

Fischvermittelte induzierbare Verteidigungen in *Daphnia* spp. – Identifikation des Kairomons und Effekte auf Physiologie, Verhalten und Morphologie

von Meike Hahn

Zusammenfassung

In Stillgewässern kommt herbivorem Zooplankton des Genus *Daphnia* eine entscheidende Rolle durch die Verbindung von Trophieebenen zu: Die Zooplankter konsumieren Phytoplankton und werden wiederum von planktivorem Zooplankton konsumiert. Im Kontext von Prädation sind Effekte auf die Beute, ausgenommen des konsumierenden Effekts selbst, in den Fokus gerückt. In Daphnien umfassen diese Effekte Verteidigungen, die durch chemische Signalstoffe des Räubers induziert werden, sogenannte Kairomone. Daphnien zeigen verschiedene Verteidigungen, die sie vor Prädation schützen, wie morphologische Veränderungen, Veränderungen der Life History und des Verhaltens. *D. lumholtzi* hat sich über die letzten Jahrzehnte hinweg in großen Teilen Nordamerikas als invasive Art etabliert. Der Invasionserfolg wurde mit den morphologischen Verteidigungsmechanismen von *D. lumholtzi* in Verbindung gebracht, die als Antwort auf Fischkairomone exprimiert werden. Verlängerte Helme und Spinae schützen die invasive Art vor Prädation durch Fische. Obwohl Kairomone der chemische Schlüssel zu jenen und weiteren ökologisch relevanten induzierbaren Verteidigungen in *Daphnia* spp. sind, wurden bisher nur wenige Kairomone identifiziert. Keines der bisher identifizierten Kairomone, wird von Fischen exsudiert.

Ziel dieser Dissertation war es, fischbürtige Kairomone zu identifizieren, die Verteidigungen in *Daphnia* spp. induzieren. Daphnien, insbesondere große Individuen, führen in Gegenwart von Fischen eine sich täglich wiederholende Vertikalwanderung (DVM) aus. Diese Räuber-Vermeidungsstrategie zeichnet sich durch Migrationen durch die Wassersäule aus, die sich in einem täglichen Rhythmus wiederholen und die dazu führen, dass sich die Tiere tagsüber im dunkleren und kälteren Hypolimnion aufhalten, wo sie vor visuell orientierten Räubern geschützt sind. Nachts kehren sie ins Epilimnion zurück, profitieren von höheren Temperaturen und einer höheren Verfügbarkeit an Futter. Obwohl DVM mit dem Vorteil reduzierter Prädation einhergeht, entstehen wandernden Daphnien metabolische Kosten aufgrund von niedrigeren erlebten Umgebungstemperaturen. Unter verminderten Temperaturen weisen Daphnien vergleichsweise höhere Konzentrationen an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFAs) auf,

die die Membranfluidität der poikilothermen Tiere stabilisieren. Jene Membrananpassungen werden als *homeoviscous adaptation* verstanden. Die Verfügbarkeit von essenziellen PUFAs wie Eikosapentaensäure (EPA) limitiert das Wachstum und die Reproduktion von Daphnien, insbesondere bei niedrigen Temperaturen. EPA limitiert die DVM-Amplitude und die Reproduktion bei wechselnden und durchschnittlich verminderten Temperaturen, die während DVM erlebt werden.

In den Studien dieser Dissertation, habe ich untersucht, wie DVM-assoziierte Faktoren die Fettsäure-Profile von *Daphnia magna* und die ihrer Nachkommen beeinflussen. In einem experimentellen Design mit vollständigem Versuchsplan, habe ich den kombinierten Einfluss der abiotischen Faktoren Licht und Temperatur (simulierte DVM) und erstmals auch den Effekt des Signals Fisch beleuchtet. Relative Gewebekonzentrationen von Fettsäuren wurden mittels Gaschromatographie und Flammenionisierungsdetektion ermittelt und, was zeigte, dass simulierte DVM zu einer erhöhten transgenerationalen Allokation von EPA führt. Die Allokation hat sich als erhöhte EPA-Konzentration in den Nachkommen auf Kosten der EPA-Konzentration in den Muttertieren manifestiert. Simulierte DVM in Verbindung mit dem Fischsignal beeinflusst die Fettsäureverteilung der nachkommenden Generation ebenfalls. Dies führt zu erhöhten relativen Gewebekonzentrationen von EPA in den Nachkommen, die keine simulierte DVM erleben. Diese Ergebnisse implizieren, dass Nachkommen von *D. magna* sich an anhaltende DVM durch eine transgenerationale Allokation von Ressourcen anpassen, die sie dazu befähigt, Vertikalwanderung mit hoher Amplitude zu vollziehen. Die Limitierung von Fettsäuren kann daher in den Nachkommen weniger bedrohlich sein als in den Muttertieren. Die Beteiligung des Fischsignals an dieser physiologischen Anpassung bestätigt erneut den enormen Einfluss des Signals auf Daphnien.

Obwohl eine Reihe von chemischen Eigenschaften des fischbürtigen Kairomons, das DVM und Life History-Veränderungen induziert, schon durch Untersuchungen von extrahiertem Fischinkubationswasser (EFI) entdeckt wurden, ist seine Identität nicht bekannt. Diese Dissertation hat zum Ziel, das Kairomon zu identifizieren. Ich habe erstmals durch Effekt-dirigierte Fraktionierung von EFI des Rotauges (*Rutilus rutilus*) die chemische Struktur des Kairomons als 5 α -Cyprinolsulfat (CPS) identifiziert. In einem kleinen Versuchsaufbau, habe ich die DVM-induzierende Aktivität des Extrakts einer einzelnen Fraktion zugeordnet, die durch Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) erhalten wurde.

Durch den Einsatz von aus Karpfen-Galle (*Cyprinus carpio*) aufgereinigtem CPS, habe ich demonstriert, dass die identifizierte Substanz in ausreichend hoher Konzentration in EFI

vorliegt, um dessen Kairomon-Aktivität zu erklären. Für die Induktion von DVM wurde eine Schwellenwertkonzentration von 100 pM ermittelt und die Relevanz anderer Gallensalze als Kairomon durch Biotests mit gekauften Gallensalzen ausgeschlossen.

Bis heute gibt es keine Studien zu auf Süßwasser-Metazooplankton wirkende Kairomone, die ihre Relevanz unter natürlichen Bedingungen bestätigen. Um die Rolle von CPS als Kairomon im Feld zu verifizieren, habe ich den Einfluss von CPS auf die vertikale Verteilung einer natürlichen Daphnien-Population in einem Mesokosmen-Versuch in einem mesotrophen See untersucht und begleitend die CPS-Konzentration in den Mesokosmen über die Zeit mittels HPLC-MS ermittelt. Die Ergebnisse zeigen, dass CPS DVM in einer natürlichen Daphnien-Population induziert, obwohl dies erst bei höheren Konzentrationen der Fall ist als in Laborversuchen. *In situ*-Konzentrationen im Seewasser waren hoch genug, um diese Schwellenwertkonzentration zu übersteigen. CPS-Konzentrationen in den Mesokosmen sind über die Zeit gesunken. Dies gibt erste Hinweise auf einen zügigen mikrobiellen Abbau von CPS, der Grundvoraussetzung für einen zuverlässigen chemischen Signalstoff ist.

Basierend auf dem Ergebnis, dass die Gruppe der Gallensalze ein vielversprechender Kandidat auf der Suche nach Fischkairomonen ist, was zwischenzeitlich durch weitere Versuche bestätigt wurde, habe ich die Identifikation des Fischkairomons beabsichtigt, das in der invasiven Spezies *D. lumholtzi* morphologische Verteidigungen induziert. Um das Kairomon zu identifizieren habe ich die identische HPLC-Fraktion von EFI analysiert, indem ich ihre Wirkung auf morphologische Parameter von *D. lumholtzi* untersucht habe. Auf diese Weise konnte ich zeigen, dass CPS die einzige Substanz in EFI ist, die in einer ausreichend hohen Konzentration vorliegt, um morphologische Verteidigungen in *D. lumholtzi* zu induzieren. CPS induzierte ab einer Schwellenwertkonzentration von 120 pM eine erhöhte relative Helmlänge, während seine Wirkung auf die Spinalänge unklar bleibt.

Zusammengefasst wurden in dieser Dissertation transgenerationale physiologische Effekte des Fischsignals und von abiotischen Faktoren auf *D. magna* demonstriert, wobei beide DVM begleiten. Ein Fischkairomon wurde identifiziert sowie seine Relevanz für verschiedene Arten des Genus *Daphnia* und für verschiedene induzierbare Verteidigungen, was auf eine hohe evolutionäre Konservierung des zugrundeliegenden molekularen Mechanismus der Erkennung von Räubern schließen lässt. Die Identifikation des Kairomons erlaubt die Durchführung von standardisierten Versuchen und Untersuchungen von Kairomon-Dynamiken in Gewässern.

