & Endean 1983, Heeger & Möller 1987, Heeger et al. 1992). Ihre wesentlich geringere Anzahl ist möglicherweise auf höhere energetische Kosten für die Produktion dieses komplexer gebauten Kapseltyps zurückzuführen, an dessen Basalteil des Nesselfadens ein Schaft mit Dornen ausgebildet ist.

Die beiden Kapseltypen in den Polypententakeln, Eurytele und  $\alpha$ -Isorhize, erfüllen vermutlich während des Beutefangs unterschiedliche Aufgaben. Untersuchungen von Colin & Costello (2007) zur Messung der Nesselfadenlängen und Entladungsgeschwindigkeiten verschiedener Nematocystentypen von *C. capillata* ergaben, dass die  $\alpha$ -Isorhizen einen kürzeren Nesselfaden als die Eurytelen hatten und der Nesselfaden der  $\alpha$ -Isorhizen mit einer niedrigeren Geschwindigkeit aus der Kapsel herausgeschleudert wurde (Colin & Costello 2007). In einer Studie von Heeger und Möller (1987) zu den Nematocysten von *Aurelia aurita*-Medusen wurde außerdem beobachtet, dass die  $\alpha$ -Isorhizen die Haut von Heringslarven nur mit zwei Drittel der Fadenlänge durchschlugen und der restliche Faden an der Oberfläche der Fischlarve haften blieb. Die  $\alpha$ -Isorhize ist demnach eine weniger effiziente Durchschlagskapsel als die Eurytele. Die Eurytelen vollziehen beim Beutefang möglicherweise eine erste Injektion von Toxinen in das Beutetier, während die kürzeren und langsameren Fäden der  $\alpha$ -Isorhizen die Epidermis der Beute nur teilweise durchschlagen und durch Anhaftung an der Oberfläche die Beute festhalten.

Das Mundfeld des Polypen ist die Zone für die Produktion der Nematocysten, die nach der Bildung entlang der Tentakel in die Epidermis eingelagert werden (Werner 1993). In den untersuchten Polypen trug der Bereich des Polypenmundfeldes Eurytelen.

Im Restpolypengewebe aller Polypen befanden sich Eurytelen und wenige bis viele O-Isorhizen. O-Isorhizen wurden ebenfalls von Calder (1971) im Restpolypengewebe von *Chrysaora quinquecirrha* (Desor, 1848) gefunden, die wie *C. capillata* zu den Fahnenmundquallen (Semaestomeae, Scyphozoa) gehören. Die Anzahl der O-Isorhizen war vor allen in den Sommermonaten bei großen Polypen dieser Art hoch. Der Autor vermutete, dass dieser Kapseltyp kurz vor der Strobilation im Polypen gebildet wird, um die Kapsel in das Gewebe der sich ablösenden Ephyren zu integrieren. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Polypen, die besonders viele O-Isorhizen in ihrem Restgewebe trugen, stammten tatsächlich aus einer Kultur, in der viele Polypen strobilierten. Ein Zusammenhang zwischen bevorstehender Strobilation und dem Vorhandensein von O-Isorhizen in den Polypen von *C. capillata* ist demzufolge wahrscheinlich.

Ein Vergleich der Kapselgrößen mit Werten aus der Literatur ergab eine gute Übereinstimmung mit den hier gefundenen Werten. Die Eurytelen und a-Isorhizen der Polypen aus unterschiedlichen Hälterungssalinitäten (15, 20 und 35) waren etwas größer als die in der Arbeit von Calder (1971) untersuchten Nematocysten. Die Differenz zwischen den Werten lag für die Eurytelen bei durchschnittlich 1,7  $\mu\text{m}$  für Länge und Breite. Die von Calder vermessenen a-Isorhizen waren 0,45  $\mu\text{m}$  kürzer und 0,1  $\mu\text{m}$  schmaler als die in dieser Arbeit untersuchten Kapseln. Diese Differenz könnte eventuell mit den unterschiedlichen Größen der untersuchten Polypen zusammenhängen. Ein Größenvergleich ist jedoch nicht möglich, da Calder die Länge der Polypenkörper maß, während in dieser Arbeit der Durchmesser des Calyx im Bereich des Tentakelkranzes zur Größenbestimmung herangezogen wurde.

#### 4.2.2 Nematocysten der Ephyren

Calder (1977) beschrieb die Nematocysten der Ephyren von *C. capillata* und fand Eurytelen, A-, a- und  $\alpha$ -Isorhizen. Außerdem fand er in den untersuchten Ephyren die so von ihm bezeichneten Anisorhizen, welche mit den O-Isorhizen der vorliegenden Arbeit gleichzusetzen sind. Die hier gefundenen Nematocystentypen stimmen weitgehend mit denen von Calder beschriebenen überein. Wie bei den Polypen fand der Autor jedoch den zusätzlichen Nematocystentyp  $\alpha$ -Isorhize, vor allem in den distalen, also zuerst abgeschnürten Ephyren. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch in keinem der untersuchten Tiere dieser Kapseltyp identifiziert. Auffällig war die geringe Anzahl von A-Isorhizen, die Calder in den Ephyren fand. So waren lediglich zwei A-Isorhizen in den 25 untersuchten Tieren vorhanden, wogegen in der vorliegenden Arbeit in drei der sieben untersuchten Präparate dieser Nematocystentyp zu finden war.

Die gefundene Verteilung der Nematocysten deckt sich mit der in der Literatur beschriebenen Ernährungsweise der Ephyren (Higgins et al. 2008). Die Ephyren bewegen sich schwimmend vorwärts, indem sie Randlappen und Schirm kontrahieren. Während dieser die Bewegung ist die zurückgelegte Strecke relativ klein. Die Ephyren nutzen die Schwimmbewegung zum Beutefang, der hauptsächlich mit Mundrohr (44 %) und Randlappen (35 %) stattfindet (Higgins et al. 2008). Die hier gefundene Verteilung von a-Isorhizen über die gesamte Fläche der Randlappen und die Ansammlungen von Eurytelen in den Randlappenspitzen bestätigen die Beobachtungen von Higgins et al (2008).

Die gemessenen Größen der Nematocysten stimmten mit denen in der Literatur angegebenen größtenteils überein (Calder 1977). Der größte Unterschied zwischen den Kapselgrößen der Ephyren lag im Bereich von 2  $\mu\text{m}$ , wobei zu berücksichtigen ist, dass bei Calder (1977) die Hälterungssalinität mit einem Wert zwischen 15 und 21 von der Hälterungssalinität der Ephyren in der vorliegenden Arbeit abweicht (Salinität 35). Der Vergleich der Kapselmaße von Calder ist demzufolge nur bedingt möglich (s. Kapitel 4.2.6.4, S. 78).

#### **4.2.3 Nematocysten in Medusen**

Die Nematocysten in Nordsee-Medusen mit einem Schirmdurchmesser von 10-20 cm waren Eurytelen, A-, a- und O-Isorhizen. Östman & Hydman (1997) beschreiben neben den in der vorliegenden Arbeit identifizierten Kapseltypen einen weiteren Nematocystentyp, den Birhopaloid. Dieser gehört zur Gruppe der Heteronemen, der Nesselfaden gliedert sich in einen basalen Schaft und den eigentlichen Nesselfaden. Der Schaft ist hantelförmig, also an beiden Enden verdickt (Werner 1965). Die Eurytelen besitzen einen keulenförmigen, einfach verdickten Schaft. Die Unterscheidung der Eurytelen und Birhopaloide ist im entladenen Zustand mit Hilfe eines Vergleichs der Schaftformen relativ einfach. Laut Östman & Hydman (1997) können die beiden Kapseltypen auch im unentladenen Zustand durch die rundere Form der Birhopaloide voneinander unterschieden werden. Das Längen-Breiten-Verhältnis der Eurytelen lag laut der Studie bei durchschnittlich 1,7, während das der Birhopaloide im Durchschnitt 1,3 betrug. Da die Unterschiede zwischen den beiden Kapseltypen in der unentladenen Kapsel gering sind, konnten sie in der vorliegenden Arbeit mit den angewandten lichtmikroskopischen Untersuchungsmethoden nicht voneinander unterschieden werden. Daher wurden alle Nematocysten, in deren Kapselinnern ein Schaft am Nesselfaden zu erkennen war, als Eurytelen bezeichnet.

Die nematocystenreichsten Körperteile der Meduse waren die Tentakel mit einer hohen Dichte an Nesselkapselbatterien. Der dominierende Kapseltyp war die a-Isorhize, gefolgt von der Eurytele. A- und O-Isorhizen waren in geringerer Zahl vorhanden. Das gleiche Muster ist in der Studie von Östman & Hydman (1997) zu erkennen. Die Tentakel sind das wichtigste

Fangorgan der Medusen. Während der Schwimmbewegung wird Wasser mit dem Schirm entlang der Tentakel transportiert und Beutetiere mit Hilfe der Tentakel gefangen (Costello & Colin 1995). Die weiter distal liegenden Tentakelanteile dienen als „Angeln“ und fischen kleine Beutetiere aus dem Wasser. Der hohe Besatz mit Nesselkapseln stellt sicher, dass Beutetiere ausreichend paralytisiert werden, um in die Mundlappen und weiter in die Mundöffnung transportiert werden zu können.

Entsprechend dieser Verteilung der Nematocysten nach ihrer Funktion war die Anzahl der Nematocysten im basalen Teil der Tentakel wesentlich geringer. Die Zahl der O-Isorhizen nahm zu, die der anderen Kapseltypen stark ab. Die basalen Teile der Tentakel sind eventuell von geringerer Bedeutung für den Beutefang als die Tentakelspitzen. Die Abnahme der Nematocystenzahl innerhalb der Kapselbatterien und schließlich das Verschwinden von Batterien im Basisteil der Tentakel wurden ebenfalls von Östman & Hydman (1997) beschrieben.

Die Mundlappen waren durch das Vorhandensein von A- und O-Isorhizen in Batterien und eine erhöhte Kapseldichte am Rand der Mundlappen charakterisiert. Sie dienen der Aufnahme und der Verdauung von großen Beutetieren (Arai 1997). Die gefundenen A-Isorhizen waren wesentlich kleiner als die in den Tentakeln gefundenen und in ihrer Form den a-Isorhizen ähnlich, wodurch eine Unterscheidung schwierig war. Eine Abgrenzung der kleinen A-Isorhizen von den a-Isorhizen erfolgte auf Grund der unterschiedlichen Wicklung des Nesselfadens in der Kapsel. Die erhöhte Dichte von Nematocysten am Rand des Mundlappengewebes und die Kapselbatterien mit A- und O-Isorhizen wurden ebenfalls von Östman & Hydman (1997) gefunden.

Die lichtmikroskopisch untersuchten Gastralfilamente der Medusen enthielten Eurytelen und O-Isorhizen. Mit Eurytelen ausgestattete Gastralfilamente wurden bereits bei den Spezies *Rhopilema verrilli* (Fewkes, 1887) und *Deepstaria reticulum* Larson, Madin & Harbison, 1988 (Klasse Scyphozoa) gefunden (Calder 1972, Larson et al. 1988). Die Nesselkapseln dienen wahrscheinlich dem Festhalten und Paralisieren der Beutetiere nahe der Gastrodermis im Magenraum der Meduse und der Ausschüttung von Verdauungsenzymen in den Magenraum hinein (Arai 1997).

Die Kapseldichte in Exumbrella und Randlappen war in der vorliegenden Arbeit insgesamt niedriger als in den anderen untersuchten Körperteilen. Die Kapseldichte in den Randlappen war dabei wesentlich höher als im zentralen Teil der Exumbrella, was auch Östman & Hydman (1997) feststellten. Die Exumbrella spielt als Fangorgan für Beute eine untergeordnete Rolle und enthält daher nur wenige Nematocysten. Die Randlappen drücken während des Schwimmens bei der Kontraktion das Wasser nach unten, so dass es an den Tentakeln entlang geleitet (Costello & Colin 1995). Die Randlappen tragen mit ihrer erhöhten Nematocystendichte vermutlich zum Beutefang bei.

In der Literatur sind Vergleichswerte für die Nematocystengrößen von *C. capillata* für die Kapseln in verschiedenen Körperteilen angegeben. Heeger et al. (1992) fanden für die Nematocysten aus Tentakelmaterial von Medusen (Schirmdurchmesser 12-22 cm) etwas kleinere Werte als die in dieser Arbeit gefundenen Werte der Kapselgrößen. Die Abweichung der Werte voneinander belief sich auf maximal 2,6  $\mu\text{m}$ . Östman & Hydman (1997) fanden in den Tentakeln, Tentakelbasen und Mundlappen der Medusen Nematocystengrößen, die weitgehend mit den hier gefundenen Werten übereinstimmen.

#### **4.2.4 Vergleich verschiedener Entwicklungsstadien von Ephyren**

Die Verteilung der Nesselkapseln im Gewebe von Ephyren änderte sich mit zunehmendem Alter der Tiere deutlich. Grund für diese Veränderung der Nematocystenverteilung während der Ontogenese ist höchst wahrscheinlich einer Änderung des Beutefangmodus. Die frisch abgelösten Ephyren mit einem durchschnittlichen Gesamtdurchmesser von ca. 2,4 mm durchschwimmen das Wasser mit einer relativ niedrigen Geschwindigkeit durch Kontraktion ihres sternförmigen Schirms. Während der Schwimmbewegung wird das Wasser mit Hilfe der Randlappen durchsiebt (Higgins et al. 2008). Die Körperteile, mit denen diese jungen Ephyren ihre Beute fangen, sind hauptsächlich Randlappen und Mundrohr. Mit fortschreitendem Tentakelwachstum (ab ca. einer Woche) nahmen die Anzahl der Eurytelen in den Randlappenspitzen und die a-Isorhizen ab. Die Tentakel, die dicht mit A- und a-Isorhizen besetzt sind, lösen die Randlappen und das Mundrohr im Laufe der Ontogenese als Körperteil für den Beutefang ab.

Auch die Größe der Kapseln ändert sich mit zunehmendem Alter der Ephyren. Die Nematocysten waren in den jungen Ephyren größer als in den älteren Ephyren. In der Literatur wurden keine Werte für Nematocystengrößen von Ephyren verschiedenen Alters gefunden. Die Nematocysten der jungen Ephyren waren in den Körperteilen groß, mit denen sie ihre Beute fangen, in Randlappen und Mundrohr bzw. Restephyrengewebe. Möglicherweise wird durch die Größe der Kapseln sichergestellt, dass trotz der geringen Zahl der Nematocysten im Gewebe eine ausreichende Toxinmenge vorhanden ist, mit der Beute paralytisiert werden kann. Hinzu kommt, dass die Produktion weniger großer Nematocysten wahrscheinlich energetisch günstiger ist als die Herstellung vieler kleiner Nematocysten.

#### **4.2.5 Vergleich von Medusen unterschiedlichen Schirmdurchmessers**

Die Veränderung der Nematocysten in adulten Medusen unterschiedlicher Größe drückte sich vor allem in der sich ändernden Anzahl aus. Die generelle Verteilung der Nesselkapseltypen war in diesem erreichten Lebensstadium dagegen konstant.

Die Kapselbatterien in den Tentakeln der Meduse mit einem Schirmdurchmesser von 55 cm enthielten, je nach beteiligten Kapseltypen, die drei- bis fünffache Anzahl an Nematocysten verglichen mit den Kapselbatterien der mittelgroßen Medusen (Schirmdurchmesser 10-20 cm). Bei den Nematocysten in den Mundlappen war ein ähnlicher Trend zu erkennen. Östman & Hydman (1997) stellten ebenfalls bei der Untersuchung von *C. capillata*-Medusen mit einem Schirmdurchmesser von bis zu 42 cm einen starken Anstieg der Nematocystenzahl in den Nesselkapselbatterien fest. Dabei war die stärkste Zunahme beim Kapseltyp Eurytele zu beobachten, was sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit deckt.

Die untersuchten Nematocysten in der großen Meduse waren tendenziell größer als in den Tieren mit einem durchschnittlich kleineren Schirmdurchmesser. Die Abhängigkeit der Kapselgröße von der Körpergröße eines Tieres wurde auch in der Kronenqualle *Periphylla periphylla* (Perón & Leseur, 1809) sowie verschiedenen Seeanemonen beobachtet (Jarms et al. 2002, Francis 2004). Östman & Hydman (1997), die die Größe verschiedener Nematocysten in Abhängigkeit vom Schirmdurchmesser von Medusen untersuchten, fanden einen Anstieg der Längen und Breiten der Nesselkapseln. Besonders deutlich war dieser Trend bei den Kapseltypen A- und O-Isorhizen in Medusen mit einem Schirmdurchmesser bis 20 cm. Die größte von Östman & Hydman (1997) untersuchte *C. capillata*-Meduse hatte einen Schirmdurchmesser von 40 cm. Ein direkter Vergleich der ermittelten Kapselgrößen mit den in der vorliegenden Arbeit gemessenen Werten der großen Meduse (Schirmdurchmesser 55 cm) ist daher nur bedingt möglich. Die von Östman & Hydman (1997) ermittelten Nematocystengrößen stützen jedoch die These des Zusammenhangs zwischen dem Schirmdurchmesser und der Größe der Nesselkapseln.

Dieser Trend zu größeren Nematocysten in Medusen mit einem größeren Schirmdurchmesser trat in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht in allen Körperteilen auf. In den Mundlappen und in den Gastralfilamenten waren die Eurytelen in der Gruppe der kleineren Medusen entgegen dem allgemeinen Trend größer als im Tier mit dem Schirmdurchmesser von 55 cm. Außerdem war in den Gastralfilamenten die erhöhte Anzahl von O-Isorhizen in den kleineren Medusen auffällig. Die Mundlappen dienen der Verdauung von Beute außerhalb des Magens. Die Gastralfilamente im Magenraum halten Beute fest und schütten Enzyme in den Verdauungsraum aus (Arai 1997). Möglicherweise dient die Erhöhung der Anzahl bzw. das vermehrte Auftreten von Nematocysten in denen für die Verdauung wichtigen Organen der kleineren Medusen einer Steigerung der Effizienz der Verdauung von Beute.

#### 4.2.6 Variation biologischer und physikalischer Parameter

Die in den Kapiteln 3.2.4.1 bis 3.2.4.4 (S. 49-54) dargelegten Ergebnisse, die nach der Variation von biologischen und physikalischen Parametern der Kulturbedingungen erhalten wurden, liefern ein facettenreiches Bild der Reaktionen der einzelnen Lebensstadien (Polypen, Ephyren und Medusen). Umweltbedingungen, die auch im Freiland eine wesentliche Rolle für das Wachstum und die Entwicklung von Polypen und Medusen spielen, wurden variiert, um beispielsweise den Einfluss des Nahrungsangebotes oder die Salinität des Umgebungswassers zu beurteilen.

##### 4.2.6.1 Einfluss der Fütterungsfrequenz und Futtermenge auf Nematocysten von Polypen

Polypen wurden in Kulturen unter kontrollierten Bedingungen unterschiedlich oft mit variierender Menge *Artemia*-Nauplien gefüttert. Die daraus resultierenden Versuchsgruppen wurden hinsichtlich der Verteilung der Nematocysten und der Größen der Kapseln untersucht. Laut Literatur werden *Cyanea capillata*-Polypen in der Routinehaltung zwei Mal pro Woche bis alle zehn Tage gefüttert (Calder 1971, Brewer & Feingold 1991, Holst & Jarms 2010). Im Zusammenhang mit der Untersuchung von Nematocysten wurden bisher jedoch keine vergleichbaren Fütterungsversuche mit Scyphozoa-Polypen gemacht. Die oft und mit vielen *Artemia*-Nauplien gefütterten Polypen besaßen, im Gegensatz zu den anderen Versuchsgruppen, keine Eurytelen in ihren Tentakeln. Das Fehlen von Eurytelen in den Tentakel der oft gefütterten Polypen ist vermutlich eine direkte Folge der häufigen Fütterung. Der Ersatz der verbrauchten Eurytelen mit neuen Kapseln erfolgte nicht schnell genug, weshalb dieser Kapseltyp in den alle zwei Tage gefütterten Tieren nicht zu finden war. Nach Entladung der Kapsel wird diese abgestoßen, sofern sie während des Beutefangs nicht schon aus dem Gewebe herausgerissen wurde. Es wird eine neue Nematocyste gebildet und die Kapsel in der Epidermis des Fangortes eingelagert. Es wurde festgestellt, dass beim Süßwasserpolyphen *Hydra* die gesamten Nesselkapseln eines Tentakels alle sieben bis neun Tage erneuert wird (Werner 1993). Für die Art *C. capillata* werden in der Literatur keine Angaben zur Dauer der Nematocystenreuebildung gemacht, aber entsprechend der vorliegenden Ergebnisse kann man von einer Produktionszeit von mehr als zwei Tagen ausgehen.

Zwischen den Nematocysten der verschiedenen Fütterungsgruppen der Polypen gab es z. T. signifikante Größenunterschiede. So waren die a-Isorhizen der oft gefütterten Polypen signifikant breiter als in den anderen Polypengruppen. Grund hierfür ist eventuell die höhere Verfügbarkeit von Energie durch die häufige Fütterung der Tiere. Die Unterschiede der Nematocysten in Länge, Breite und dem Längen-Breiten-Verhältnis waren jedoch insgesamt sehr klein und lagen meist in einem Bereich von ca. 1 µm, so dass nicht ausgeschlossen

werden kann, dass es sich bei diesen Unterschieden um biologische Variabilität der Kapselgrößen handelt.

#### **4.2.6.2 Einfluss der Futterart auf die Nematocysten von Meta-Ephyren**

Das Beutespektrum von Ephyren ist sehr breit (Arai 1997, Båmstedt et al. 1999, Martinussen & Båmstedt 1999, Båmstedt et al. 2001, Martinussen & Båmstedt 2001). Um festzustellen, ob neben der Menge auch die Art des Futters eine Rolle spielt, wurden Meta-Ephyren über einen Zeitraum von rund einem Monat mit *Artemia*-Nauplien bzw. mit *Aurelia aurita*-Ephyren (Jellyplankton) gefüttert und die Anzahl und die Größe von Nematocysten verglichen. Das Wachstum der Ephyren während des Experiments war in den beiden untersuchten Versuchsgruppen unterschiedlich. Die mit Jellyplankton gefütterten Tiere zeigten insgesamt einen stärkeren Zuwachs des Gesamtdurchmessers als die ausschließlich mit *Artemia*-Nauplien gefütterten Meta-Ephyren. Diese Beobachtung wurde ebenso von Båmstedt et al. (1997) gemacht, die ein kontinuierliches Wachstum von Meta-Ephyren feststellten, wenn diese mit Rippenquallen gefüttert wurden. Bei einer Fütterung der Versuchstiere mit *Artemia*-Nauplien wurde kein Wachstum des Schirmes festgestellt.

Die Auswertung der Ergebnisse hinsichtlich der Anzahl und der Größe der Nematocysten zeigte jedoch, dass die Art des Futters keinen Einfluss auf die Nematocysten hat. Weder die Anzahl und Verteilung noch die Größe der verschiedenen Kapseltypen unterschieden sich signifikant voneinander.

#### **4.2.6.3 Einfluss der Salinität auf die Nematocysten von Polypen**

Der Einfluss der Salinität auf die Nematocysten wurde mit Hilfe von Polypen aus drei verschiedenen Hälterungssalinitäten (15, 20 und 35) untersucht.

Es ist bekannt, dass *C. capillata*-Polypen in Wasser niedriger Salinität (15-35) siedeln können (Brewer 1989, Colin & Kremer 2002, Holst & Jarms 2010). Bei Untersuchungen zu diesem Thema ging es primär um ökologische Fragestellungen.

Die in der vorliegenden Arbeit gefundene Verteilung der Nematocysten im Gewebe war in den drei Versuchsgruppen gleich. Die a-Isorhize war der dominierende Kapseltyp in den Tentakeln, das Mundfeld und der Restpolyp enthielten Eurytelen und O-Isorhizen. Es wurde jedoch eine deutliche Häufung von O-Isorhizen in den Polypen aus der Hälterungssalinität 15 festgestellt. In der Hälfte der untersuchten Präparate überwog die Anzahl der O-Isorhizen die der Eurytelen. Wie zuvor bereits erwähnt, fand Calder (1971) eine erhöhte Anzahl von O-Isorhizen im Restgewebe von Polypen, die kurz vor der Strobilation standen und vermutete einen direkten Zusammenhang zwischen der Abschnürung der Ephyren und dem Auftreten dieses Kapseltyps im Gewebe der Polypen. Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten

Polypen der Salinität 15 waren Kulturen entnommen worden, in denen viele Polypen strobilierten. Die präparierten Tiere selbst strobilierten zwar nicht, standen jedoch wahrscheinlich kurz vor der Strobilation. In den beiden Versuchsgruppen KoP 20 und KoP 35 war in einigen untersuchten Tieren ebenfalls ein Überhang der O-Isorhizen gegenüber den Eurytelen zu beobachten (in 2 von 10 bzw. in 3 von 10 Präparaten). Im Gegensatz zur Gruppe KoP 15 strobilierten die Polypen der beiden letzteren Versuchsgruppen zum Zeitpunkt der Probenentnahme jedoch nicht. Möglicherweise werden die O-Isorhizen zwar vermehrt, aber nicht ausschließlich im Zusammenhang mit einer bevorstehenden Strobilation gebildet, sondern treten in einigen Polypen als zusätzlicher Kapseltyp im Restgewebe der Tiere auf.

Sowohl die Anzahl der Nematocysten als auch ihre Größe war bei den in Salinität 35 gehälteren Polypen signifikant gegenüber den Versuchsgruppen aus den niedrigeren Hälterungssalinitäten erhöht. Dies hängt vermutlich mit einer Verkleinerung des Polypenkörpers in der niedriger salinen Hälterungsumgebung zusammen. Der Calyxdurchmesser der Polypen war insgesamt in den Kulturen mit einer niedrigen Hälterungssalinität (15 und 20) durchschnittlich kleiner als der der Tiere, die in Wasser der Salinität 35 gehältert worden waren. Viele Spezies, die sowohl in Meer- als auch in Brackwasser vorkommen, zeigen in einer niedriger salinen Umgebung eine Verkleinerung ihres Körpers (Remane 1958, Tedengren & Kautsky 1986). Die hier festgestellte Verkleinerung des Polypenkörpers geht offensichtlich mit einer Verkleinerung der Nematocysten einher, so wie es auch bei den Medusen beobachtet wurde, bei denen Tiere mit einem größeren Schirmdurchmesser mit vergleichsweise großen Nesselkapseln ausgestattet waren.

#### **4.2.6.4 Einfluss der Salinität auf die Nematocysten von Ephyren**

Da die Polypen der unterschiedlichen Hälterungskulturen durch Strobilation Ephyren produzierten, bestand auch die Möglichkeit, die Nesselkapseln von Ephyren aus Wasser der Salinität 15 (Ostsee-Ephyren) mit Ephyren aus einer Hälterungssalinität 35 (Nordsee-Ephyren) miteinander zu vergleichen.

Die Anzahl bestimmter Kapseltypen unterschied sich zum Teil erheblich, die Verteilung der Nematocysten war in den beiden Versuchsgruppen jedoch gleich. Die Ostsee-Ephyren trugen in ihren Randlappenspitzen doppelt so viele Eurytelen wie die Nordsee-Ephyren. Die Menge der O-Isorhizen in den Randlappen war bei den Ostsee-Ephyren auffällig um einen Faktor 24 gegenüber den Nordsee-Ephyren erhöht. Somit wurden anscheinend die bereits in den Polypen (KoP 15) angereicherten O-Isorhizen weitergegeben. Die Polypen zeigten, wenn sie aus der Hälterungssalinität 15 stammten, in der Hälfte der untersuchten Präparate einen Überhang von O-Isorhizen gegenüber den Eurytelen. Bei der Untersuchung der

Nordsee-Polypen war das nur in drei von zehn Tieren der Fall. Die hohe Zahl der O-Isorhizen in Polypen und Ephyren der Salinität 15 hängen wahrscheinlich direkt zusammen. Während der Abschnürung der Ephyren in der Strobilationsphase werden die Nematocysten offensichtlich in das Gewebe der Ephyren integriert. Die Anzahl der im Ephyrengewebe zu findenden O-Isorhizen ist demzufolge um so größer, je höher die Menge der O-Isorhizen in den Polypen ist.

Die Nematocysten der Nordsee-Ephyren waren signifikant größer als in den Ostsee-Ephyren. Die Durchmesser der Tiere aus den beiden Hälterungssalinitäten waren annähernd gleich, so dass ein direkter Zusammenhang zwischen der Größe der Ephyren und der Kapselgröße auszuschließen ist. Die Unterschiede der Nematocystengrößen der Ephyren sind mit großer Wahrscheinlichkeit in den Kapselgrößen der Polypen zu suchen, von denen die Ephyren während der Strobilation abgeschnürt werden und von denen die Ephyren mit Nesselkapseln primär ausgestattet werden. Die den Ephyren mitgegebenen Nesselkapseln entsprechen den Größenverhältnissen der Nematocysten der Polypen und sind somit in den Nordsee-Ephyren tendenziell größer als in den Ostsee-Ephyren (s. Kapitel 3.2.4.3, S. 52).

#### **4.2.7 Interstadienvergleich - Nematocysten in Polypen, Ephyren und Medusen in funktionell gleichen Körperteilen**

Es wurden Lebensstadien übergreifende Vergleiche zwischen funktionell gleichen Körperteilen der Polypen, Ephyren und Medusen durchgeführt.

Der Vergleich der Anzahl der  $\alpha$ -Isorhizen in Tentakeln von Polypen und Meta-Ephyren zeigte signifikant mehr Kapseln in den Polypententakeln. Die höhere Dichte in dem sessilen Stadium ist mit dem Modus des Beutefangs zu erklären, der beim Polypen ausschließlich mit Hilfe der Tentakel erfolgt. Die Meta-Ephyren als Übergangsstadium zwischen Ephyre und Meduse durchlaufen eine Phase der Umstellung hinsichtlich der Art des Beutefangs. Bei den Ephyren wird die Beute während des Schwimmens hauptsächlich mit Hilfe der Randlappen gefangen. Mit Beginn der Tentakelbildung wird die Beute mehr und mehr mit diesem Körperteil gefangen bis dieses schließlich eines der wichtigsten Körperteile zum Ergreifen von Beute wird und eine sehr hohe Kapseldichte aufweist (Higgins et al. 2008).

Ein Vergleich der Anzahl von Nematocysten in den Randlappen von Ephyren und Medusen ergab eine signifikant höhere Anzahl von O-Isorhizen in den Ephyren. Dieser Unterschied kann wiederum mit den unterschiedlichen Beutefangmodi der beiden Lebensstadien begründet werden. Während die Ephyren die Beute überwiegend durch Bewegung der Randlappen zum Mundrohr hin aus dem Wasser siebt, sind die Tentakel die wichtigsten Körperteile, mit denen die Medusen ihre Beute fängt (Costello & Colin 1995, Higgins et al.

2008). In den Medusen spielen die Randlappen eine wesentlich geringere Rolle beim Beutefang als in den Ephyren.

Die Nesselkapseln des Polypenrestgewebes waren tendenziell größer als im Restgewebe der Ephyren. Die größeren Polypen-Nematocysten können ein größeres Toxinvolumen enthalten und daher mit einem größeren toxischen Potential vorbeischwimmende Beute sicher paralisieren. Eine weitere mögliche Erklärung sind längere Nesselfäden in den größeren Nematocysten, mit denen die sessilen Tiere eine größere Reichweite beim Beutefang erreichen.

Die a- und O-Isorhizen in den Randlappen der Medusen waren größer als die der Ephyren. Wahrscheinlich besteht ein Zusammenhang zwischen der Menge der gefangenen Beute und den Schirmdurchmessern der Ephyren (Jungmedusen) und den ausgewachsenen Medusen. Es wurde beobachtet, dass die Zunahme von Medusenschirmdurchmessern mit einer Vergrößerung der Beutetiere und einer Erhöhung der Beutezahl pro Meduse einhergehen (Båmstedt et al. 1994, Suchman & Sullivan 2000, Kintner et al. 2005). Das Fangen größerer Beute wird vermutlich z. T. durch die Erhöhung der injizierten Toxinmenge ermöglicht. Dies kann durch die Vergrößerung der Kapselanzahl oder des Kapselvolumens geschehen. Es ist energetisch günstiger, größere und somit höher volumige Kapseln zu bilden als die Anzahl der Nematocysten zu steigern, da die Bildung von mehr Kapseln einen erhöhten Energiebedarf durch den Aufbau der Kapselwand und des –fadens bedeuten.

#### **4.2.8 Zusammenfassung der lichtmikroskopischen Nematocysten-Untersuchungen**

Die Verteilung der Nematocysten im Polypen war klar an die Ernährungsweise dieses Lebensstadiums angepasst. Die Menge der Beute sowie die Häufigkeit der Aufnahme von Futter hatten keinen starken Einfluss auf die Größen der Nematocysten. Der Einfluss dieser Parameter auf die Anzahl von Nematocysten war gering. Bestimmte Kapseltypen konnten durch eine häufige Verfügbarkeit von Futter nicht schnell genug nachgebildet werden. Die Hälterungssalinität hatte offensichtlich einen indirekten Einfluss auf die Nematocysten der Polypen. Die geringere Größe der Polypen in Wasser der Hälterungssalinität 15 und 20 bedingte signifikant kleinere a-Isorhizen und Eurytelen.

Bei den Ephyren ließen die Verteilung der Nematocysten und die Ansammlung von Kapseln in den Spitzen der Randlappen Rückschlüsse auf den schwimmenden Beutefangmodus dieses Lebensstadiums zu. Der Vergleich der Nematocysten in verschieden alten Ephyren zeigte eine Verlagerung bestimmter Nematocystentypen während der Ontogenese. Das anfängliche Durchsieben des Wassers mit dem Ephyrenschirm wurde im Laufe der Entwicklung zum Fangen der Beute mit Tentakel und Mundlappen. Die Verlagerung der

Nesselkapseln korrelierte deutlich mit der Änderung des Beutefangmodus während der Entwicklung der Tiere. Die Futterart hatte bei den Ephyren keinen Einfluss auf die Anzahl und Verteilung sowie die Größe der verschiedenen Kapseltypen. Bei Ephyren aus unterschiedlichen Salinitäten waren die Anzahl der Nematocysten und ihre Größe direkt von Anzahl und Größe der Kapseln in den Polypen abhängig, von denen die Ephyren durch Strobilation gebildet wurden. Die Verteilung der Nematocysten im Gewebe der Ephyren aus unterschiedlichen Hälterungssalinitäten war gleich.

Die Körperteile der Medusen haben während des Beutefangs klare Aufgaben, was sich in der Ausstattung mit Nesselkapseln widerspiegelte. Die Beute wird fast ausschließlich mit Tentakeln und Mundlappen gefangen. Oberflächen und Körperregionen der Meduse, die nicht dem Beutefang dienen, waren praktisch kapselfrei. Im Gewebe größerer Medusen waren sowohl die Anzahl als auch die Größe der Nematocysten in den für den Beutefang wichtigen Körperteilen erhöht, was ein Hinweis auf ein stärkeres toxisches Potential sein kann. Im Verdauungsraum war der Trend jedoch umgekehrt. Hier waren Anzahl und Größe der Kapseln in den kleinen Tieren größer. Der Grund hierfür könnte eine gesteigerte Effizienz der Verdauung sein.

### **4.3 Volumenvergleich**

Da die Nesselkapseln ein Speicher- und Injektionsinstrument für Giftstoffe sind, ist der Rauminhalt der Kapseln ein relevanter und geeigneter Vergleichsparameter. Die Volumina aus den Längen- und Breitenmessungen wurden dafür errechnet und miteinander verglichen.

Die Nematocysten der Polypen lagen im Vergleich zu den Kapseln von Ephyren und Medusen in einem mittleren Volumenbereich. Betrachtet man die gesamte Größenverteilung aller Kapseln, nahmen die Polypen keine klare Position ein, sie enthielten Nematocysten, die sowohl im oberen als auch im unteren Volumenbereich lagen.

Die Nematocysten der Ephyren zeigten bei fast allen Kapseltypen, außer den Eurytelen, tendenziell die kleinsten Volumenwerte. Ein kleineres Kapselvolumen bedeutet eine kleinere Menge injizierbarer Toxine, sagt jedoch nicht zwangsläufig etwas über das toxische Potential aus. Bei den Untersuchungen der Nematocysten hinsichtlich ihres Proteininhaltes (Kapitel 3.3, S. 59) wurde festgestellt, dass die Ephyren-Nematocysten insgesamt Spektren schlechter Qualität mit niedrigen Signalintensitäten lieferten. Dies kann als Hinweis auf instabile Proteine in den Kapseln oder geringe Proteinkonzentrationen gedeutet werden.

Die lichtmikroskopischen und chemisch-analytischen Ergebnisse (geringes Kapselvolumen und wahrscheinlich geringe Menge nutzbarer Proteine) deuten also darauf hin, dass die Toxine der Nesselkapseln in Ephyren von untergeordneter Bedeutung als Werkzeuge für

den Beutefang sind. Bei den Ephyren spielt möglicherweise die Bewegung der Randlappen und das Herausfiltern von Nahrung aus dem Wasser während des Schwimmens eine größere Rolle als die in den Kapseln enthaltenen Toxine.

Die Medusen hatten die Nematocysten mit den größten Volumina, mit Ausnahme der Eurytelen. Besonders auffällig ist der Trend zu den großen Kapselvolumina in den Medusen bei den A- und O-Isorhizen. Die A-Isorhizen in den Tentakeln hatten ein Volumen von bis zu  $4683 \mu\text{m}^3$  (Meduse Schirmdurchmesser 55 cm) und geben eventuell einen Hinweis auf die wichtige Rolle dieses Kapseltyps beim Beutefang.  $4683 \mu\text{m}^3$  entsprechen  $4,683 \cdot 10^{-6} \mu\text{L}$ , d. h. für 1  $\mu\text{L}$  Toxinmischung benötigt die Meduse 213 538 Nesselkapseln dieses Typs. An diesem Wert ist die enorme Syntheseleistung erkennbar, die eine Qualle aufbringen muss, um ihre komplexe Giftmischung zu verpacken.

In der Literatur liegen bisher nur wenige Daten zum Kapselvolumen von *C. capillata* vor. Colin & Costello (2007) geben keine konkreten Zahlenwerte an. Die aus einem Diagramm entnommenen Werte lagen im Schnitt etwas unter den in der vorliegenden Arbeit ermittelten. Ein Vergleich mit den Werten von Colin & Costello (2007) ist jedoch nur eingeschränkt möglich, da die Autoren keine Angaben über die Schirmdurchmesser der Versuchsmedusen machen und die Nematocystengröße und das Volumen offensichtlich vom Schirmdurchmesser der Meduse abhängig ist.

Die Medusen waren tendenziell mit den größten Nematocysten ausgestattet, die Ephyren trugen eher kleinvolumige Kapseln in ihrem Gewebe. Die Nematocysten der Polypen hatten Volumina im mittleren Bereich.

#### **4.4 Proteininhalt der Nematocysten**

Die Kombination von LMPC als Methode zur Separierung von Nematocysten mit einer massenspektrometrischen Analyse erlaubte erstmals die Untersuchung des Proteininhaltes einzelner Kapseltypen.

Die LMPC-Methode wurde ursprünglich zur Isolierung von Zellen aus Zellkulturen entwickelt (Burgemeister & Stich 2004, Niyaz 2004, Burgemeister 2005). Im Gegensatz zum Arbeiten mit histologischen Präparaten oder adhärent wachsenden Zellkulturen, lagen die Kapseln in Suspensionen vor. Eine besondere Herausforderung bestand darin, genug Laserenergie zum Transport der Kapseln in den Auffangtropfen aufzubringen, diese jedoch dabei nicht entladen zu lassen oder zu zerstören. Daher war eine Anpassung an die Anforderungen für das Arbeiten mit einer Kapselsuspension notwendig (Wiebring 2008). Die Kapselseparierung mit LMPC wurde weiter optimiert, um sie in dieser Form das erste Mal als Routinewerkzeug zu nutzen (Wiebring et al. 2010a, Wiebring et al. 2010b).

Die Separierung verschiedener Kapseltypen wurde bisher mit wenigen Methoden erprobt, so z. B. mit Hilfe von Sedimentation in einer Triton X-100-Lösung (Weber 1990), Zentrifugation

mit Hilfe eines Dichtegradienten (Endean & Rifkin 1975) und Trennung verschiedener Kapseltypen mit einem Zellsortierer (Burnett et al. 1986). Die so erhaltenen Nematocystenproben enthielten zu einem hohen Prozentsatz einen bestimmten Kapseltyp, jedoch auch unerwünschte Nematocysten. Die Nematocysten wurden zur Entladung gebracht und der Inhalt auf Wirksamkeit und Proteinhalt hin untersucht. Endean & Rifkin (1975) fanden für zwei der drei separierten Kapseltypen keine Wirkung auf Muskelzellen, wogegen die Inhaltsstoffe des dritten Kapseltyps zu einer Lähmung von Muskelzellen führte. Die von Burnett et al. (1986) erhaltenen Wirkstoffe aus Nematocysten von *Physalia physalis* (Linnaeus, 1758) hatten *in vitro* eine ähnliche Wirkung. Ein *in vivo*-Test mit Mäusen scheiterte an zu wenigen separierten Nesselkapseln und einem zu geringem Toxinvolumen. Die Analyse der Kapselinhaltsstoffe mit Gelelektrophorese zeigte in den separierten Kapseltypen sowohl übereinstimmende Proteinkomponenten als auch für einzelne Kapseltypen spezifische Proteinbanden.

Die in der vorliegenden Arbeit angewandte Methode der kontaktfreien Nematocystenseparierung lieferte sehr reine Proben, die nur den gewünschten Kapseltyp enthielten. Dadurch wurden Untersuchungen zum Proteinhalt einzelner Kapseltypen ermöglicht.

Die eingesetzte massenspektrometrische Methode MALDI-TOF zur Analyse des Kapselinhaltes ergab schon bei quantitativ relativ kleinen Nematocystenproben (50-200 Kapseln) aussagekräftige Ergebnisse. Im Vorfeld war jedoch eine Anpassung der Probenpräparation an die Untersuchung der Nematocysten notwendig.

Der Zeitpunkt der Entladung der Kapseln war von entscheidender Bedeutung für die Analyse der Proteine. Der Entladungszustand der Nematocysten konnte während des gesamten Arbeitsablaufes (Abb. 25, S. 61) lichtmikroskopisch überprüft werden. Auf den für die Massenspektrometrie verwendeten Glastargets wurden in vielen Fällen keine Kapseln gefunden, in der anschließenden Untersuchung mit MALDI-TOF-MS konnten jedoch Massen detektiert werden. Dies spricht für eine Entladung zumindest eines Teils der Kapseln unmittelbar nach der Zugabe der Matrix in das Auffanggefäß und eine Übertragung eines Protein-Matrix-Gemisches auf das MALDI-Target (Kapitel 2.3.3, S. 29). Die Matrix besteht u. a. aus den organischen Säuren Trifluoressigsäure (TFA) und Sinapinsäure. Die Entladung der Nematocysten von *C. capillata* durch verdünnte Säuren wurde auch von anderen Autoren *in situ* beobachtet (Fenner & Fitzpatrick 1986, Kem & Östman 1991). Eine Entladung der isolierten Nematocysten kann nicht ausgeschlossen werden. Es ist außerdem möglich, dass ein Teil der Nematocysten in einem späteren Arbeitsschritt, beim Ionisierungsprozess durch die Anregung des Lasers, entladen wurden und ihren Kapselinhalt abgaben.

Da bisher keine detaillierten Studien zur Aufklärung der Zusammensetzung und Strukturen des Proteininhaltes einzelner Kapseltypen aus Nesseltieren vorliegen, beinhaltet die Diskussion vor allem eine generelle Beschreibung und einen Vergleich der verschiedenen Untersuchungsgruppen. Es hat sich gezeigt, dass der Vergleich einzelner detektierter Massen in den Spektren wenig Ziel führend ist. Vielmehr werden die Komplexität der einzelnen Spektren verschiedener Lebensstadien und Untersuchungsgruppen und sich eventuell ergebende Muster der auftretenden Molekülmassen miteinander verglichen, um eine übersichtliche Beurteilung zu erstellen. Die detektierten Massen geben dabei Hinweise auf die Komplexität der in den Kapseln enthaltenen Toxingemische. Je spezifischer ein Toxin in Bezug auf bestimmte Bindungsstellen im Beuteorganismus ist, desto höher ist seine Wirksamkeit. Eine Proteingrundausrüstung der Kapseln mit kleinen Modifizierungen der Proteinkomponenten gibt den Nesseltieren die Möglichkeit, ein großes Beutespektrum abzudecken (Forth et al. 1992).

#### **4.4.1 Proteininhalt der Nematocysten von Polypen**

Die Massenspektren der analysierten Polypen-Nematocysten (Eurytelen und  $\alpha$ -Isorhizen) enthielten zu zwei Clustern verdichtete Massenbereiche (4 300-6 100 Da und 7 500-8 500 Da). Diese Bereiche mit einer höheren Dichte detektierter Massen traten in beiden untersuchten Nematocystentypen und in allen Untersuchungsgruppen der Polypen auf. Innerhalb der Cluster war ein Großteil der Massen in beiden untersuchten Kapseltypen zu finden und nicht auf Eurytelen oder  $\alpha$ -Isorhizen beschränkt.

Die Fütterungsfrequenz und die Menge der Fütterung hatten einen leichten Einfluss auf die Inhaltsstoffe der Nematocysten. Die ein Mal pro Monat gefütterten Polypen zeigten eine Tendenz zu insgesamt weniger detektierbaren Massen in den Inhaltsstoffen der Nematocysten als die Tiere der Kontrollgruppe und die der oft gefütterten Polypen. Ein möglicher Grund könnte in der geringeren Verfügbarkeit von Nährstoffen und somit Energie zur Produktion der Nematocysten und der Toxine bzw. im Fehlen von Baustoffen für die Toxine durch die seltene Fütterung mit *Artemia*-Nauplien gewesen sein. Infolge dessen wurden vermutlich weniger komplexe Toxine mit einer geringeren Menge an Proteinkomponenten gebildet. Die Fähigkeit zum Beutefang war dadurch jedoch nicht eingeschränkt.

Der Vergleich der Nematocysten, die aus Polypen in verschiedenen Salinitäten (20 und 35) gehältert worden waren, zeigte geringe Unterschiede der detektierten Massen. Auch die Hälterungssalinität hatte demnach einen leichten Einfluss auf den Proteininhalt der Nematocysten. In mehreren Arbeiten wurde durch Erniedrigung der Salinität ausgelöster Stress und Auswirkungen auf den Proteinstoffwechsel bei verschiedenen marinen Organismen untersucht (Tedengren & Kautsky 1986, Groth & Theede 1989). Die

Sandklaffmuschel (*Mya arenaria*, Linnaeus, 1758) und die Miesmuschel (*Mytilus edulis*, Linnaeus, 1758) z. B. wiesen eine erhöhte Exkretionsrate für Ammoniak und Stickstoff auf, was auf einen erhöhten Proteinabbau bei einem katabolen Stoffwechsel hindeutete. In dieser Arbeit wurde auch festgestellt, dass Organismen in niedrig salinem Wasser kleiner als ihre Artgenossen in höher salinem Wasser sind. Dies kann ebenfalls ein Anzeichen für einen energiesparenden Stoffwechsel verbunden mit Proteinabbau sein. Die erniedrigte Hälterungssalinität der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Polypen wirkte sich vermutlich nicht nur auf das Wachstum der Polypen, sondern auch negativ auf die Bildung der proteinären Toxine aus. Dies kann zu einem insgesamt etwas weniger komplexen Massenmuster in den Proteinen der Polypennesselkapseln der Hälterungssalinität 20 geführt haben.

#### 4.4.2 Proteininhalt der Nematocysten von Medusen

Die in den Medusenkapseln detektierten Massen lagen in einem Bereich von 3 300 Da bis 17 000 Da. Im kleineren Massenbereich von 3 300 Da bis 5 700 Da war eine hohe Dichte von Molekülmassen zu erkennen. Die Molekülmassen der einzelnen Toxinkomponenten verschieden großer Medusen zeigte ein etwas komplexeres Muster der Nematocysten-Inhaltsstoffe der mittelgroßen und der großen Meduse als in den kleineren Tieren.

Helmholz et al. (2007) und Long & Burnett (1989) stellten bei einem Vergleich der Kapselproteine aus Medusen mit verschiedenen großen Schirmdurchmesser fest, dass die mit Gelelektrophorese analysierten Kapselinhalte in den Tentakeln und in den Mundlappen größerer Medusen eine höhere Komplexität aufwiesen als in denen kleinerer Medusen. In einer anderen Arbeit fanden Helmholz et al. (akzeptiert) bei dem Vergleich der Toxine einer großen Meduse (Schirmdurchmesser 55 cm) mit kleineren Tieren (Schirmdurchmesser 10-20 cm, durchschnittlicher Schirmdurchmesser 14,8 cm) mit Hilfe von Gelelektrophorese ein komplexeres Bandenmuster in den Proteinen der großen Meduse als in dem der kleineren Tiere. Außerdem wurde mit Hilfe von Zelltests eine stärkere Wirkung der Toxine auf Kiemenzellen ermittelt, die aus Tentakel-Nematocysten der großen Meduse isoliert worden waren. Die aus den Kapseln der großen Meduse isolierten Proteine waren doppelt so neurotoxisch wie das Kapselmaterial der Gruppe der kleineren Medusen. Diese Arbeiten, die mit Gesamtvenom aller Nematocystentypen durchgeführt wurden, bestätigen die Hypothese einer komplexeren Toxinmischung in größeren Organismen, wie sie auch hier mit einzelnen Nesselkapseln aufgestellt werden kann.

Hinsichtlich des Einflusses der Salinität der Umgebung wurde festgestellt, dass das Muster der detektierten Massen in den Spektren der Ostseemedusen etwas weniger komplex war. In diesem Zusammenhang wiesen Helmholz et al. (2010) bei *C. capillata* nach, dass das Venom, welches aus den Nematocysten der Mundlappen von Ostseemedusen isoliert

worden war, eine geringeren Wirksamkeit auf Fischkiemenzellen hatte als bei Tieren aus der Nordsee. Viele Organismen aus Wasser mit niedriger Salinität haben eine geringere Endgröße als Tiere derselben Spezies in Wasser mit höherem Salzgehalt. (Remane 1958, Tedengren & Kautsky 1986, Groth & Theede 1989). Ein vermuteter Grund ist ein erhöhter Abbau von Proteinen durch den osmotischen Stress, dem die Tiere in dem für sie nicht optimalen Habitat mit der niedrigeren Salinität ausgesetzt sind. Die geringere Komplexität der Proteininhaltsstoffe in den Kapseln der Ostsee-Medusen, also das Fehlen einiger Komponenten im Proteingemisch bzw. fehlenden Modifizierungen der Proteine, steht wahrscheinlich in direktem Zusammenhang mit der geringeren Salinität der Fanggebiete der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Ostseemedusen. Auch ein indirekter Einfluss der Salinität über die geringere Größe der Beute der Medusen ist denkbar. Aus dem Vorhandensein kleinerer Beutetiere könnte ein Nährstoff- und Energiemangel entstehen, der sich in einer weniger komplexen Toxinzusammensetzung äußern könnte.

#### **4.4.3 Stadienübergreifender Vergleich des Proteininhaltes**

Das bioanalytische Verfahren zum Nachweis und zur Strukturaufklärung von Proteinen MALDI-TOF-MS ist eine qualitative Methode. Über die Signalintensität kann nicht auf die Menge bestimmter Toxinkomponenten in den Nematocysten geschlossen werden. Die Qualität der Spektren kann trotzdem als erster Hinweis auf die Konzentration der Toxine gewertet werden. Auffällig war, dass die Spektren der analysierten Nematocysten von Ephyren trotz vergleichbarer Anzahl der untersuchten Nematocysten wie bei Medusen und Polypen, also gleicher Probengröße, qualitativ schlecht waren. Die Signalintensität in den Kapselspektren der Ephyren war in den meisten Fällen so niedrig, dass keine Auswertung erfolgen konnte. Dies kann bei den frisch abgelösten Ephyren (wenige Tage alt) daran liegen, dass sie ihre Nematocysten während der Strobilation von den Polypen erhielten (s. Kapitel 4.2.6.4, S. 78). Die in diesen älteren Kapseln enthaltenen Proteine waren zum Zeitpunkt der massenspektrometrischen Untersuchungen eventuell bereits zu einem gewissen Teil abgebaut. Daraus resultierten Massenspektren mit niedrigen Signalintensitäten. Einige Ephyren wurden über einen längeren Zeitraum (zwei bis drei Wochen) gehältert und täglich mit *Artemia*-Larven gefüttert. Nach Fixierung und mikroskopischer Auswertung zeigte sich, dass Kapseln im Gewebe vorhanden waren. Ein Verbrauch und eine Neubildung der Nematocysten hatten demnach stattgefunden. Auch massenspektrometrische Untersuchungen dieser „frischen“ Nematocysten ergaben Spektren mit niedrigen Massenpeaks. Dies könnte mit der Art des Beutefangs der Ephyren zusammenhängen, die ihre Beute permanent während des Schwimmens mit Hilfe einer durch das Tier erzeugten Wasserströmung fangen (Higgins et al. 2008). Die Nematocysten spielen als Werkzeug für die Injektion von Toxinen möglicherweise eine untergeordnete

Rolle. Für die niedrige Signalintensität bei der Untersuchung der Proteininhaltsstoffe von Ephyren-Nematocysten kommen demnach mehrere Gründe in Frage.

Die sich aus dem Nematocysteninhalt von Polypen ergebenden Spektren zeigten dagegen stets Signale mit einer hohen Signalintensität. Ein möglicher Grund für die Unterschiede der Spektren der beiden untersuchten Lebensstadien Ephyre und Polyp sind die mit Lebensweise und die Art des Beutefangs begründeten Unterschiede des Bedarfs an Toxinen. Der sessile Polyp fängt vorbei schwimmende Beute mit seinen Tentakeln und ist auf schnell und in ausreichendem Maße paralyisierende Toxine angewiesen.

Die Signalintensitäten der Massen in den Spektren der Medusen zeigten eine mittlere bis hohe Signalintensität und stimmten in etwa mit der Qualität der Polypenspektren überein. Der Vergleich der Spektren von Polypen und Medusen zeigte jedoch auffällige Unterschiede der detektierten Massen. Die in den Polypen gefundenen Massen waren zu zwei Clustern verdichtet, die Massenspektren der Medusen dagegen waren meist durch das Vorhandensein nur eines Massenclusters gekennzeichnet. Dass diese Abweichungen in der Proteinzusammensetzung der Nesselkapseln Unterschiede im toxischen Potential der Polypen und Medusen nach sich ziehen, ist unwahrscheinlich. In mehreren Arbeiten durchgeführte *in vitro* Toxinuntersuchungen zeigten ähnliche Werte für die cytotoxische und hämolytische Wirkung von Anemonen- und Medusentoxinen auf Zellen. Diese Ergebnisse sprechen für ein ähnliches toxisches Potential von pelagischen und sessilen Lebensstadien (Gusmani et al. 1997, Helmholz et al. 2007, Helmholz et al. 2011, Helmholz et al., akzeptiert, Macek & Lebez 1988, Khoo et al. 1997, Lanio et al. 2001). Die Ursachen für die in der vorliegenden Arbeit gefundenen Unterschiede in der Proteinzusammensetzung der untersuchten Nematocysten verschiedener Lebensstadien sind unbekannt. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang zwischen der Toxinzusammensetzung der Nesselkapseln und den unterschiedlichen Beutefangmodi der Polypen und Medusen.

#### 4.4.4 Wiederkehrende Molekülmassen

Einige Massen waren in beiden untersuchten Lebensstadien und in allen untersuchten Kapseltypen vorhanden. Dies waren die Massen 5 093 Da, 5 674 Da und 8 220 Da. Möglicherweise sind diese Komponenten die „Grundausstattung“ in allen Nematocysten und allen Lebensstadien. Lassen et al. (akzeptiert) isolierten ein Polypeptid mit einer Masse von 8 217 Da aus dem Gesamtvenom von *C. capillata* und wiesen eine neurotoxische Wirkung dieser Komponente auf Neuroblastomzellen von Mäusen nach. Dieses CcNT benannte Polypeptid blockiert die Natriumkanäle der Nervenzellmembranen. Die Masse 8 220 Da war in der vorliegenden Arbeit in allen untersuchten Nematocysten zu finden. In der Literatur werden die A-Isorhizen als Beute festhaltende („entangling“) Kapseltypen beschrieben (Östman & Hydman 1997, Colin & Costello 2007). Der Nachweis einer neurotoxischen

Wirkung ist ein erster Hinweis darauf, dass dieser Kapseltyp eine toxische Wirkung auf neuronale Zellen haben könnte und beim Beutefang mehr als ein festhaltender Nematocystentyp ist.

In den meisten Studien wurden das Rohvenom bzw. isolierte Toxinkomponenten verschiedener Cnidaria-Spezies mit Hilfe von Gelelektrophorese analysiert. So wurden in *Physalia physalis* (Linnaeus, 1758) das Physaliatoxin gefunden, ein Glycoproteinkomplex mit einer Molekülmasse von 240 000 Dalton, der aus drei gleichen Untereinheiten mit je einer Masse von 80 000 Da aufgebaut ist (Tamkun & Hessinger 1981). Bei Untersuchungen des Venoms von *Pelagia noctiluca* (Forskål, 1775) und *Chrysaora quinquecirrha* (Desor 1848) ergaben sich nach einer Immunochromatographie Molekülmassen von 16 000 Da bis 175 000 Da bzw. 21 000 Da bis 175 000 Da (Olson et al. 1985). Long & Burnett (1989) fanden im Venom von *C. quinquecirrha* ein Hämolysin mit einer Molekülmasse zwischen 6 000 Da und 10 000 Da. Die nach einer Immunosorbent-Chromatographie gewonnenen Fraktionen zeigten in der Arbeit von Cobbs et al. (1983) Molekülmassen von 25 000 Da bis 190 000 Da. Nagai et al. (2000a) isolierte Toxine aus *Carybdea rastoni*. Diese Toxine, CrTX-A und CrTX-B, hatten bei der Untersuchung mit Gelelektrophorese die Massen 43 000 Da bzw. 46 000 Da. In weiteren Untersuchungen wurden für die isolierten Toxine CaTX-A und CaTX-B aus *Carybdea alata* Massen von 43 000 Da bzw. 45 000 Da gefunden (Nagai et al. 2000b). Der Nachteil der Gelelektrophorese ist die relativ niedrige Genauigkeit, mit der die Molekülmassen der untersuchten Toxinkomponenten bestimmt werden können. Die Untersuchung des Proteininhaltes der Nematocysten mit MALDI-TOF-MS in der vorliegenden Arbeit erlaubte eine wesentlich höhere Massenauflösung und somit eine sehr viel genauere Untersuchung des Proteininhaltes als mit Gelelektrophorese und vergleichbaren Methoden.

Die Analyse von isolierten Toxinen aus der Klasse der Anthozoa (Blumentiere) ergab Peptide und Proteine, die zu vier Gruppen zusammengefasst wurden (Anderluh & Maček 2002). Die Molekülmassen dieser Peptide reichen von einem Bereich von 5 000-8 000 Da (Gruppe I, Poren formend) bis hin zu einem Cytolysin (Gruppe IV) mit einer Größe von 80 000 Da, welches aus der Seenelke *Metridium senile* (Linnaeus, 1767) isoliert wurde. Der Vergleich dieser Werte mit den in dieser Arbeit gefundenen Molekülmassen zeigte eine Überschneidung mit den kleineren Peptiden der Gruppe I, die in Anthozoa gefunden wurden. Dies kann ein erster Hinweis darauf sein, dass einige der mit MALDI-TOF-MS detektierten Peptide Poren in Zellmembranen formen. Eine endgültige Zuordnung einer Wirkung der einzelnen Peptide ist jedoch erst nach Untersuchung der Komponenten in Zellassays möglich.

Ein Vergleich der in den Nematocysten gefundenen Molekülmassen mit denen, die in Toxingemischen der Gattung *Conus* (Kegelschnecken) gefunden wurden, zeigt vor allem im

niedrigen Massenbereich ähnliche Werte. Die aus *Conus marmoreus* Linnaeus, 1758 isolierten Proteine mit den Massen 3 488 Da bzw. 3 405 Da blockierten spannungsgesteuerte Natriumkanäle (McIntosh et al. 1995). Toxinkomponenten in den Nematocysten in diesem Massenbereich von *C. capillata* haben eventuell eine ähnliche Wirkung.

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

Ziel dieser Arbeit waren die Beschreibung des Einflusses biotischer und abiotischer Faktoren auf die Lage und Morphologie der Nematocysten in drei Lebensstadien von *Cyanea capillata* sowie die Analyse der Proteininhaltsstoffe der Kapseln.

Die Größe und Anzahl der Nesselkapseln wurden in Ephyren und Medusen im Laufe ihrer Ontogenese analysiert. Außerdem wurde der Einfluss biotischer (Futtermenge, Fütterungshäufigkeit, Futterart) sowie abiotischer (Salinität) Faktoren auf die Nematocysten von Polypen und Ephyren unter kontrollierten Bedingungen untersucht. Durch die kontaktfreie mikromanipulative Separierungsmethode LMPC (Laser Microdissection and Pressure Catapulting) war es erstmals möglich, verschiedene Kapseltypen voneinander zu separieren und ihre Proteininhaltsstoffe massenspektrometrisch mit MALDI-TOF (Matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight) zu untersuchen. Auf diese Weise konnten die Inhaltsstoffe der Nematocysten aus verschiedenen Lebensstadien verglichen sowie der Einfluss von Salinität und Futter analysiert werden.

Die Auswertung der Ergebnisse zeigte eine deutliche Anpassung der Kapselverteilung und -anzahl an den Beutefangmodus des jeweiligen Lebensstadiums. Die Polypen wiesen eine hohe Kapseldichte in den Tentakeln auf. Im Gewebe der Ephyren war die „Verlagerung“ von Kapseln aus den Randlappen in die sich später entwickelnden Tentakel auffällig, was als Anpassung an den veränderten Beutefangmodus zu deuten ist. Die Medusen, die ihre Beute mit Tentakeln und teilweise den Mundlappen fangen, zeigten in diesen Körperteilen die höchste Kapseldichte. In diesem Lebensstadium wurde außerdem eine Erhöhung der Nematocysten pro Kapselbatterien in den Tentakeln von Tieren mit einem größeren Schirmdurchmesser beobachtet. Variierende biotische und abiotische Faktoren zeigten einen Einfluss auf die Nematocysten von Polypen und Ephyren. So führte eine erhöhte Fütterungsfrequenz und Futtermenge bei den Polypen dazu, dass bestimmte Kapseltypen nicht schnell genug nachgebildet werden konnten und somit nicht in den Tentakeln vorhanden waren. Die Futterart übte bei den Meta-Ephyren keinen Einfluss auf die Verteilung der Nematocysten im Gewebe aus. Die Salinität hatte keinen direkten Einfluss auf die Kapselverteilung und -anzahl in Polypen. Es wurde zwar eine erhöhte Anzahl von O-Isorhizen in Polypen der Hälterungssalinität 15 beobachtet, die wahrscheinlich jedoch mit einer kurz bevorstehenden Strobilation der untersuchten Tiere in Verbindung stand. Die

Kapselausstattung der Ephyren hing von der der Polypen ab, von denen sie abgeschnürt worden waren. So war die Anzahl der O-Isorhizen in den Ephyren der Hälterungssalinität 15 stark erhöht. Die Nematocysten werden durch die Abschnürung der Ephyren auf diese verteilt.

Die Größen der Nematocysten waren von der Größe der untersuchten Tiere abhängig. So wurde bei den Polypen ein indirekter Zusammenhang zwischen Salinität und Kapselgröße gefunden. Die Polypen aus der Hälterungssalinität 35 waren durchschnittlich größer und hatten größere Nesselkapseln als die Tiere aus den niedrigeren Salinitäten 15 und 20. Ein Vergleich der Polypen der Fütterungsexperimentes (Fütterungsfrequenz und Futtermenge) zeigte nur geringfügige Unterschiede der Kapselgrößen, was wahrscheinlich mit den ähnlichen durchschnittlichen Körpergrößen der Polypen zusammenhing. Die Kapselgröße bei den Ephyren war abhängig von der Kapselgröße der Polypen, von denen sie während der Strobilation abgeschnürt worden waren. Besonders deutlich war der Zusammenhang zwischen Körpergröße und Nematocystengröße bei den Medusen mit unterschiedlichen Schirmdurchmessern. Die meisten Kapseltypen waren in dem Tier mit einem Schirmdurchmesser von 55 cm größer als in den kleineren untersuchten Medusen.

Die Berechnung der Volumina der Nematocysten zeigte bei einem Lebensstadien übergreifenden Vergleich, dass die Medusen tendenziell die größten Nematocysten hatten und die Ephyren durchschnittlich Kapseln mit kleinerem Volumen. Die Werte der Polypen-Nematocysten lagen in einem mittleren Volumenbereich.

Die Separierung verschiedener Kapseltypen mit LMPC ermöglichte eine massenspektrometrische Untersuchung des Proteininhaltes der Kapseln mit MALDI-TOF. Die Spektren wurden auf ihre Komplexität und auf Haupt- und Nebenkomponten hin untersucht. Die Spektren, die aus Nematocysten von Polypen generiert wurden, zeigten in allen Kapseltypen und allen Untersuchungsgruppen zwei Massencuster in den Bereichen von 4 300-6 100 Da und 7 500-8 500 Da. Die Komplexität der Massen innerhalb dieser Cluster war bei den Untersuchungsgruppen sehr ähnlich. Die Spektren unterschieden sich nur geringfügig zwischen den Untersuchungsgruppen des Fütterungsversuches und der unterschiedlichen Salinitäten. Die Nematocysten der Ephyren lieferten keine auswertbaren Spektren, da die Signalintensitäten in allen untersuchten Kapselproben zu niedrig war. Dies ist ein Hinweis auf geringere Toxinkonzentration oder teilweise abgebaute Proteine. Die massenspektrometrische Untersuchung der Nesselkapseln aus Medusen zeigte eine Häufung von Massenpeaks Bereich von 3 300 Da bis 17 000 Da. Der Vergleich der Spektren zeigte nur geringe Unterschiede zwischen den Kapseln aus Medusen verschiedener Schirmdurchmesser. Die Nematocysten von Medusen aus der Ostsee hatten tendenziell weniger komplexe Spektren mit einer geringeren Anzahl detektierter Massen als die von Medusen aus der Nordsee, was auf eine weniger komplexe Toxinmischung in den Kapseln

---

hindeuten kann. Einige Massen waren sowohl in den Nesselkapseln der Polypen als auch in denen der Medusen zu finden. Dies waren die Massen 5 093 Da, 5 674 Da und 8 220, die eventuell die „Grundausstattung“ der Kapseln darstellen.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss verschiedener biotischer und abiotischer Faktoren auf die Nesselkapseln analysiert. Das Spektrum der Parameter sollte in zukünftigen Arbeiten erweitert werden. So könnte der Einfluss der mit dem Klimawandel einhergehenden Erwärmung der Ozeane auf die Morphologie und den Proteininhalt der Nematocysten unter kontrollierten Bedingungen im Labor und in Freilandversuchen untersucht werden.

Eine Untersuchung der Wirksamkeit einzelner Kapseltypen *in vivo* oder *in vitro* wird mit großer Wahrscheinlichkeit nicht möglich sein, da die Anzahl der Nematocysten, die mit Hilfe von LMPC separiert werden können, zu gering ist. Jedoch ist eine Untersuchung der Wirksamkeit einzelner Toxinkomponenten aus dem Rohvenom aller Kapseltypen möglich und wurde bereits durchgeführt (Lassen et al., akzeptiert). Eine anschließende Zuordnung dieser isolierten Komponenten anhand der Massenspektren könnte Aufschlüsse über die Unterschiede der Wirksamkeit des Polypen- und Medusenvenoms geben.

- Anderluh, G. & Maček, P.** (2002). Cytolytic peptide and protein toxins from Sea Anemones (Anthozoa: Actiniaria). *Toxicon* 40: 111-124.
- Anderson, P.A.V., Moosler, A. & Grimmelikhuijzen, C.J.P.** (1992). The presence and distribution of Antho-RFamide-like material in scyphomedusae. *Cell and Tissue Research* 267 (1): 67-74.
- Anderson, P.A.V. & Schwab, W.E.** (1981). The Organization and Structure of Nerve and Muscle in the Jellyfish *Cyanea capillata* (Coelenterata, Scyphozoa). *Journal of Morphology* 170 (3): 383-399.
- Anderson, P.A.V. & Schwab, W.E.** (1983). Action Potential in Neurons of Motor Nerve Net of *Cyanea* (Coelenterata). *Journal of Neurophysiology* 50 (3): 671-683.
- Arai, M.N.** (1997). *A functional Biology of Scyphozoa*. Chapman & Hall, London.
- Båmstedt, U., Ishii, H. & Martinussen, M.B.** (1997). Is the Scyphomedusa *Cyanea capillata* (L.) dependent on gelatinous prey for its early development? *Sarsia* 82: 269-273.
- Båmstedt, U., Lane, J. & Martinussen, M.B.** (1999). Bioenergetics of ephyra larvae of the scyphozoan jellyfish *Aurelia aurita* in relation to temperature and salinity. *Marine Biology* 135 (1): 89-98.
- Båmstedt, U., Martinussen, M.B. & Matsakis, S.** (1994). Trophodynamics of the two scyphozoan jellyfishes, *Aurelia aurita* and *Cyanea capillata*, in western Norway. *ICES Journal of Marine Science* 51 (4): 369-382.
- Båmstedt, U., Wild, B. & Martinussen, M.B.** (2001). Significance of food type for growth of ephyrae *Aurelia aurita* (Scyphozoa). *Marine Biology* 139 (4): 641-650.
- Bayha, K.M.** (2005). The molecular systematics and population genetics of four coastal ctenophores and scyphozoan jellyfish of the United States Atlantic and Gulf of Mexico. University of Delaware. Dissertation.
- Berking, S. & Herrmann, K.** (2006). Formation and discharge of nematocysts is controlled by a proton gradient across the cyst membrane. *Helgoland Marine Research* 60 (3): 180-188.
- Blalock, E.M., Buechel, H.M., Popovic, J., Geddes, J.W. & Langfield, P.W.** (2011). Microarray analyses of laser-captured hippocampus reveal distinct gray and white matter signatures associated with incipient Alzheimer's disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 42: 118-126.
- Brewer, R.H.** (1989). The Annual Pattern of Feeding, Growth, and Sexual Reproduction in *Cyanea* (Cnidaria: Scyphozoa) in the Niantic River Estuary, Connecticut. *Biological Bulletin* 176 (3): 272-281.
- Brewer, R.H. & Feingold, J.S.** (1991). The effect of temperature on the benthic stages of *Cyanea* (Cnidaria: Scyphozoa), and their seasonal distribution in the Niantic River estuary, Connecticut. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 152 (1): 49-60.
- Burgemeister, R.** (2004). Neue Anwendungsbereiche der Laser-Mikrodissektion in Forschung und Routine. *Biospektrum* 3: 332-334.

- Burgemeister, R.** (2005). New Aspects of Laser Microdissection in Research and Routine. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 53 (3): 409-412.
- Burgemeister, R. & Stich, M.** (2004). Laser mediated live cell handling: detection, selection and collection of single live cells by Laser Microdissection and Pressure Catapulting (LMPC). *Zellbiologie aktuell* 30 (1): 23-24.
- Burnett, J.W.** (2001). Medical aspects of jellyfish envenomation: pathogenesis, case reporting and therapy. *Hydrobiologia* 451 (1): 1-9.
- Burnett, J.W., Ordonez, J.V. & Calton, G.J.** (1986). Differential toxicity of *Physalia physalis* (Portuguese man-o'war) nematocysts separated by flow cytometry. *Toxicon* 24 (5): 514-518.
- Calder, D.R.** (1971). Nematocysts of the polyps of *Aurelia*, *Chrysaora*, and, and their utility in identification. *Transactions of the American Microscopical Society* 90 (3): 269-274.
- Calder, D.R.** (1972). Nematocysts of the medusa stage of *Rhopilema verrilli* (Scyphozoa, Rhizostomeae). *Transactions of the American Microscopical Society* 91: 213-216.
- Calder, D.R.** (1977). Nematocysts of the ephyra stages of *Aurelia*, *Chrysaora*, *Cyanea*, and *Rhopilema* (Cnidaria, Scyphozoa). *Transactions of the American Microscopical Society* 96 (1): 13-19.
- Carrette, T., Alderslade, P. & Seymour, J.** (2002). Nematocyst ratio and prey in two Australian cubomedusans, *Chironex fleckeri* and *Chiropsalmus* sp. *Toxicon* 40 (11): 1547-1551.
- Cobbs, C.S., Gaur, P.K., Russo, A.J., Warnick, J.E., Calton, G.J. & Burnett, J.W.** (1983). Immunosorbent chromatography of sea nettle (*Chrysaora quinquecirrha*) venom and characterization of toxins. *Toxicon* 21 (3): 385-391.
- Colin, S.P. & Costello, J.H.** (2007). Functional characteristics of nematocysts found on the Scyphomedusa *Cyanea capillata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 351 (1-2): 114-120.
- Colin, S. & Kremer, P.** (2002). Population maintenance of the scyphozoan *Cyanea* sp. Settled planulae and the distribution of medusae in the Niantic River, Connecticut, USA. *Estuaries and Coasts* 25 (1): 70-75.
- Cormier, S.M. & Hessinger, D.A.** (1980). Cellular basis for tentacle adherence in the Portuguese man-of-war (*Physalia physalis*). *Tissue and Cell* 12 (4): 713-721.
- Costello, J.H. & Colin, S.P.** (1995). Flow and feeding by swimming scyphomedusae. *Marine Biology* 124 (3): 399-406.
- Črnigoj Kristan, K., Viero, G., Dalla Serra, M., Maček, P. & Anderluh, G.** (2009). Molecular mechanism of pore formation by actinoporins. *Toxicon* 54 (8): 1125-1134.
- Dawson, M.N.** (2005). *Cyanea capillata* is not a cosmopolitan jellyfish: morphological and molecular evidence for *C. annaskala* and *C. rosea* (Scyphozoa : Semaestomeae : Cyaneidae) in south-eastern Australia. *Invertebrate Systematics* 10: 361-370.
- de Bekker, C., van Veluw, G.J., Vinck, A., Wiebenga, L.A. & Wösten, H.A.B.** (2011). Heterogeneity of *Aspergillus niger* Microcolonies in Liquid Shaken Cultures. *Applied and Environmental Microbiology* 77 (4): 1263-1267.

- Endean, R. & Rifkin, J.** (1975). Isolation of different types of nematocyst from the cubomedusan *Chironex fleckeri*. *Toxicon* 13 (5): 375-376.
- Engel, U., Özbek, S., Streitwolf-Engel, R., Petri, B., Lottspeich, F. & Holstein, T.W.** (2002). Nowa, a novel protein with minicollagen Cys-rich domains, is involved in nematocyst formation in *Hydra*. *Journal of Cell Science* 115: 3923-3934.
- Fancett, M.S.** (1988). Diet and prey selectivity of scyphomedusae from Port Phillip Bay, Australia. *Marine Biology* 98: 503-509.
- Fautin, D.G.** (2009). Structural diversity, systematics, and evolution of cnidae. *Toxicon* 54 (8): 1054-1064.
- Fenner, P.J. & Fitzpatrick, P.F.** (1986). Experiments with the nematocysts of *Cyanea capillata*. *The Medical Journal of Australia* 145: 174.
- Fong, D., Kaiser, A., Spizzo, G., Gastl, G. & Tzankov, A.** (2005). Hodgkin's disease variant of Richter's syndrome in chronic lymphocytic leukaemia patients previously treated with fludarabine. *British Journal of Haematology* 129: 199-205.
- Forth, W., Henschler, D., Rummel, W. & Starke, K.,** (Hrsg.), 6. Auflage (1992). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. B.T. Wissenschaftsverlag, Mannheim.
- Francis, L.** (2004). Microscaling: Why Larger Anemones Have Longer Cnidae. *Biol Bull* 207 (2): 116-129.
- Gil, L., Yaron, I., Shalitin, D., Sauer, N., Turgeon, R. & Wolf, S.** (2011). Sucrose transporter plays a role in phloem loading in CMV-infected melon plants that are defined as symplastic loaders. *The Plant Journal* 66: 366-374.
- Groth, H. & Theede, H.** (1989). Does brackish water exert long-term stress on marine immigrants in the Baltic Sea? *Scientia Marina* 53: 677-684.
- Gusmani, L., Avian, M., Galil, B., Patriarca, P. & Rottini, G.** (1997). Biologically active polypeptides in the venom of the jellyfish *Rhopilema nomadica*. *Toxicon* 35 (5): 637-648.
- Hay, S.** (2006). Marine Ecology: Gelatinous Bells May Ring Change in Marine Ecosystems. *Current Biology* 16 (17): R679-R682.
- Heeger, T. & Möller, H.** (1987). Ultrastructural observations on prey capture and digestion in the scyphomedusa *Aurelia aurita*. *Marine Biology* 96 (3): 391-400.
- Heeger, T., Möller, H. & Mrowietz, U.** (1992). Protection of human skin against jellyfish (*Cyanea capillata*) stings. *Marine Biology* 113 (4): 669-678.
- Helmholz, H., Johnston, B., Ruhnau, C. & Prange, A.** (2010). Gill cell toxicity of northern boreal scyphomedusae *Cyanea capillata* and *Aurelia aurita* measured by an in vitro cell assay. *Hydrobiologia* 645 (1): 223-234.
- Helmholz, H., Ruhnau, C., Schütt, C. & Prange, A.** (2007). Comparative study on the cell toxicity and enzymatic activity of two northern scyphozoan species *Cyanea capillata* (L.) and *Cyanea lamarckii* (Peron & Lesieur). *Toxicon* 50 (1): 53-64.
- Helmholz, H., Wiebring, A., Lassen, S., Ruhnau, C., Schuett, C. & Prange, A.** (akzeptiert). Cnidom analysis combined with an in vitro evaluation of the lytic, cyto- and neurotoxic potential of *Cyanea capillata*. *Scientia Marina*. doi: 10.3989/scimar.03381.16E.

- Hessinger, D.A.** (1988). Nematocyst venoms and toxins. In: The Biology of nematocysts. Hessinger, D. A. & Lenhoff, H. M. San Diego, Academic Press: 333-367.
- Higgins, J.E., Ford, M.D. & Costello, J.H.** (2008). Transitions in morphology, nematocyst distribution, fluid motions, and prey capture during development of the Scyphozoa *Cyanea capillata*. Biological Bulletin 214: 29-41.
- Holst, S. & Jarms, G.** (2010). Effects of low salinity on settlement and strobilation of Scyphozoa (Cnidaria): Is the lion's mane *Cyanea capillata* (L.) able to reproduce in the brackish Baltic Sea? Hydrobiologia 645 (1): 53-68.
- Holstein, T.W., Benoit, M., Herder, G.v., David, C.N., Wanner, G. & Gaub, H.E.** (1994). Fibrous mini-collagens in *Hydra* nematocysts. Science 265 (5170): 402-404.
- Holstein, T.W. & Tardent, P.** (1984). An ultrahigh-speed analysis of exocytosis: Nematocyst discharge. Science 223: 830-832.
- Jarms, G., Tiemann, H. & Båmstedt, U.** (2002). Development and biology of *Periphylla periphylla* (Scyphozoa: Coronatae) in a Norwegian fjord. Marine Biology 141: 647-657.
- Kem, W.R. & Östman, C.** (1991). Methods for isolation the tentacular neamtocysts of the Lion's mane jellyfish, *Cyanea capillata*. Jellyfish blooms in the Mediterranean, Athen, 241-252.
- Khoo, H.E., Fong, C.L., Yuen, R. & Chen, D.** (1997). Stimulation of Hemolytic Activity of Sea Anemone Cytolysins by 8-Anilino-1-naphthalensulphonate. Biochemical and Biophysical Research Communications 232: 422-426.
- Kintner, A.H., Seymour, J.E. & Edwards, S.L.** (2005). Variation in lethality and effects of two Australian chirodropid jellyfish venoms in fish. Toxicon 46 (6): 699-708.
- Kurz, E.M., Holstein, T.W., Petri, B.M., Engel, J. & David, C.N.** (1991). Mini-collagens in *Hydra* nematocytes. The Journal of Cell Biology 115: 1159-1169.
- Lanio, M.E., Morera, V., Alvarez, C., Tejuca, M., Gomez, T., Pazos, F., Besada, V., Martinez, D., Huerta, V., Padron, G. & Chavez, M.d.I.A.** (2001). Purification and characterization of two hemolysins from *Stichodactyla helianthus*. Toxicon 39 (2-3): 187-194.
- Larson, R.J., Madin, L.P. & Harbison, G.R.** (1988). In situ observations of deepwater medusae in the genus *Deepstaria*, with a description of *D. reticulum*, sp. nov. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 68: 689-699.
- Lassen, S., Helmholz, H., Ruhnau, C. & Prange, A.** (2010). Characterisation of neurotoxic polypeptides from *Cyanea capillata* medusae (Scyphozoa). Hydrobiologia 645 (1): 213-221.
- Lassen, S., Helmholz, H., Ruhnau, C. & Prange, A.** (2011a). A novel proteinaceous cytotoxin from the northern Scyphozoa *Cyanea capillata* (L.) with structural homology to cubozoan haemolysins. Toxicon 57 (5): 721-729.
- Lassen, S., Wiebring, A., Helmholz, H., Ruhnau, C. & Prange, A.** (akzeptiert). Isolation of a Na<sub>v</sub> channel blocking polypeptide from *Cyanea capillata* medusae - a neurotoxin contained in fishing tentacle isorhizas. Toxicon. doi: 10.1016/j.toxicon.2012.02.004.
- Long, K.O. & Burnett, J.W.** (1989). Isolation, characterization, and comparison of hemolytic peptides in nematocyst venoms of two species of jellyfish (*Chrysaora quinquecirrha* and

*Cyanea capillata*). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 94 (4): 641-646.

**Lotan, A., Fishman, L. & Zlotkin, E.** (1996). Toxin compartmentation and delivery in the cnidaria: The nematocyst's tubule as a multiheaded poisonous arrow. The Journal of Experimental Zoology 275 (6): 444-451.

**Lottspeich, F.,** Engels, J. W. (Hrsg.), 2. Auflage (2006). Bioanalytik. Elsevier, München.

**Lynam, C.P., Gibbons, M.J., Axelsen, B.E., Sparks, C.A.J., Coetzee, J., Heywood, B.G. & Brierley, A.S.** (2006). Jellyfish overtake fish in a heavily fished ecosystem. Current Biology 16 (19): 1976.

**Macek, P. & Lebez, D.** (1988). Isolation and characterization of three lethal and hemolytic toxins from the sea anemone *Actinia equina* L. Toxicon 26 (5): 441-451.

**Malovrh, P., Viero, G., Serra, M.D., Podlesek, Z., Lakey, J.H., Maček, P., Menestrina, G. & Anderluh, G.** (2003). A Novel Mechanism of Pore Formation. The Journal of Biological Chemistry 278 (25): 22678-22685.

**Martinussen, M.B. & Båmstedt, U.** (1999). Nutritional ecology of gelatinous planktonic predators. Digestion rate in relation to type and amount of prey. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 232 (1): 61-84.

**Martinussen, M.B. & Båmstedt, U.** (2001). Digestion rate in relation to temperature of two gelatinous planktonic predators. Sarsia 86 (1): 21-35.

**McIntosh, J.M., Hasson, A., Spira, M.E., Gray, W.R., Li, W., Marsh, M., Hillyard, D.R. & Olivera, B.M.** (1995). A new family of Conotoxins that blocks voltage-gated sodium channels. The Journal of Biological Chemistry 270: 16796-16802.

**Mills, C.E.** (2001). Jellyfish blooms: are populations increasing globally in response to changing ocean conditions? Hydrobiologia 451: 55-68.

**Nagai, H., Takuwa, K., Nakao, M., Ito, E., Miyake, M., Noda, M. & Nakajima, T.** (2000a). Novel Proteinaceous Toxins from the Box Jellyfish (Sea Wasp) *Carybdea rastoni*. Biochemical and Biophysical Research Communications 275 (2): 582-588.

**Nagai, H., Takuwa, K., Nakao, M., Sakamoto, B., Crow, G.L. & Nakajima, T.** (2000b). Isolation and Characterization of a Novel Protein Toxin from the Hawaiian Box Jellyfish (Sea Wasp) *Carybdea alata*. Biochemical and Biophysical Research Communications 275 (2): 589-594.

**Niyaz, Y.** (2004). Non-contact Laser Microdissection and Pressure Catapulting-a versatile tool for specific sample generation. Screening & Image Analysis 93-99.

**Nüchter, T., Benoit, M., Engel, U., Özbek, S. & Holstein, T.W.** (2006). Nanosecond-scale kinetics of nematocyst discharge. Current Biology 16 (9): R316-R318.

**Obermann, E.C., Mueller, N., Rufe, A., Mentner, T., Mueller-Garamvoelgyi, E., Cathomas, G., Dirnhofer, S. & Tzankov, A.** (2011). Clonal Relationship of Classical Hodgkin Lymphoma and its Recurrences. Clinical Cancer Research 17 (16): 5268-5274.

**Olson, C.E., Heard, M.G., Calton, G.J. & Burnett, J.W.** (1985). Interrelationships between toxins: Studies on the cross-reactivity between bacterial or animal toxins and monoclonal antibodies to two jellyfish venoms. Toxicon 23 (2): 307-316.

- Östman, C.** (2000). A guideline to nematocyst nomenclature and classification, and some notes on the systematic value of nematocysts. *Scientia Marina* 64 (1): 31-46.
- Östman, C. & Hydman, J.** (1997). Nematocyst analysis of *Cyanea capillata* and *Cyanea lamarckii* (Scyphozoa, Cnidaria). *Scientia Marina* 61 (3): 313-344.
- Özbek, S., Pokidysheva, E., Schwager, M., Schulthess, T., Tariq, N., Barth, D., Milbradt, A.G., Moroder, L., Engel, J. & Holstein, T.W.** (2004). The Glycoprotein NOWA and Minicollagens Are Part of a Disulfidelinked Polymer That Forms the Cnidarian Nematocyst Wall. *Journal of Biological Chemistry* 279 (50): 52016-52023.
- PALM®**, (2004). User Manual. P.A.L.M. Microlaser Technologies AG, Bernried.
- Petzold, A., Tisdall, M.M., Girbes, A.R., Martinian, L., Thom, M., Kitchen, N. & Smith, M.** (2011). In vivo monitoring of neuronal loss in traumatic brain injury: a microdialysis study. *Brain* 134: 464-483.
- Price, R. & Anderson, P.** (2006). Chemosensory pathways in the capitate tentacles of the hydroid *Cladonema*. *Invertebrate Neuroscience* 6 (1): 23-32.
- Purcell, J.E.** (1984). The functions of nematocysts in prey capture by epipelagic siphonophores (Coelenterata, Hydrozoa). *Biol Bull* 166 (2): 310-327.
- Purcell, J.E.** (2003). Predation on zooplankton by large jellyfish, *Aurelia labiata*, *Cyanea capillata* and *Aequorea aequorea*, in Prince William Sound, Alaska. *Marine Ecology-Progress Series* 246: 137-152.
- Purcell, J.E. & Anderson, P.A.V.** (1995). Electrical responses to water-soluble components of fish mucus recorded from the cnidocytes of a fish predator, *Physalia physalis*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 26: 149-162.
- Purcell, J.E. & Arai, M.N.** (2001). Interactions of pelagic cnidarians and ctenophores with fish: a review. *Hydrobiologia* 451 (1-3): 27-44.
- Purcell, J.E., Breitburg, D.L., Decker, M.B., Graham, W.M., Youngbluth, M.J. & Raskoff, K.A.** (2001). Pelagic Cnidarians and Ctenophores in Low Dissolved Oxygen Environments: A Review. In: *Coastal Hypoxia-Consequences for living resources and ecosystems*. Rabalais, N. N. & Turner, R. E. Washington DC.
- Purcell, J.E. & Mills, C.E.** (1988). The correlation between nematocyst types and diets in pelagic Hydrozoa. In: *The Biology of Nematocysts* Hessinger, D. A. & Lenhoff, H. M. San Diego, Academic Press: 463-485.
- Purcell, J.E., Uye, S.-i. & Lo, W.-T.** (2007). Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology-Progress Series* 350: 153-174.
- Remane, A.** (1958). Die Biologischen Grenzen Meer-Süßwasser und Meer-Land. *Geologische Rundschau* 47 (1): 11-24.
- Rice, N.E. & Powell, W.A.** (1972). Observations on three species of jellyfishes from Chesapeake Bay with special reference to their toxins. II. *Cyanea capillata*. *Biological Bulletin* 143 (3): 617-622.

- Richardson, A.J., Bakun, A., Hays, G.C. & Gibbons, M.J.** (2009). The jellyfish joyride: causes, consequences and management responses to a more gelatinous future. *Trends in Ecology and Evolution* 24 (6): 312-322.
- Rifkin, J. & Endean, R.** (1983). The structure and function of the nematocysts of *Chironex fleckeri* Southcott, 1956. *Cell and Tissue Research* 233 (3): 563-577.
- Russell, F.S.** (1970). The Medusae of the British Isles. Vol. II. - Pelagic Scyphozoa, with a supplement to the first volume on hydromedusae Cambridge University Press, Cambridge.
- Rutherford, L.D. & Thuesen, E.V.** (2005). Metabolic performance and survival of medusae in estuarine hypoxia. *Marine Ecology Progress Series* 294: 189-200.
- Sandberg, D.M., Kanciruk, P. & Mariscal, R.N.** (1971). Inhibition of Nematocyst Discharge correlated with Feeding in a Sea Anemone, *Calliactis tricolor* (Leseur). *Nature* 232 (5308): 263-265.
- Schütze, K., Burgemeister, R., Clement-Sengewald, A., Ehle, S., Friedmann, G., Lahr, G., Sägmüller, B., Stich, M. & Thalhammer, S.** (2003). Non-contact live cell laser micromanipulation using PALM MicroLaser Systems, P.A.L.M. Microlaser Technologies AG. P.A.L.M. Scientific Edition No. 11.
- Smith, S., Oshida, J. & Bode, H.** (1974). Inhibition of nematocyst discharge in *Hydra* fed to repletion. *Biological Bulletin* 147 (1): 186-202.
- Suchman, C.L. & Sullivan, B.K.** (2000). Effect of prey size on vulnerability of copepods to predation by the scyphomedusae *Aurelia aurita* and *Cyanea* sp. *Journal of Plankton Research* 22 (12): 2289-2306.
- Tamkun, M.M. & Hessinger, D.A.** (1981). Isolation and partial characterization of a hemolytic and toxic protein from the nematocyst venom of the Portuguese man-of-war, *Physalia physalis*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure* 667 (1): 87-98.
- Tardent, P.** (1995). The cnidarian cnidocyte, a hightech cellular weaponry. *BioEssays* 17 (4): 351-362.
- Tedengren, M. & Kautsky, N.** (1986). Comparative study of the physiology and its probable effects on size in Blue Mussels (*Mytilus edulis* L.) from the North Sea and the northern Baltic proper. *Ophelia* 25 (3): 147-155.
- Thomason, J.C.** (1991). Cnida discharge and the mechanism of venom delivery in *Anemonia viridis* (Cnidaria, Actiniaria). *Hydrobiologia* 216-217 (1): 649-654.
- Turk, T.** (1991). Cytolytic Toxins from Sea Anemones. *Journal of Toxicology-Toxin Reviews* 10 (3): 223-262.
- Turk, T. & Kem, W.R.** (2009). The phylum Cnidaria and investigations of its toxins and venoms until 1990. *Toxicon* 54: 1031-1037.
- Walker, M.J.A.** (1977a). The cardiac actions of a toxin-containing material from the jellyfish, *Cyanea capillata*. *Toxicon* 15 (1): 15-27.
- Walker, M.J.A.** (1977b). Pharmacological and biochemical properties of a toxin containing material from the jellyfish, *Cyanea capillata*. *Toxicon* 15 (1): 3-14.

- Walker, M.J.A., Martinez, T.T. & Godin, D.V.** (1977). Investigations into the cardiotoxicity of a toxin from the nematocysts of the jellyfish, *Cyanea capillata*. *Toxicon* 15 (4): 339-346.
- Watson, G.M. & Wood, R.L.** (1988). Colloquium on terminology. In: *The Biology of Nematocysts*. Hessinger, D. A. & Lenhoff, H. M. San Diego, Academic Press: 21-23.
- Weber, J.** (1989). Nematocysts (stinging capsules of Cnidaria) as Donnan-potential-dominated osmotic systems. *European Journal of Biochemistry* 184: 465-476.
- Weber, J.** (1990). Poly(glutamic acid)s are the major constituents of nematocysts in *Hydra* (Hydrozoa, Cnidaria) *The Journal of Biological Chemistry* 265 (17): 9664-9669.
- Weill, R.** (1934). Contribution à l'étude des cnidaires et de leurs nématocystes, I, II. *Travaux de la Station Zoologique de Wimereux* 10-11: 1-701.
- Werner, B.** (1965). Die Nesselkapseln der Cnidaria, mit besonderer Berücksichtigung der Hydroida. *Helgoländer Wissenschaftliche Meeresuntersuchung* 12: 1-39.
- Werner, B.** (1993). Stamm Cnidaria. In: *Lehrbuch der Speziellen Zoologie*. Kaestner, A. (Begr.), Gruner, H.-E. (Hrsg.), 5. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Jena: 11-305.
- Westfall, J.A.** (1988). Presumed neuronematocyte synapses and possible pathways controlling discharge of a battery of nematocysts in *Hydra*. In: *The Biology of nematocysts*. Hessinger, D. A. & Lenhoff, H. M. San Diego, Academic Press: 41-51.
- Westfall, J.** (2004). Neural pathways and innervation of cnidocytes in tentacles of sea anemones. *Hydrobiologia* 530-531 (1): 117-121.
- Wiebring, A.** (2008). Entwicklung einer Anreicherungsmethode von Scyphozoa-Nesselzellen mit Hilfe von Lasermikrodissektion. Universität Hamburg. Dissertation.
- Wiebring, A., Helmholz, H., Lassen, S., Prange, A. & Jarms, G.** (2010a). Separation and analysis of different types of nematocysts from *Cyanea capillata* (L.) medusae. *Hydrobiologia* 645 (1): 203-212.
- Wiebring, A., Helmholz, H., Sötje, I., Lassen, S., Prange, A. & Tiemann, H.** (2010b). A new method for the separation of different types of nematocysts from Scyphozoa and investigation of proteinaceous toxins utilizing Laser Catapulting and subsequent mass spectrometry. *Marine Biotechnology* 12 (3): 308-317.
- Wood, R.L., Hessinger, D. A. & Lenhoff, H. M.** (Hrsg.), (1988). *Survey of the ultrastructure of cnidocytes*. Academic Press, San Diego.

## Anhang

Tabelle A1: verwendete Geräte und Hersteller

<b>Tierhaltung</b>	
Stereomikroskop	Olympus SZ 61, Hamburg, Deutschland
Kamera	Altra20, Soft Imaging System, Olympus, Hamburg, Deutschland
Software	analySIS, Olympus, Hamburg, Deutschland
<b>Mikroskopie</b>	
Stereomikroskop	Olympus SZ 61, Hamburg, Deutschland
Kamera	Altra20, Soft Imaging System, Olympus, Hamburg, Deutschland
Software	analySIS, Olympus, Hamburg, Deutschland
Lichtmikroskop	Olympus BX 51, Hamburg, Deutschland
Kamera	Color View, Soft Imaging System, Olympus, Hamburg, Deutschland
Software	analySIS, Olympus, Hamburg, Deutschland
<b>Statistik</b>	
Software	WinSTAT, Add-In für Microsoft® Excel
<b>Kapselseparierung</b>	
Rollermixer	Roller Mixer SRT9, Stuart, Staffordshire, Großbritannien
Zentrifuge	Centrifuge 5804 R, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
inverses Lichtmikroskop (LMPC)	PALM® MicroBeam, P.A.L.M. Microlaser Technologies GmbH (Tochterunternehmen von Carl Zeiss MicroImaging GmbH), Bernried, Deutschland
Software LMPC	PALM® RoboSoftware, Version 3.0-0604
Objektträger (beschichtet)	PALM® MembraneSlide, PEN-Membran, P.A.L.M. Microlaser Technologies AG, Bernried, Deutschland MembranSlide 1.0 PEN, Carls Zeiss MicroImaging GmbH, Göttingen, Deutschland
Mikroliterspritze	7002 N, HAMILTON Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz
<b>Massenspektrometrie</b>	
Massenspektrometer	Ultraflex II TOF/TOF, Bruker Datonics® GmbH, Bremen, Deutschland
Probenträger, Glastarget	MTP Slide Adapter II, Bruker Datonics® GmbH, Bremen, Deutschland
Probenträger, AnchorChip	AnchorChip™ 800/384 T F, Bruker Datonics® GmbH, Bremen, Deutschland
Steuerungssoftware	FlexControl 2.4
Annotierungssoftware	FlexAnalysis 2.4

Tabelle A2: verwendete Chemikalien und Hersteller

<b>Mikroskopie</b>	
Glyceringelatine	Kaiser's Glyceringelatine, Merck KGaA, Darmstadt
<b>Kapselseparierung</b>	
Octyl-β-D-Glucopyranosid	Merck KGaA, Darmstadt
<b>Massenspektrometrie</b>	
Protein-Kalibrationsstandard (Protein calibration standard I)	Bruker Daltonics® GmbH, Bremen, Deutschland
Sinapinsäure	Bruker Daltonics® GmbH, Bremen, Deutschland
Trifluoressigsäure	Fluka, Selze, Deutschland
Acetonitril	Merck KGaA, Darmstadt

---

### **Aus der Dissertation hervorgegangene Publikationen**

**A. Wiebring, H. Helmholz, I. Sötje, S. Lassen, A. Prange, H. Tiemann (2009).** A new method for the separation of different types of nematocysts from Scyphozoa and investigation of proteinaceous toxins utilizing laser catapulting and subsequent mass spectrometry. *Journal of Marine Biotechnology* (308-317).

**A. Wiebring, H. Helmholz, S. Lassen, A. Prange, G. Jarms. (2010).** Separation and analysis of different types of nematocysts from *Cyanea capillata* (L.). *Hydrobiologia* (203-212).

**H. Helmholz, A. Wiebring, S. Lassen, C. Ruhnau, C. Schütt, A. Prange (akzeptiert).** Cnidom analysis combined with an *in vitro* evaluation of the lytic, cyto- and neurotoxic potential of *Cyanea capillata* (Cnidaria: Scyphozoa). *Scientia Marina*, doi: 10.3989/scimar.03381.16E.

**S. Lassen, A. Wiebring, H. Helmholz, C. Ruhnau, A. Prange (akzeptiert).** Isolation of a Na<sub>v</sub> channel blocking polypeptide from *Cyanea capillata* medusae – a neurotoxin contained in fishing tentacle isorhizas. doi: 10.1016/j.toxicon.2012.02.004.

### **Beiträge auf einer wissenschaftlichen Tagungen**

#### *Vortrag*

**Third International Jellyfish Blooms Symposium 2010;** 13.07.-16.07.2010, Argentinien/Mar del Plata: "The cnidom of *Cyanea capillata*: Preliminary results of changes with life cycle and growth conditions".

#### *Posterbeiträge*

**ASLO Aquatic Science Meeting 2009;** 25.01.-30.01.2009, Frankreich/Nizza: "LMPC - A new method for the separation of different types of nematocysts from Scyphozoa"

**ICES ASC Berlin, 21.-25. September 2009:** "Separation and analysis of different types of nematocysts from *Cyanea capillata*"

---

## Danksagung

An dieser Stelle möchte mich bei allen bedanken, die zum Gelingen der Doktorarbeit beigetragen haben.

PD Dr. Gerhard Jarms von der Universität Hamburg danke ich für Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas und die hilfreichen Diskussionen.

Prof. Dr. Andreas Prange vom Helmholtz-Zentrum Geesthacht danke für die Bereitstellung des interessanten Themas, die stete Unterstützung und die sehr guten Bedingungen bei der Durchführung der Arbeit.

Dr. Heike Helmholtz danke ich für die ausgezeichnete fachliche Betreuung am Helmholtz-Zentrum, für die Unterstützung bei der Lösung von Problemen sowie die vielen Tipps zur Verbesserung der Dissertation.

Stephan Lassen danke ich für die Hilfe bei den MALDI-TOF-MS Messungen, für die Unterstützung bei der Aufarbeitung der Daten und Diskussionen über Ökologie und Toxine. Mein besondere Dank gilt Christiane Ruhnau für die Hilfe beim Kapseln sammeln und die aufmunternden Worte in Büro und Zelllabor. Außerdem danke ich der gesamten Arbeitsgruppe Geesthacht für die gute Zusammenarbeit und die tolle Arbeitsatmosphäre.

Ich danke außerdem der Arbeitsgruppe in Hamburg, besonders Sabine Döscher und Petra von Beichmann, für die nette Atmosphäre während der Fütterung und Kulturpflege.

Dr. Sabine Holst danke ich für die geduldige Hilfe bei der Statistik, das Lesen der Arbeit und die vielen guten Verbesserungsvorschläge.

Ich danke außerdem Dr. Veit Hennig für die Unterstützung bei der Statistik und Renate Walter für die REM-Aufnahmen der Nesselkapseln.

Für zwei tolle Forschungsreisen danke ich dem Fahrleiter Dr. Christian Schütt von der Biologischen Anstalt Helgoland (BAH) sowie der Crew der FS Heincke.

Herzlich danke Mechthild Grebe für das Lesen der Arbeit und Dr. Jürgen Gandraß für die Korrekturen von englischsprachigen Texten.

Meiner Familie und meinen Freunden gilt ein großer Dank für die Geduld und Unterstützung während der Promotionszeit.

### **Erklärung über frühere Promotionsversuche und eidesstattliche Versicherung**

Hiermit versichere ich, Annika Wiebring, an Eides Statt, dass ich diese Arbeit mit dem Titel „Physiologische Adaptationsprozesse von Scyphozoa-Lebensstadien gegenüber physikalischen und biologischen Parametern auf der Basis von Cnidom- und Venomanalysen“ selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Andere als von mir angegebene Hilfsmittel und Quellen wurden als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit ist in gleicher oder ähnlicher Form an keiner anderen Universität als Promotionsarbeit eingereicht worden und es wurden zuvor keine weiteren Promotionsversuche von mir unternommen.

Hamburg, den 12.03.12

