

Das „Perlboot“ Nautilus im interdisziplinären Fokus

Tintenfischforschung in Gießen

Von Peter Ruth, Bettina Westermann, Ingrid Beck, Horst Detlef Litzlbauer, Hans-Günter Sohn, Henrike Schmidtberg, Erhard F. Kaleta und Rudolf Schipp

„Perlboote“ werden sie genannt oder wissenschaftlich: *Nautilus*. Sie sind die letzte lebende Gattung der Altintenfische, deren besonderes Kennzeichen eine äußere, gekammerte Schale ist. Nautiliden sind bereits aus dem Erdaltertum, speziell dem Ordovizium bekannt. Seit dieser Zeit, vor rund 400 Millionen Jahren, verfolgen sie eine eigene Entwicklungslinie und überleben unter Beibehaltung vieler ursprünglicher Merkmale zahlreiche Erdkatastrophen bis zur Gegenwart. Die nächsten Verwandten sind die Ammonshörner (Ammoniten) und Donnerkeile (Belemniten), die schon seit 65 Millionen Jahren ausgestorben sind.

Abb. 1: *Nautilus pompilius*, die am meisten verbreitete Art der Gattung *Nautilus*.

Seit einigen Jahren beschäftigt sich die inzwischen letzte deutsche Tintenfisch-Arbeitsgruppe unter der Leitung von Prof. Dr. Rudolf Schipp am Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie intensiv mit der Lebensweise dieses „lebenden Fossils“. Die Ergebnisse dieser mittlerweile auch interdisziplinären Zusammenarbeit ermöglichen einen direkten Vergleich archaischer Organsysteme mit denen moderner Kopffüßer, wie Kra-

ken, Kalmare und Sepien. Diese Befunde interessieren nicht nur die Biologen, sondern sind auch für Paläontologen von Bedeutung.

Der Beginn der Gießener *Nautilus*-Forschung geht auf eine wissenschaftliche Expedition im Jahre 1982 in die Inselwelt des nordöstlichen Australien, genauer nach Neukaledonien, zurück. Dort am Aquarium und Tropeninstitut ORSTOM (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer)



in der Hauptstadt Nouméa war es der damals dreiköpfigen Forschergruppe des Instituts für Allgemeine und Spezielle Zoologie unter der Leitung von Prof. Rudolf Schipp möglich, den natürlichen Lebensraum der Tiere am Beispiel von *Nautilus macromphalus* kennenzulernen und sich vor allem mit Struktur und Funktion der Kreislauf- und Exkretionssysteme zu befassen. Nach einem Monat verließ die Arbeitsgruppe Nouméa mit einer Vielzahl von Gewebe- und Flüssigkeitsproben zur licht- und elektronenmikroskopischen sowie biochemischen Aufarbeitung in Gießen, dazu mit vielen neuen Erkenntnissen und noch mehr offenen Fragen.

Neben den Untersuchungen des Herz-Kreislauf- und Exkretionssystems kamen in den folgenden Jahren Studien zur Blutsynthese sowie zum Respirations- und Verdauungssystem hinzu. Ein weiteres Augenmerk gilt der innerartlichen Kommunikation und dem gesamten Blutstoffwechsel. Um alle diese Fragestellungen bearbeiten zu können, mußte die Palette der angewandten Methoden deutlich erweitert werden. Zur Histologie, Enzymhistochemie und Elektronenmikroskopie kamen immuncytologische, biochemische und molekularbiologische Verfahren hinzu. In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Erhard Kaleta am Fachbereich Ve-



Abb. 2: Die Verbreitungsgebiete von *Nautilus* sind die tropischen Korallenriffe des indischen und pazifischen Ozeans. Ob *Nautilus reperius* tatsächlich eine eigene Art darstellt, ist noch umstritten.

terinärmedizin wurde nun die topographische Anatomie des komplexen Verdauungskanals durch Röntgenaufnahmen dargestellt und mittels der Computertomographie in der Röntgenabteilung der Chirurgie am Klinikum der Universität dreidimensional rekonstruiert.

Zur Lebensweise von Nautilus

Das lebende Fossil *Nautilus* wird nur noch durch sechs lebende Arten vertreten, doch schon im Ordovizium, vor 400 Millionen Jahren, traten die Nautiliden in großer Arten- und Formenvielfalt in Erscheinung. Tiere mit gestreckten, zum Teil über 3 m langen Schalen sind fossil überliefert. Seit der Trias (vor

etwa 200 Millionen Jahren) setzte sich die spiralig eingerollte Form durch. So besiedelt *Nautilus* mit nahezu unveränderter Gestalt seit über 65 Millionen Jahren die tropischen Korallenriffe des indischen und pazifischen Ozeans (Abbildung 2).

Seine Besonderheit ist eine gekammerte äußere Schale. Sie ermöglicht ihm, bis in Tiefen von 400 bis 600 m hinab zu tauchen, wobei die fragilen Schalenkammern Drücken von 40 bis 60 bar standhalten. Nur im Schutze der Nacht steigen die Tiere bis knapp unter die Wasseroberfläche auf. Der fein austarierbare Auf- und Abtrieb wird durch eine raffinierte Modulation der Flüssigkeits- bzw. Gasmengen in den Kammern reguliert – ein kom-

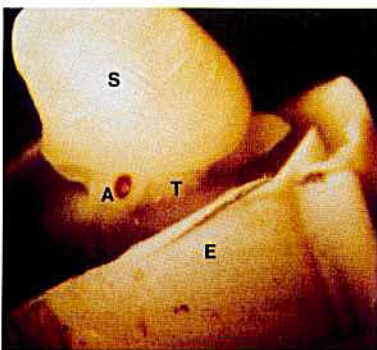


Abb. 3: Der erste lebende *Nautilus* Embryo wurde von John Arnold und Bruce Carlson im Waikiki Aquarium in Hawaii fotografiert. Die Eikapsel (E) wurde eröffnet. Schale (S), Auge (A) und Tentakelansätze (T) sind bereits gut entwickelt.

„Perlboote“

Woher stammt der Name „Perlboot“? Dazu muß man sich den Aufbau der Schale von *Nautilus* anschauen. Sie besteht – wie die der Perlmuscheln – aus zwei Kalkschichten. Die innere wird aus vielen dünnen, sich dachziegelartig überlagernden Plättchen aufgebaut und als Perlmutterschicht bezeichnet. Diese besteht aus vielen iridisierenden Aragonitplättchen, die ihr den perligen Glanz verleihen. Die äußere Kalkschicht, die Prismenschicht, ist von einer organischen Membran, dem Periostracum, überzogen, das den Kalk vor der Auflösung schützt. Werden nun das Periostracum und die Prismenschicht durch Abschleifen entfernt, so tritt die Perlmutterschicht zu Tage,

die für den Namen „Perlboot“ verantwortlich ist. Schon in der Renaissance waren *Nautilus*-schalen ein beliebter Schmuck in den Fürstenthümern. Mit großem handwerklichem Geschick wurden sie geschliffen, in Gold gefaßt und verziert. So dienten sie als extravagante Trinkpokale. In Zusammenarbeit mit dem „Weserrenaissance Museum“ in Lemgo stellte die Gießener Arbeitsgruppe dort 1997 im Rahmen der Sonderausstellung „*Nautilus* – eine Zeitreise im Perlboot“ lebende *Nautilus* in einem Aquarium vor. Über eine Woche lang konnten sich interessierte Besucher über das „lebende Fossil“ direkt am Objekt fachkundig informieren. •



Peter Ruth, Jahrgang 1957, studierte Biologie und Geologie in Gießen und begann seine Dissertation 1988 mit einem Forschungsstipendium des DAAD am Pacific Biomedical Research Center an der University of Hawaii in Honolulu. Nach seiner Promotion bei Prof. Dr. Rudolf Schipp über Stoffwechsel und Haemocyanin-synthese bei *Nautilus* 1993 arbeitete er zwei Jahre am Zentrum der Morphologie am Klinikum der Johann Wolfgang von Goethe Universität in Frankfurt/Main. Als Mitarbeiter der Arbeitsgruppe von Prof. Schipp widmete er sich bis 1998 den zellulären Grundlagen der Chemo-kommunikation bei *Nautilus*. Seit 1998 erforscht er im Rahmen eines Forschungsprojektes der DFG den Haemocyanin-Metabolismus bei Tintenfischen.

plizierter Vorgang, der über den alle Kammern durchziehenden Gewebeschlauch, den Siphon, abläuft und in seinen Steuerungsmechanismen nach wie vor noch nicht ganz verstanden ist. Neben Wanderungen in der Vertikalen führt *Nautilus* auch horizontale Wanderungen durch, wobei Distanzen von über 100 km zurückgelegt werden.

Seine Nahrung besteht vornehmlich aus Aas, das er mit verschiedenen Geruchsorganen auf den zahlreichen Tentakeln und im Mundbereich orten kann. Das Sehen spielt bei *Nautilus* in der Dunkelheit seines Lebensraumes eine eher untergeordnete Rolle. Im Gegensatz zu den hochauflösenden Linsenaugen der modernen Tintenfische sind seine Augen linsenlos und funktionieren nach dem Prinzip einer Lochkamera.

Neben der äußeren gekammerten Schale sind die große Zahl von Tentakeln ohne Saugnäpfe, vier Kiemen sowie sein im Vergleich zu den modernen Tintenfischen sehr kleines "Schnecken-Gehirn" als ar-

chaische Merkmale anzusehen. Die modernen Tintenfische, Kalmare und Kraken, hingegen besitzen nur acht bis zehn Fangarme mit Saugnäpfen und nur zwei Kiemen. Diese hochspezialisierten Tiere sind schnell schwimmende Jäger, mit großen, lernfähigen Gehirnen, die ihre Feinde unvermittelt mit einer Tintenwolke einnebeln können.

Wie bei Kraken und Kalmaren sind bei *Nautilus* Männchen und Weibchen ausgebildet; doch im Gegensatz zu diesen, die sich nur einmal in ihrem kurzen ein- bis zweijährigen Leben fortpflanzen und danach sterben, können die Nautiliden in ihrem zehn- bis 15-jährigen Leben mehrfach Eipakete absetzen. Die Gelege bestehen aus acht bis 15 maximal 4cm langen Eiern, die mit derben Eihäuten umgeben am Riff angeheftet werden (Abbildung 3). Nach einer Entwicklungszeit von über 400 Tagen schlüpfen die etwa daumennagelgroßen Jungtiere, bereits mit dem äußeren Erscheinungsbild der erwachsenen Tiere. Sie haben eine

Mini-Schale mit zunächst nur fünf bis sieben Kammern und können, nachdem sie ihren Dottervorrat verbraucht haben, sofort größere Nahrungsstücke aufnehmen, d.h. sie haben kein Larvenstadium und sind nicht unmittelbar auf Plankton als Nahrung angewiesen.

Die funktionellen Besonderheiten des Kreislauf- und Exkretionssystems von *Nautilus*

Direkt nach der Rückkehr aus Neukaledonien begannen bereits im Jahr 1982 die Arbeiten am Kreislauf- und Exkretionssystem. Die folgenden transmissions- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen in Verbindung mit enzymhistochemischen Analysen klärten die Ultrastruktur und Funktionsmorphologie von Herz, Blutgefäßen und Respirationsorganen weitgehend auf. Es zeigte sich, daß das mit vier Vorhöfen ausgestattete Herz sowie das peripher offene Gefäßsystem - ähnlich wie bei modernen Tintenfischen - durch antagonistische neuronale Regulationsmechanismen gesteuert werden, bei denen vor allem Acetylcholin und Noradrenalin ebenso wie Serotonin und die Neuropeptid-Gruppe der FMRFamide als Neurohormone beteiligt sind.

Die mit ähnlicher Methodik erarbeiteten Befunde zur Exkretion ergaben zum einen, daß die Kiemen nicht nur der Atmung dienen, sondern auch als Ausscheidungsorgane funktionieren. Zum anderen stellte sich heraus, daß die Ausscheidung von Ammoniak - als dem wichtigsten stickstoffhaltigen Exkret - vor allem in den komplex gebauten, aktiv kontrahierenden Pericardialorganen abläuft, die bei *Nautilus* zudem Aufgaben wie unsere Milz und Lymphknoten zu erfüllen scheinen. Demgegenüber wird der Mineralstoffwechsel bei *Nautilus* über ein vollständig separates Organsystem, die Renalanhänge, gesteuert. Die dort phasenhaft in großen Massen auftretenden "Nierensteine" sind nicht als pathologisches Phänomen, sondern als Calcium-Depots zur Sicherung

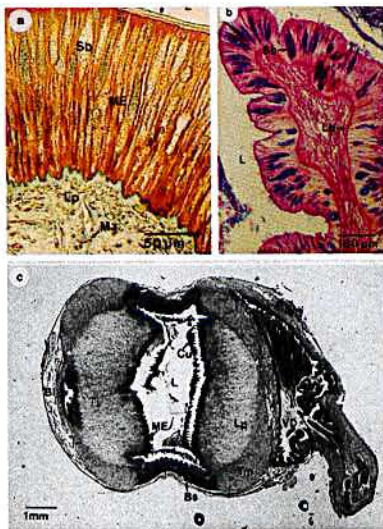


Abb. 4: Histologische Schnittpräparate durch den Kropf (a) und den Oesophagus (b). Auffallend ist die große Zahl der Schleimbecherzellen (Sb). Längsschnitt durch den Magen (c).

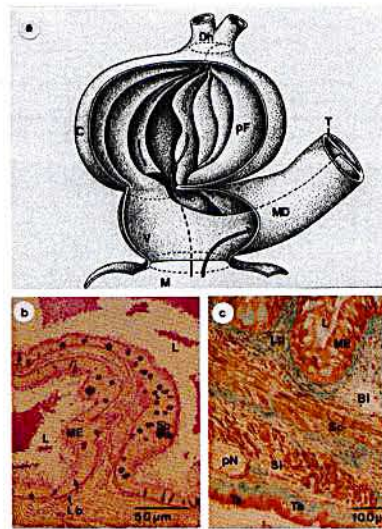


Abb. 5: a. Das Schema verdeutlicht den raffinierten Trennungs- und Sortiermechanismus im Caecum (C). Der Nahrungsbrei gelangt vom Magen (M) über das Vestibulum (V) zum Ductus hepatopancreaticus (Dh), einem Kanal, der zur Mitteldarmdrüse führt. Unverdaute Nahrung wird dem Mitteldarm (MD) zugeführt. b. Histologischer Schnitt durch das Mucosaepitel des Caecums. c. Schnitt durch die Wandung des Enddarms.



Bettina Westermann, Jahrgang 1965, studierte Biologie mit den Schwerpunkten Zoologie, Zellbiologie und Tierphysiologie an der Justus-Liebig-Universität Gießen. Sie promovierte 1995 in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Rudolf Schipp mit einer Arbeit zur Cytomorphologie und Innervation des Verdauungstraktes von *Nautilus*. Zur Zeit geht sie im Rahmen eines Forschungsstipendiums der DFG in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Bernd Budelmann, Marine Biomedical Institute der University of Texas, Galveston, USA, der Frage nach, inwieweit diese Tiere über Duftstoffe miteinander kommunizieren.

Warum Tintenfisch-Forschung in Gießen?

Tintenfische – der Zoologe spricht eher von Tintenschnecken oder Kopffüßern, da sie ihre „Füße“, d.h. Fangarme, am Kopf tragen – gehören mit den Muscheln und Schnecken zum Tierstamm der Weichtiere. Im Vergleich zu jenen sind sie jedoch hoch entwickelt. „Moderne“ Tintenfische, wie Kalmare, Kraken oder Sepien, verfügen über ein großes, unter den marinen wirbellosen Tieren einzigartiges Gehirn, das ihnen ein Lernen ermöglicht. Ihre leistungsfähigen Sinnesorgane, insbesondere ihr hochauflösendes, wirbeltier-ähnliches Linsenauge zusammen mit ihrem effizienten Bewegungsapparat, erlauben es den Tieren, ihre Beute zu erjagen, pfeilschnell ihren Freßfeinden zu entweichen oder diese gezielt mit einer unangenehm schmeckenden Tintenwolke zu verschrecken und fehzuleiten.

So unansehnlich, für viele gar ekel-erregend Tintenfische oder Teile davon auf der Pizza maritima, im Octopus-Salat oder auf Eis in der Fischauslage erscheinen mögen, so faszinierend schön ist die Färbung der Haut lebender Tiere. Es ist eine Färbung, die sich blitzschnell dem Untergrund anpaßt oder auffällige, in rascher Folge wechselnde Muster zeigt, die Feinde irritieren oder als Hautzeichensprache Sozialpartnern Stimmungslage und andere von uns noch nicht verstandene Informationen signalisieren können.

Fasziniert, ja geradezu eingefangen von diesen Tieren sind auch seit nunmehr über drei Jahrzehnten die Mitarbeiter der Gießener Tintenfisch-Arbeitsgruppe. Sie ist inzwischen die einzige Arbeitsgruppe in Deutschland, die sich mit dieser be-

deutenden Tiergruppe befaßt, während in den USA, Frankreich, England, Spanien, Japan, Kanada, Australien und auch Südafrika zahlreiche Labors an Tintenfischen arbeiten. Wichtigstes Untersuchungsobjekt und nahezu „Haustier“ der Gießener Gruppe ist nicht *Nautilus*, sondern vielmehr der Gemeine Tintenfisch: *Sepia officinalis* L. Schwerpunkte der Arbeiten an diesem Tier sind neben mikroskopisch-anatomischen und zellbiologischen Untersuchungen am Verdauungs-, Exkretions- und Respirationssystem sowie den blutbildenden Organen vor allem physiologische und pharmakologische Untersuchungen zum Verständnis des gleichermaßen hochentwickelten Kreislaufsystems: Es besitzt drei Herzen, einen getrennten Körper- und Atemkreislauf, dickwandige Arterien, pulsierende Venen, Blutkapillaren sowie raffinierte neuronale und endokrine Steuerungsmechanismen, die denen höherer Wirbeltiere gleichkommen.

In der Absicht, ein wenig von der Faszination dieser Tiere und den Arbeiten der Gießener Gruppe auch dem Nicht-Fachwissenschaftler zu vermitteln, entstanden Vorträge, Zeitungsbeiträge, TV-Präsentationen, eine Ausstellung zum 150-jährigen Bestehen der Zoologie in Gießen, Jugendvorlesungen und Lehrer-Fortbildungskurse.

Doch oft wird die Frage gestellt: Warum Tintenfisch-Forschung hier in Gießen? Ist es möglich, weitab von Meeresküsten, noch dazu an Tieren, die an deutschen Meeresküsten kaum vertreten sind, Forschung zu betreiben? Zweifelsohne ist die eigene Faszination, der persönliche

Bezug zu diesen Tieren ein wesentlicher Antrieb, sie zu erforschen und verstehen zu wollen. Doch eröffneten diese Arbeiten zwangsläufig auch vielen Gießener Biologiestudenten und -studentinnen die Möglichkeit, an meeresbiologischen Laboratorien vor allem in Frankreich, aber auch in den USA, Neukaledonien und England zu arbeiten, die besondere Atmosphäre solcher Institute kennenzulernen und dabei wichtige Auslandserfahrungen zu sammeln. Aus diesen Forschungsaufenthalten, oft getragen von Kooperationen mit ausländischen Kolleginnen und Kollegen, entstanden bisher weit über 100 Publikationen sowie über 50 Diplomarbeiten und mehr als zehn Dissertationen.

Seit einigen Jahren werden – neben *Nautilus* – auch Sepien in Gießen gehalten. In einem geschlossenen Aquariensystem mit künstlichem Seewasser ist es möglich, Sepien in großer Zahl und unter sehr konstanten Bedingungen vom Ei an großzuziehen und ganzjährig an ihnen Studien zu betreiben.

Daß marinbiologische Forschung an wirbellosen Meerestieren Zukunft hat und von sehr praktischem Wert sein kann, belegen die gegenwärtigen Bemühungen der Pharmazeutischen Industrie, über ein breit angelegtes Screening dieser „Apotheke des Meeres“ medizinisch interessante Substanzen zu entreißen, wie das Magazin DER SPIEGEL (8/2000, Seite 264) berichtete. Auch Gießener Biologiestudenten und -studentinnen sollten die Chance haben, dabei mitzuwirken. •



Ingrid Beck, Jahrgang 1963, studierte Veterinärmedizin in Leipzig und Pretoria (Südafrika). Sie ist seit 1997 am Institut für Geflügelkrankheiten der Justus-Liebig-Universität Gießen wissenschaftlich tätig. Neben ihrer Dissertation über vergleichende Untersuchungen von Adjuvantien in Impfstoffen für Vögel arbeitet sie seit 1998 als praktische Tierärztin in der Poliklinik des Geflügelinstitutes. Seit 1999 ist sie die neue Leiterin der Poliklinik für Vögel und Reptilien.

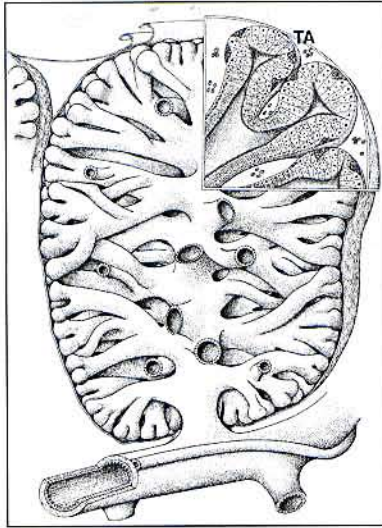


Abb. 6: Schematischer Aufbau eines Drüsenläppchens. In den Drüsenendköpfchen, den terminalen Alveoli (TA), sind Zellen lokalisiert, die den Blutfarbstoff Haemocyanin synthetisieren.

Abb. 7: a-c. Die tubulären Elemente der Drüse werden durch ein feines Netzwerk (tN) stabilisiert. In diesem Drüsenabschnitt werden überwiegend Fette (Li) gespeichert.

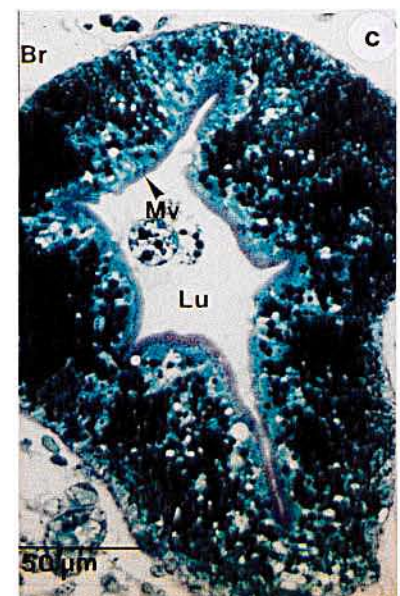
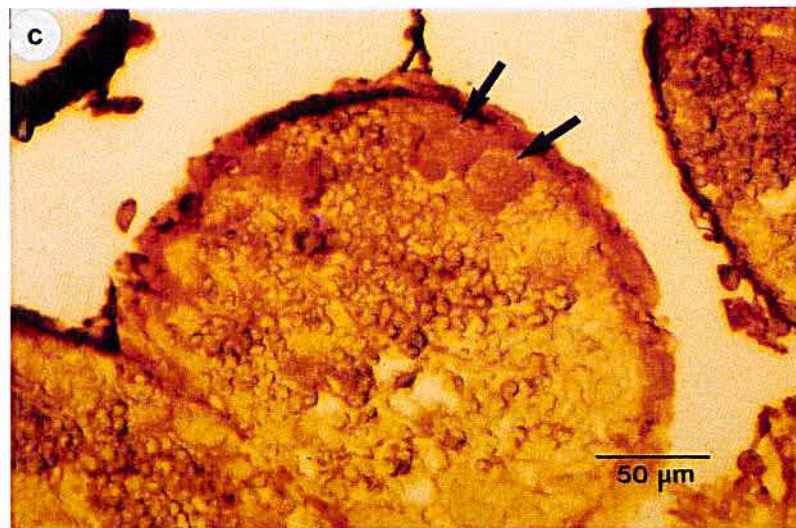
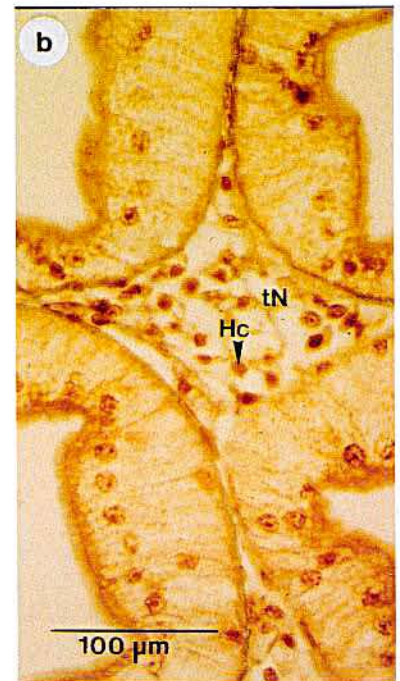
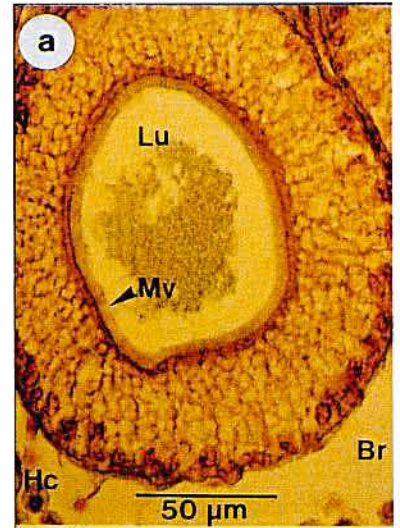


Abb. 8: a. Histologisches Schnittpräparat durch ein Drüsenköpfchen. b. Der Semidünnschnitt zeigt den Haemocyanin-synthetisierenden Zelltyp, die Basalzellen (Bz). c. Immunhistochemische Reaktion eines Antikörpers gegen Nautilus-Haemocyanin in den Basalzellen der Mitteldarmdrüse.



Horst Detlef Litzlbauer, Jahrgang 1965, studierte Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen. Er promovierte mit einer immunologischen Arbeit über die Interleukin-1 Sekretion von Makrophagen bei Diabetes mellitus bei Prof. Dr. Konrad Federlin. Seit 1994 ist er bei Prof. Dr. Wigbert Rau in der Diagnostischen Radiologie - und hier zuletzt am Computertomographen - tätig.

eines kontinuierlichen Schalenbaues anzusehen.

Bei diesen Untersuchungen entdeckten wir in den Pericardialorganen eine dichte Bakterienbesiedlung. Erste elektronenmikroskopische, mikrobiologische und biochemische Analysen erbrachten Hinweise, daß diese Bakterien als Symbionten bei der Entgiftung des Ammoniak im Harn der Tiere mitwirken. In Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Peter Kämpfer und Dr. Alexander Neef vom Institut für Angewandte Mikrobiologie sollen nun diese Bakterien an unverfälschten Proben, die frisch gefangenen Tieren entnommen werden, mittels moderner molekularbiologischer Methoden näher bestimmt werden. Dazu fand im August dieses Jahres in Kooperation mit zwei französischen Kolleginnen vom Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, eine Fangexpedition zu den Korallenriffen Neukaledoniens statt. Die experimentellen Arbeiten wurden am Aquarium von Nouméa und am renommierten Institute de Recherche pour le Développement durchgeführt.

Das Verdauungssystem

In den folgenden Jahren galt ein weiteres Augenmerk dem Verdauungssystem. Die Topographie, Struktur und Funktion der einzelnen Abschnitte des Magen-Darm-Traktes konnten in ihren Grundzügen aufgeklärt werden. Hier standen folgende Fragen im Vordergrund: Wie verläuft der Darmkanal im Tier? Wie ist er histologisch und cytologisch aufgebaut, und gibt es Besonderheiten im Vergleich zu den modernen Tintenfischen? Wo wird Nahrung resorbiert? Wie lange dauert die Magen-Darm-Passage?

Der Verdauungstrakt von *Nautilus* gliedert sich in den Vorderdarm mit Magen und Vestibulum ("Vormagen"), den Mitteldarm mit Blinddarm und in den Enddarm. Der Vorderdarm ist zu einem Kropf erweitert, in dem Nahrungstücke bis zur weiteren Aufbereitung aufbewahrt werden können. Der muskulöse Magen, der ähnlich dem

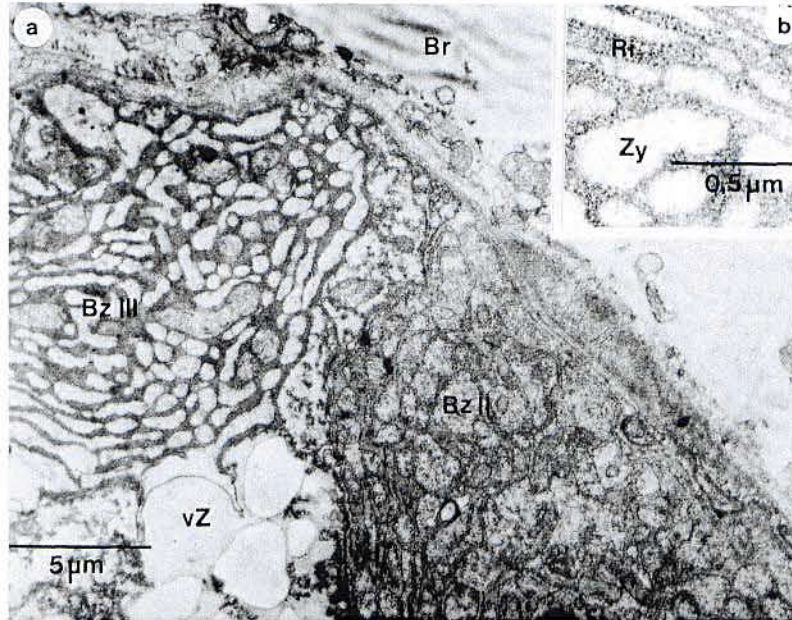


Abb. 9: Elektronenmikroskopische Aufnahme verschiedener Typen von Basalzellen (Bz).

Muskelmagen der Vögel mit einer extrem dichten Cuticula schützend ausgekleidet ist, steht über einen kurzen Schlauch, dem Vestibulum, mit dem Mitteldarm und dem Blinddarm in Verbindung (Abbildung 4). Im zweigeteilten Vormagen und im Blinddarm mit seinem komplex strukturierten Lamellensystem findet eine Trennung von Nahrungsbrei und nicht verdaubaren Hartpartikeln (z. B. Skelettelementen) statt, die direkt in den Mitteldarm befördert werden (Abbildung 5). Wie dieser raffinierte Trennungs- und Sortiermechanismus abläuft ist im Einzelnen noch unklar. Der Blinddarm steht über einen paarig angelegten Kanal, den Ductus hepatopancreaticus, mit der Mitteldarmdrüse (Leber) in Verbindung. In ihm wird der Nahrungsbrei mit dem Verdauungssekret dieser Drüse durchmischt. Die voluminöse, paarig angelegte Mitteldarmdrüse ist mit unserer Leber zu vergleichen und stellt das zentrale Organ der Verdauung dar. Sie besteht aus unzähligen tubulären Einheiten mit terminalen Erweiterungen, die unmittelbar an den Blutraum angrenzen (Abbildung 6). Mit Hilfe von histologischen, elektronenmikroskopischen, autoradiographischen und biochemischen Metho-

den konnte gezeigt werden, daß in ihr die Aufnahme der verdauten Nahrung, die Sekretion von Verdauungsenzymen und die Speicherung von Nährstoffen stattfindet (Abbildung 7). Weiterhin ist sie aufgrund unserer immunocytochemischen Befunde als Syntheseort des Blutfarbstoffes Haemocyanin anzusehen (Abbildung 8). Dieses bei allen Tintenfischen vorkommende Atmungspigment bindet den Sauerstoff über Kupferatome, was ihm seine blaue Farbe verleiht.

Für diese Untersuchungen wurde eigens ein polyklonaler Antikörper gegen das Haemocyanin von *Nautilus* hergestellt. Mit diesem Antikörper ließ sich an Gewebeschnitten der bis dahin noch unbekannt Ort der Synthese dieses respiratori-

JUSTUS-LIEBIG-
UNIVERSITÄT
GIESSEN

Dr. Peter Ruth
Dr. Bettina Westermann

Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie
Bereich Allgemeine Zoologie und Entwicklungsbiologie
Stephanstraße 24
35390 Gießen
Tel.: 0641/99-35607, Fax: 0641/99-35609
peter.ruth@allzool.bio.uni-giessen.de



Hans-Günter Sohn, Jahrgang 1955, schloß 1975 seine Ausbildung zum Medizinisch-Technischen Radiologie-Assistenten (MTRA) an der staatlichen Lehranstalt für MTRA der Justus-Liebig-Universität Gießen ab. Seit 1975 ist er als MTRA am Zentrum für diagnostische Radiologie in der Röntgenabteilung der Chirurgie des Gießener Klinikums tätig.

schen Blutfarbstoffes in den Basalzellen (Abbildung 9) der Mitteldarmdrüse und in vereinzelt Zellnestern in Kiemennähe lokalisieren. Der gesamte Haemocyanin-Stoffwechsel und ein mögliches Recycling stellen einen Schwerpunkt in dem zur Zeit laufenden und von der DFG geförderten Projekt über Cephalopoden Haemocyanine dar.

Eine Besonderheit weist der Enddarm auf. Im Bereich der Enddarmschlinge wurden auffallende Areale von Drüsenzellen entdeckt, deren Funktion noch unklar ist (Abbildung 10). Es ergeben sich Hinweise, daß die Sekrete dieser Rectaldrüse den Kot parfümieren und damit der innerartlichen Kommunikation im Riff dienen können. Möglicherweise enthalten sie auch Sexuallockstoffe (Pheromone), die die Geschlechtspartner zur Paarungszeit zusammenführen.

Geruchswahrnehmung bei Nautilus

Wie bereits erwähnt, besitzt *Nautilus* eine Rectaldrüse, deren Funktion allerdings noch unklar ist. Um festzustellen, inwieweit sie eine Rolle bei Prozessen der Chemo-Kommunikation - der Erkennung der Tiere untereinander mit Hilfe ihres Geruchssinnes - spielt, wurden Verhaltensexperimente und

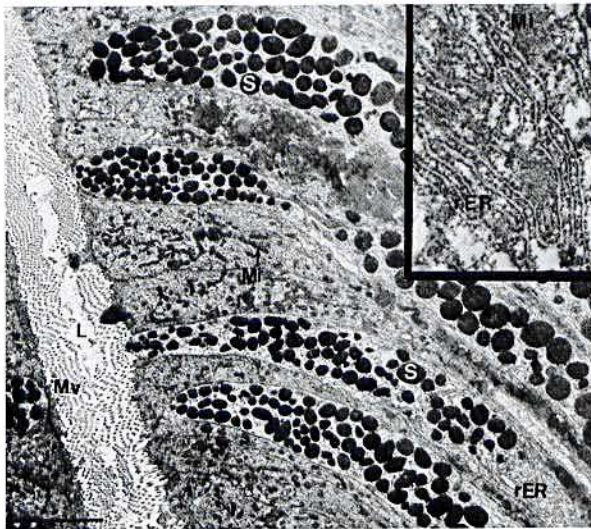


Abb. 10: Elektronenmikroskopische Darstellung der sog. Rectaldrüse im Enddarm. Die Sekrete (S) dieser Drüse dienen vermutlich der innerartlichen Kommunikation.

Orientierungsversuche mit Futter- und Kotproben sowie Rectaldrüsen-Homogenaten durchgeführt. Diese Untersuchungen wurden von Bettina Westermann im Rahmen eines mehrmonatigen von der DFG geförderten Projektes in Kooperation mit dem zur Zeit wohl kompetentesten Sinnesphysiologen für Tintenfische, Prof. Dr. Bernd Ulrich Budelmann, in Galveston (Texas) weitergeführt.

Parallel erfolgten dazu Untersuchungen der Geruchsorgane von *Nautilus*, wie den vorderen und hinteren Augententakeln, den zahlreichen Digitaltentakeln und dem Rhinophor. Mit Hilfe histologischer und elektronenmikroskopischer Techniken wurden zunächst die strukturellen Grundlagen der Chemo-Kommunikation analysiert, um dann weiterführend u.a. mit elektrophysiologischen Methoden deren Wirkungsweise zu erforschen.

Die Tentakel von *Nautilus* besitzen nicht die uns bekannten Saugnapfe der modernen Tintenfische, sondern statt dessen verfügen sie - ähnlich wie Geckos - über lamellenartige Strukturen, die es ihnen ermöglichen, sich auch an glatten Oberflächen festzuhaften. Der Aufbau der Lamellen weist jedoch bei den unterschiedlichen Tentakel-Typen bereits in ihrer Oberflächenstruktur so große Differenzen auf, daß sie Rückschlüsse auf unterschiedlichste Funktion zulassen. Sobald *Nautilus* den ersten Geruchskontakt mit potentieller Nahrung aufgenommen hat, fährt er die beiden Augententakelpaare aus, die gleichsam eine erste "Ferndiagnose" stellen. Nach kurzer Zeit beginnt er mit heftigen, pendelnden Schwimmbewegung die Richtung der Beute auszumachen. Die Digitaltentakel, die in mehreren Reihen um die Mundöffnung gruppiert sind, bilden dabei einen Suchkegel. Nur zwei äußere Paare sehr schmaler Digitaltentakel - die sogenannten langen Digitaltentakel - sind extrem ausgestreckt und hängen weit herab um in Kontakt mit dem Boden zu kommen, wo die Nahrung vermutet wird. Sie dienen nun der genaueren Orientierung der Tiere zur Beute hin. Hat sich der *Nautilus* seiner Beute, z.B. ei-



Abb. 11: *Nautilus belauensis*, deutlich zu erkennen, die mit feinen Cirren umgebene Mundöffnung und der Schnabel.

ner toten Garnele, genug genähert, so ergreift er sie mit den inneren Digitaltentakeln und führt sie zu seinem kräftigen, mit Kalk verstärktem Schnabel, der sie mechanisch zerkleinert (Abbildung 11).

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, daß diejenigen Organe, die mit der Geruchswahrnehmung über eine größere Distanz in Zusammenhang gebracht werden, über ausgedehnte Cilienfelder verfügen (Abbildung 12). Diese sind sowohl in der Riechgrube des Rhinophors, als auch auf den Augententakeln und den langen Digitaltentakeln zu finden, sie fehlen aber den inneren Digitaltentakeln. Letztere dagegen besitzen Geschmackssinneszellen und scheinen zudem eine tastende Funktion zu erfüllen.

Die ersten Röntgenuntersuchungen am Magen-Darm-Kanal

Da sich die Lage und der räumlicher Verlauf des Verdauungskanals durch Präparationen nur ungenau rekonstruieren ließ, sollten röntgenologische Verfahren wie auch die Computertomographie eingesetzt werden, um diesbezüglich Klarheit zu erhalten. Weiterhin sollte die Frage nach Ablauf und Dauer der Magen-Darm-Passage mit diesen Methoden geklärt werden. Röntgenologische Verfahren haben den großen Vorteil,



Henrike Schmidtberg, Jahrgang 1965, hat Biologie an der Universität Münster studiert. Sie promovierte mit einer Arbeit über die Saugnapfentwicklung bei modernen Tintenfischen bei Prof. Dr. Pio Fioroni. Seit Juli 1999 hat sie sich der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Rudolf Schipp angeschlossen und erforscht die strukturellen Grundlagen der Geruchswahrnehmung bei Nautilus. Ihr besonderes wissenschaftliches Interesse gilt der ultrastrukturellen Untersuchung von Cilienzellen auf den verschiedenen Tentakeltypen.

die Topographie des Verdauungskanales und die zeitliche Abfolge des Verdauungsprozesses am lebenden Tier erfassen zu können.

Am Institut für Geflügelkrankheiten des Fachbereiches Veterinärmedizin setzte die Tierärztin Ingrid Beck unser Vorhaben in die Tat um. Ihre besondere Röntgenerfahrung mit Schildkröten, die eine etwa gleiche Größe wie *Nautilus* aufweisen und ebenfalls eine knöcherne Schale besitzen, war die beste Voraussetzung für das Gelingen dieser Aktion. Die ersten Röntgenaufnahmen wurden also an der Poliklinik für

Vögel und Reptilien angefertigt.

Dabei ergaben sich mehrere Probleme: zum einen die Ruhigstellung des *Nautilus* im Aquarium während der Röntgenaufnahme selbst, zum anderen die Ermittlung noch unbekannter Belichtungsdaten für ein sich im Wasser befindliches Tier, um so eine röntgenologisch klare Darstellung des Verdauungstraktes dieser Spezies zu ermöglichen. Zur Fixation des Tieres mußte zunächst durch Werkstattmeister Jörg Schmandt in der Werkstatt des Zoologischen Instituts ein Röntgenaquarium aus Plexiglas konzipiert und

gebaut werden, das den *Nautilus* einerseits in einer bestimmten Lage, nämlich genau parallel zur Frontscheibe hielt, um ihn damit in einen konstanten Abstand zur Röntgenröhre zu bringen. Außerdem mußte das Aquarium dem Tier eine Möglichkeit zum Anheften bieten und groß genug sein, um das darin befindliche Meerwasser zu kühlen und einen hinreichenden Sauerstoffvorrat zu sichern.

Nachdem diese Voraussetzungen erfüllt waren, konnte man mit den Röntgenaufnahmen beginnen. Um den *Nautilus* im Aquarium von der Seite röntgen zu können, wurde das Röntgengerät so positioniert, daß der Strahlengang horizontal, statt wie üblich vertikal verlief und ein festgelegter Abstand zum Probanden eingehalten wurde. Dann mußten die optimalen Belichtungsdaten für diese seitliche (laterolaterale) Aufnahmetechnik durch einige Probeaufnahmen ermittelt werden, so daß Schale, Kammerung und Schnabel deutlich dargestellt wurden. Nachdem dies gelungen war, wurden die Sollwerte für die dorsoventrale (von oben nach unten) Aufnahme festgelegt, da nur zwei Bilder in zwei verschiedenen Ebenen eine dreidimensionale Auswertung ermöglichen. Dazu mußte das Röntgengerät wieder in seine ursprüngliche Stellung mit vertikal verlaufendem Strahlengang umgebaut werden und wie bei der seitlichen Aufnahme ein konstanter Abstand zum Probanden eingestellt werden. Als dann auch diese Optimalwerte gefunden waren, konnte man mit dem eigentlichen Teil, der Darstellung des Verdauungstraktes des *Nautilus*, beginnen.

Ein großes Problem bei allen röntgenologischen Untersuchungen an lebenden, marinen wirbellosen Tieren ist das Meerwasser. Seine Dichte ist ähnlich der der inneren Organe dieser Tiere, was dazu führt, daß man ohne Kontrastmittel keinerlei Weichteilgewebe unterscheiden kann. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, zu erreichen, daß das Tier sich während der Untersuchungen nicht bewegt. Hier ist der *Nautilus* jedoch ein angenehmer Proband, da er es bevor-

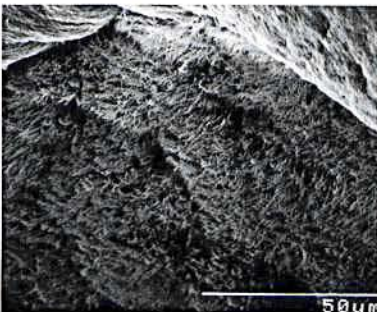
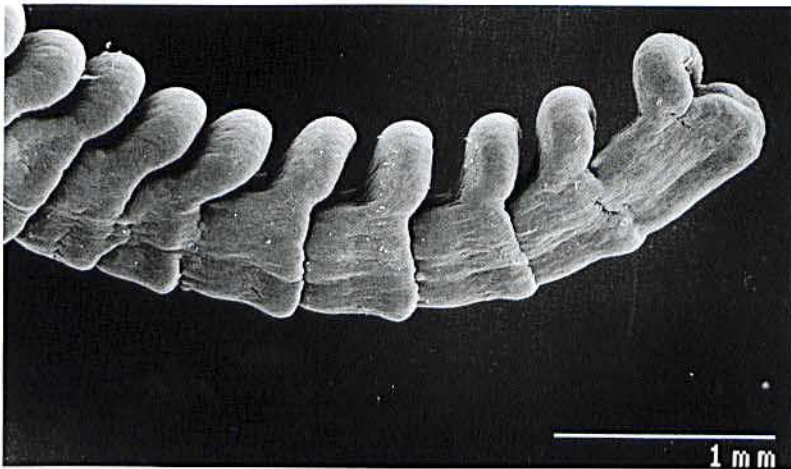


Abb. 12: Oberflächenanalysen mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops verdeutlichen die äußere Gestalt der saugnapflosen *Nautilus*-Tentakel. Vom Tentakelstamm ausgehend erheben sich geldrollen-ähnlich orientierte Lamellen. Die mit der Geruchswahrnehmung in Zusammenhang gebrachten Cilienzellen stehen entweder in Feldern zusammen oder einzeln.



Erhard F. Kaleta, Jahrgang 1939, studierte Veterinärmedizin in Hannover und Wien, wurde mit einer Arbeit über ein histomorphologisches Thema promoviert und habilitierte sich über Interferon-Induktion durch aviäre tumorogene Herpesviren. Seit 1982 ist er Direktor des Institutes für Geflügelkrankheiten der Justus-Liebig-Universität Gießen. Seine Arbeitsgebiete sind virusbedingte Krankheiten der Vögel, Entwicklung von Virus-Impfstoffen und Wirksamkeitsprüfungen.

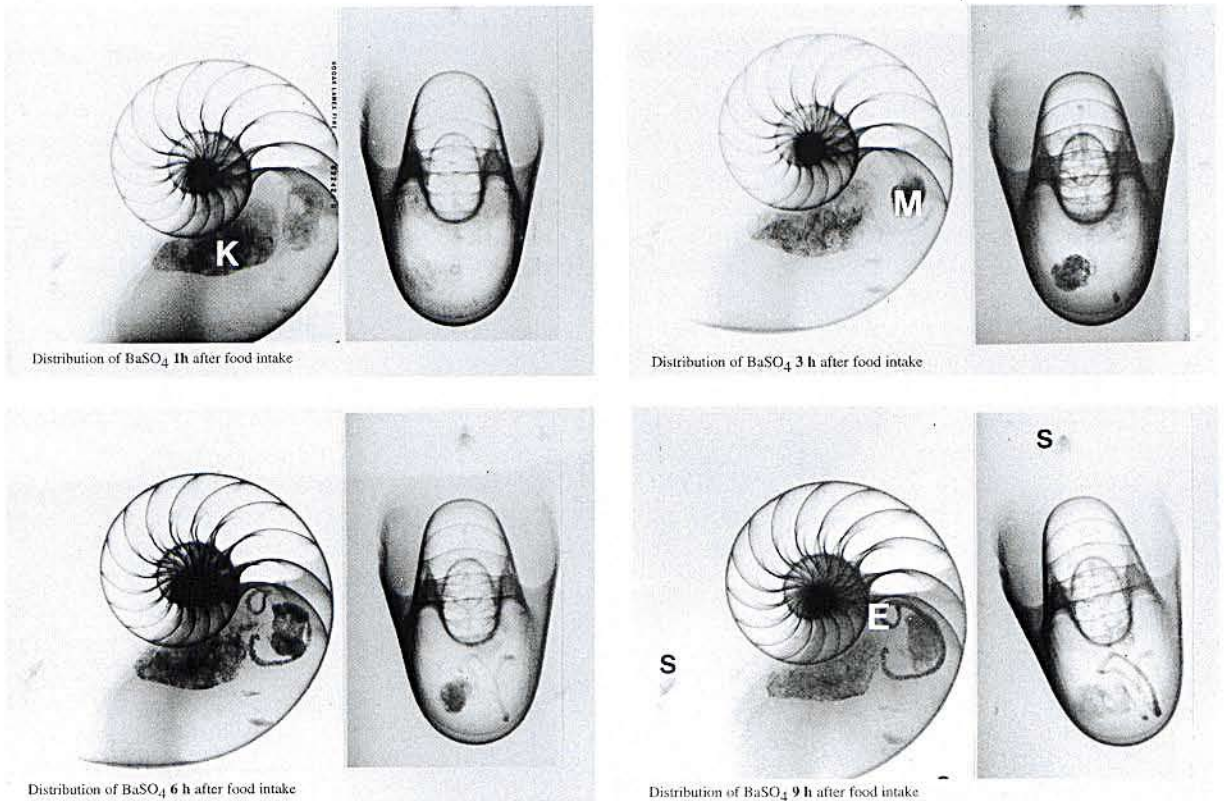


Abb. 13: Die ersten Röntgenaufnahmen von Nautilus entstanden am Institut für Geflügelkrankheiten. Kurz nach der Verabreichung von Garnelen, die mit Bariumsulfat gefüllt wurden, wurde der Proband im Abstand von 30 Minuten geröntgt. Nach elf Stunden ist der gesamte Magen-Darm-Kanal mit dem Kontrastmittel gefüllt. Deutlich treten der Schnabel (S), der Kropf (K), der Magen (M) und die Enddarmschleife (E) hervor.

zugt, nach der Nahrungsaufnahme eine Ruheposition einzunehmen und sich an der Aquarienwand oder – wie in unserem Fall – einem Halterohr anzuheften.

Nach dem Verzehr von vier mit Bariumsulfat gefüllten Garnelen (insgesamt ca. 1 ml Bariumsulfat) wurde der *Nautilus* in stündlichen Abständen geröntgt, bis schließlich der markierte Nahrungsbrei nach zwölf Stunden den Darmtrakt wieder verließ. Eine Magen-Darm-Passage bei *Nautilus* dauert somit doppelt solange, wie sie für moderne Tintenfische beschrieben wird. Die Röntgenaufnahmen zeigten, daß während dieser äußerlichen Ruhe eine beachtliche Verdauungsdynamik abläuft (Abbildung 13). Der Magen erweitert sich, zieht sich dann stark zusammen, um sich bald darauf wieder zu erweitern. Er verändert dabei ständig seine Position. Diese Versuche wurden mit verschiedenen Tieren wiederholt, um anatomische Anomalitäten auszuschließen und den zeitlichen Ab-

lauf der Verdauungsphasen zu ermitteln.

Nautilus im Computertomographen

Mit diesen Ergebnissen ging es dann ins Klinikum, in die Röntgenabteilung der Chirurgie, um den ungewöhnlichen "Probanden" mit dem Computertomographen zu untersuchen. Die Kontrastierung des Verdauungstraktes wurde auf gleiche Weise, wie zuvor bei den Röntgenaufnahmen beschrieben, durchgeführt. Als Kontrastmittel diente hier auch das aus der Veterinärmedizin stammende Bariumsulfat mit Vanille-Aroma, da unser *Nautilus* das mit Erdbeergeschmack versetzte Kontrastmittel der Chirurgie verschmähte. Das gesättigte Tier wurde in einem Plexiglasaquarium auf dem Untersuchungstisch positioniert: zunächst mit seiner Körperachse entlang der Geräteachse, anschließend quer dazu (Abbildung 14). So wurden Imm dicke Schnitte

in frontaler und sagittaler Schnittführung gewonnen. Auf diesen Einzelschnitten bildete sich die Hartsubstanz (Schale, Siphokanal und der Schnabel) mit hoher Detailauflösung ab. Der Kontrast des Weichgewebes zum Salzwasser ist wegen der geringen Dichteunterschiede beider Medien nur minimal. Der kontrastierte Verdauungsapparat mit seiner hohen Dichte war demgegenüber gut abgrenzbar. Um die gewünschte dreidimensionale Rekonstruktion des Verdauungskanals in vivo (am lebenden Tier) zu erreichen, mußten die Querschnittbilder nachbearbeitet werden. Dazu wurde manuell in jedem Einzelschnitt die Schale mit einer Hüllkurve umfahren. Anschließend wurde der Inhalt der Hüllkurve digital entfernt, so daß nur das Weichgewebe mit dem darin enthaltenen, kontrastierten Verdauungskanal übrig blieb. Die abschließende Oberflächendarstellung der Bereiche hoher Dichte führte zur plastischen, dreidimensionalen Darstellung der kontra-



stierten Anteile des Verdauungsapparates (Abbildung 15).

Nautilus im Aquarium

Vor der ersten CT-Untersuchung mußten wir feststellen, daß unser Nautilus – inzwischen ein Röntgenprofi, der bisher alle Röntgenuntersuchungen brav über sich hatte ergehen lassen – ein sonderbares Verhalten an den Tag legte. Er hielt alle seine Tentakel tief in den Tentakelscheiden zurück, so daß nur noch die Spitzen zu sehen waren. Er reagierte auch nicht sofort auf seine Lieblingsspeise, die toten Garnelen, obwohl er diese nachts dann doch verspeiste. Insgesamt war er äußerst träge: Es schien ihm schlecht zu gehen. Wir entschieden uns trotzdem, mit diesem Tier die Computertomographie durchzuführen; und zu unserer Überraschung stellten wir fest, daß er eine neue Kammerwand gebildet hatte, die noch komplett mit Kammerflüssigkeit gefüllt war. Die Neubildung einer Kammer stellt für *Nautilus* eine besondere Veränderung dar. Er muß sich in seiner Schale nach vorne bewegen um den nötigen Platz zu schaffen, was eine Verän-



Abb. 14: *Nautilus* im Computertomographen. Dr. Horst Dettel Litzlbauer (links) und Herr Hans-Günter Sohn begutachten die korrekte Positionierung des Probanden vor der Untersuchung.

derung des Schwerpunktes zur Folge hat. Dann wird die neue Kammerwand eingezogen und die Kammerflüssigkeit über den Siphon abgepumpt. Dieser Vorgang erstreckt sich über mehrere Wochen. Dies zeigt jedoch, daß unser *Nautilus* sich auch nach über einjährigem Aufenthalt im Aquarium normal weiterentwickelt hat – und sogar eine neue Kammer bildete. •

LITERATUR

- RUTH, P.; SCHIMMELPFENNIG R. AND SCHIPP, R. (1999b) Comparative immunohistochemical and immunocytochemical investigations on the localization of haemocyanin synthesis in dibranchiate and tetrabranchiate Cephalopods (*Sepia* and *Nautilus*). In: F. Olóriz and F. J. Rodríguez-Tovar (eds): *Advancing Research on Living and Fossil Cephalopods*. Plenum Press, New York, London, Moscow, pp 189 – 202.
- RUTH, P.; SCHIPP, R. AND ARNOLD, J. M. (1999/2000) Organization and function of the midgut glands of *Nautilus pompilius* L. and *Nautilus macromphalus* SOW. (Cephalopoda, Tetrabranchiata). *Zoology Analysis of Complex Systems*, 102 (4), 196-211.
- SCHIPP, R.; MARTIN, A.W.; LIEBERMANN, H. AND MAGNIER, Y. (1985) Cytomorphology and function of the pericardial appendages of *Nautilus* (Cephalopoda, Tetrabranchiata). *Zoomorphology*, 105, 16-29
- SCHIPP, R. AND MARTIN, A.W. (1987) The Excretory System of *Nautilus*. In: Saunders W. B. and Landman N. H. (eds) *Nautilus - The Biology and Paleobiology of a living Fossil*, 281-304.
- WESTERMANN B. AND SCHIPP R. (1998a) Morphology and histology of the digestive tract of *Nautilus pompilius* L. and *Nautilus macromphalus* Sow. (Cephalopoda, Tetrabranchiata) *Zoomorphology* 117, 237-245.
- WESTERMANN B. AND SCHIPP R. (1998b) Cytological and enzyme-histochemical investigations on the digestive organs of *Nautilus pompilius* (Cephalopoda, Tetrabranchiata) *Cell Tissue Res* 293, 327-336.

Rudolf Schipp, Jahrgang 1938, promovierte nach dem Studium der Biologie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz 1966 am dortigen Institut für Physiologische Zoologie. Nach mehrjähriger Tätigkeit als wissenschaftlicher Assistent erfolgte seine Ernennung zum Professor für Zoologie am Institut für Allgemeine und Spezielle Zoologie der Justus-Liebig-Universität Gießen. Seit 1969 konzentriert sich seine wissenschaftliche Arbeit vornehmlich auf die Erforschung der Biologie der Tintenfische. Schwerpunkte bilden zellbiologische und physiologische Untersuchungen vegetativer Organsysteme, besonders des Kreislauf- und Exkretionssystems. Zahlreiche Forschungsaufenthalte führten ihn und seine Mitarbeiter im Rahmen von DFG- und DAAD-geförderten Projekten an meeresbiologische Laboratorien in Neapel, Arcachon, Banyuls-sur-mer, Nouméa (Neukaledonien) und Hawaii, Aufenthalte, die vielfach von wissenschaftlichen Kooperationen mit Kollegen in Frankreich, USA und Kanada getragen waren und vielen Gießener Studenten und Studentinnen über die Tintenfischforschung auch Wege zu wertvollen Auslandserfahrungen eröffneten.



Abb. 15: Nach Aufarbeitung der Daten konnte der Magendarmtrakt vom lebenden *Nautilus* dreidimensional dargestellt werden. a und b. Der Blick von oben auf das Tier. c und d. Seitliche Ansichten. Enddarmschlinge (E). Kropf (K), Magen (M), mit Kalk gefüllte Nierenorgane (R), Schnabel (S).