

Diplomarbeit im Fach Biologie  
Universität Bremen, Fachbereich 2  
Bremen



in Kooperation mit dem  
Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung  
Bremerhaven



# **Die physiologische Alterung der Bivalve *Arctica islandica***

Gutachter:  
PD. Dr. Doris Abele  
Prof. Dr. Wilhelm Hagen

Praktische Betreuung:  
Dr. Eva Philipp  
Dr. habil. Thomas Brey

vorgelegt von:  
Julia Strahl

Bremen, Februar 2006





Inhaltsverzeichnis	Seite
<b>Verwendete Abkürzungen</b>	
<b>Zusammenfassung</b>	
<b>1. Einleitung</b>	
1.1 Der Prozess der Alterung	1
1.2 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und ihre Entstehung	1
1.3 Oxidative Schädigung der Zelle durch ROS, Proteinoxidation und die Entstehung von Lipofuszin	2
1.4 Das antioxidative Schutzsystem der Zelle	4
1.5 Die langlebige <i>Arctica islandica</i>	5
1.6 Fragestellung	6
<b>2. Material und Methoden</b>	
2.1 Tierbeschaffung, -haltung und Probennahme	9
2.2 Bestimmung des Alters	9
2.3 Untersuchung der physiologischen Parameter	12
2.3.1 Bestimmung der Citratsynthase-Aktivität	13
2.3.2 Bestimmung der Katalase-Aktivität	14
2.3.3 Bestimmung der Superoxiddismutase-Aktivität	15
2.3.4 Bestimmung des Proteingehalts	17
2.3.5 Bestimmung von Glutathiongehalt, pH-Wert und Redoxpotential	18
2.3.6 Bestimmung des Carbonylgruppengehaltes	20
2.4 Histologische Untersuchung der Lipofuszin-Akkumulation im Gewebe	21
2.5 Statistische Auswertung	23
<b>3. Ergebnisse</b>	
3.1 Altersabhängigkeit der Wachstumsrate von <i>Arctica islandica</i>	25
3.2 Altersabhängigkeit der Citratsynthase-Aktivität und der antioxidativen Kapazität	25
3.2.1 Altersabhängigkeit der Citratsynthase-Aktivität	26

3.2.2 Altersabhängigkeit der Katalase-Aktivität	28
3.2.3 Altersabhängigkeit der Superoxiddismutase-Aktivität	31
3.2.4 Extrahierbares Protein im Gewebe mit zunehmendem Alter	32
3.2.5 Glutathiongehalt, pH-Wert und Redoxpotential mit zunehmendem Alter	34
3.3 Altersabhängigkeit von Proteinoxidation und Lipofuszinanreicherung im Gewebe	40
3.3.1 Die Proteinoxidation mit zunehmendem Alter	40
3.3.2 Die Lipofuszin-Akkumulation mit zunehmendem Alter	42
<b>4. Diskussion</b>	
4.1 Ändert sich die mitochondriale Respiration von <i>Arctica islandica</i> mit zunehmendem Alter?	49
4.2 Die antioxidativen Kapazitäten im Gewebe von <i>Arctica islandica</i>	51
4.2.1 Besitzt <i>Arctica islandica</i> als langlebige Art besonders hohe antioxidative Kapazitäten?	51
4.2.2 Kann sich <i>Arctica islandica</i> bis ins hohe Alter vor einer oxidativen Schädigung schützen?	56
4.2.3 Lassen <i>Arctica islandica</i> aus dem Jahr 2004 und 2005 saisonale Unterschiede erkennen?	60
4.2.4 Warum sind die antioxidativen Kapazitäten in der Kieme höher als im Mantel?	61
4.3 Oxidative Schädigung und die Akkumulation von Oxidationsprodukten mit zunehmendem Alter	62
4.3.1 Wird das Gewebe von <i>Arctica islandica</i> mit zunehmendem Alter oxidiert?	62
4.3.2 Warum akkumulieren mit zunehmendem Alter Oxidationsprodukte im Gewebe von <i>Arctica islandica</i> ?	64
<b>5. Literatur</b>	67
<b>Anhang</b>	
<b>Danksagung</b>	
<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	

**Verwendete Abkürzungen**

Abs	Absorption
Aqua dest.	destilliertes Wasser ( <i>aqua destillata</i> )
CS	Citratsynthase
$\text{Cu}^{2+}$	Kupfer
E	Extinktion
<i>et al</i>	und andere ( <i>et alii</i> )
$\text{Fe}^{2+}$	Eisen
Fg	Frischgewicht
g	Erdbeschleunigung
GSH	oxidiertes Glutathion
$\text{GSH}_{\text{ges}}$	Gesamtglutathion
GSSG	reduziertes Glutathion
H	Höhe
$\text{H}^+$	Proton
H&E	Hämatoxylin & Eosin
$\text{H}_2\text{O}$	Wasser
$\text{H}_2\text{O}_2$	Wasserstoffperoxid
$H_t$	Schalenhöhe bei Alter t
k	Wachstumskonstante
K	Kieme
KAT	Katalase
ln	natürlicher Logarithmus
log	10er Logarithmus
LSG	maximale Wachstumsachse ( <i>line of strongest growth</i> )
$\mu$	mikro- ( $10^{-6}$ )
M	Molar
MA	Mantel
MilliQ	entionisiertes Wasser
MLSP	maximale Lebensspanne
MURSYS	Meeresumwelt-Reportssystem
mV	Milivolt
MW	Mittelwert

n	nano- ( $10^9$ ), Anzahl der Versuchstiere
NaCl	Natriumchlorid
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	Superoxidationradikal
·OH	Hydroxylradikal
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
pH <sub>i</sub>	intrazellulärer pH
P <sub>s</sub>	somatische Produktion
r <sup>2</sup>	Korrelationskoeffizient
ROS	Reaktive Sauerstoffkomponenten ( <i>reactive oxygen species</i> )
RP	Redoxpotential
rpm	Umdrehungen pro Minute ( <i>rounds per minute</i> )
SD	Standardabweichung ( <i>standard deviation</i> )
SH-CoA	Komplex zwischen aliphatischer Schwefelgruppe und Coenzym A
SMR	Rate des Standardmetabolismus ( <i>standard metabolic rate</i> )
SOD	Superoxiddismutase
t	Zeit, in VBGF: Alter
U	Unit
VBGF	Von Bertalanffy Wachstumsfunktion ( <i>Von Bertalanffy growth function</i> )
w/v	Gewicht pro Volumen ( <i>weight/volume</i> )
XOD	Xanthinoxidase



## Zusammenfassung

*Arctica islandica* weist mit einem bisher berichteten maximalen Alter von 374 Jahren eine der längsten maximalen Lebensspannen (MLSP) aller bisher untersuchten Mollusken auf. In Mantel und Kieme im August 2004 und im Mai 2005 nordöstlich von Island gefischter *A. islandica* wurden die zugrunde liegenden physiologischen Mechanismen ihrer Langlebigkeit untersucht, im Hinblick auf den Einfluss reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) auf den Alterungsprozess. Dabei wurden in den Geweben 5 bis 192 Jahre alter Tiere die Mitochondriendichte anhand der Citratsynthase (CS)-Aktivität, Parameter des antioxidativen Schutzsystems (Superoxiddismutase, Katalase, Glutathion) und die Akkumulation von Oxidationsprodukten (Lipofuszin, Proteincarbonyle) in den Geweben altersabhängig untersucht.

Die Probenahmen aus den beiden Jahren unterschieden sich bezüglich der Jahreszeit (2004 Sommer / 2005 Frühling) und der Altersgruppen. Im Jahr 2004 wurden hauptsächlich mittlere Altersgruppen gesammelt (6-80 Jahre) und in einer zweiten Expedition im Jahr 2005 wurden verstärkt jüngere und ältere Tiere (5-8 und 110-192 Jahre) gesammelt.

*Arctica islandica* besitzt eine höhere protein-spezifische CS-Aktivität und damit möglicherweise eine höhere Mitochondriendichte als bisher untersuchte Muschelarten. Sie hält eine stabile mitochondriale Kapazität, gemessen als CS-Aktivität, bis zum maximal untersuchten Alter von 110 bis 192 Jahren aufrecht, wobei der Mantel höhere CS-Aktivitäten als die Kieme aufwies.

Das Mantelgewebe von *A. islandica* wies vergleichbare antioxidative Kapazitäten (AOX) wie andere Mollusken auf, während in der Kieme höhere AOX gefunden wurden. Im Vergleich der Gewebe von *A. islandica* wies die Kieme signifikant höhere AOX als der Mantel auf.

Der Redoxstatus (GSSG:GSH) war in der Kieme insgesamt oxidiert als im Mantel. Auslöser hierfür könnten höhere ROS-Bildungsraten im Kiemen- und Mantelgewebe sein, bedingt durch den unmittelbaren Kontakt des Kiemengewebes mit Schadstoffen und hohen Sauerstoffkonzentrationen aus dem Umgebungsmedium.

Im Laufe der Alterung blieb die Katalase (KAT)-Aktivität in beiden Geweben konstant. Der Gesamtglutathiongehalt ( $\text{GSH}_{\text{ges}}$ ) in Mantel und Kieme der Tiere nahm hingegen bis zum achten Lebensjahr und der Superoxiddismutase (SOD)-Aktivität im Mantel bis zum sechzigsten Lebensjahr deutlich ab. Dies deutet jedoch eher auf einen Wachstums-, als auf einen Alterseffekt hin. Beide Parameter zeigten in den darauf folgenden Jahren bis zum maximal untersuchten Alter der Versuchstiere (110-192 Jahre) stabile Werte in den Gewe-

ben. In der Kieme blieb der Redoxstatus mit zunehmendem Alter konstant, das Mantelgewebe älterer Tiere zeigte eine zunehmende Reduktion des Redoxstatus.

Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, dass die hohen antioxidativen Kapazitäten in der Kieme und ein mit zunehmendem Alter stabiler antioxidativer Schutz in Mantel und Kieme im Laufe der Alterung die Langlebigkeit von *A. islandica* begünstigen könnten. Die altersbedingten Veränderungen des Redoxstatus und der SOD-Aktivität im Mantel und ein abnehmender intrazellulärer pH ( $\text{pH}_i$ ) in Mantel und Kieme deuten darauf hin, dass sich die Stoffwechselrate und die ROS-Bildungsrate im Gewebe von *A. islandica* mit dem Alter verringern. Das Gewebe von *A. islandica* wird durch diese zellulären Mechanismen weniger oxidativ geschädigt (Proteincarbonyle) als in vergleichbaren Arten mit geringeren AOX. Dadurch könnte der Alterungsprozess in *A. islandica* verlangsamt und die MLSP verlängert werden.

Lipofuszinablagerungen wurden im Bindegewebe und in den Epithelzellen von Mantel und Kieme gefunden, nicht aber im Schließmuskel der Tiere. Die Akkumulation von Lipofuszingranula im Gewebe kann Zellprozesse beeinflussen und die Alterung beschleunigen. Im Gegensatz dazu sind in Mantel und Kieme mit zunehmendem Alter unveränderte Proteincarbonylgehalte zu finden. Dies und die konstanten CS-Aktivitäten sprechen dafür, dass *A. islandica* ihre Proteine bis in das maximal untersuchte Alter vor einer Oxidation und die Enzyme vor einem Aktivitätsverlust schützen kann.

## 1. Einleitung

### 1.1 Der Prozess der Alterung

Der Prozess der zellulären Alterung ist auf eukariotische Organismen beschränkt und kann auf molekularer Ebene, in Geweben, Organen und auf der Ganztierebene beobachtet werden. Die Veränderungen von physiologischen Prozessen und Funktionen während der Alterung führen zu einer ständigen Abnahme der Überlebenswahrscheinlichkeit und schließlich zum Tod eines Organismus (Wong 2001; Schmidt et al. 2005). Die Ausprägung und die Geschwindigkeit dieser Veränderungen sind artspezifisch und induzieren stark voneinander abweichende maximale Lebensspannen (MLSP) in Individuen (Ku und Sohal 1993; Sohal 2002; Philipp 2005). Der Prozess der Alterung in eukariotischen Organismen wurde und wird gegenwärtig immer noch vielfältig untersucht. Ein zentraler Mechanismus des Alterns wurde bis heute nicht gefunden und es besteht die weitgehend akzeptierte Annahme, dass Altern multifaktoriell bedingt ist (Schmidt et al. 2005).

Neben der genetischen Determination des maximalen Lebensalters, der intrinsischen Alterung, beeinflussen die ökologischen Bedingungen des Lebensraums die Lebensspanne eines Organismus (Busse 1987). Beispielsweise zeigen ektotherme Arten aus permanent kalten Gewässern der Arktis und Antarktis einen Anstieg der MLSP im Vergleich zu Arten mit ähnlicher Lebensweise aus wärmeren Gewässern (Brey 1991; Brey et al. 1995). Nach der „Free Radical-Rate of Living theory“ (Pearl 1928; Harman 1956) besteht eine negative Korrelation zwischen der Rate des Standardmetabolismus (standard metabolic rate SMR) und der MLSP eines Organismus, denn eine erhöhte SMR geht mit der erhöhten mitochondrialen Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) einher (Ku und Sohal 1993).

### 1.2 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) und ihre Entstehung

Nach der „Free Radical-Rate of Living theory“ (Pearl 1928; Harman 1956), besteht ein Zusammenhang zwischen der Bildungsrate von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) während der aeroben Atmung und der zellulären und organismischen Alterung eukariotischer Organismen (Ku und Sohal 1993).

ROS sind reaktive Sauerstoffderivate, wie Superoxidationradikale ( $O_2^{\cdot-}$ ), Wasserstoffperoxide ( $H_2O_2$ ) und hoch reaktive Hydroxylradikale ( $\cdot OH$ ), welche durch die Reaktion mit anderen Molekülen in eine stabilere, nicht-radikalische Form des Sauerstoffs überführt werden. Superoxidationradikale werden durch die Übertragung eines einzelnen Elektrons

auf Sauerstoff gebildet und können nicht durch Membranen diffundieren (Leibovitz und Siegel 1980). Mit Hilfe der Superoxiddismutase (SOD) wird  $O_2^{\cdot-}$  in  $H_2O_2$  umgewandelt (Fridovich 1978). Wasserstoffperoxide sind stabiler als Superoxidationradikale und können durch Membranen diffundieren, wodurch sie ebenfalls in einiger Entfernung zu ihrem Entstehungsort reagieren können. In Anwesenheit von zweiwertigem Eisen ( $Fe^{2+}$ ) wird  $H_2O_2$  in der Fenton-Reaktion in  $\cdot OH$  umgewandelt (Halliwell und Gutteridge 1984). Hydroxylradikale sind sehr reaktiv und greifen direkt die umgebenden Moleküle an (Leibovitz und Siegel 1980; Brunk und Terman 2002a).

Zahlreiche Untersuchungen identifizieren die mitochondriale Respiration als eine der wichtigsten Quellen für die Entstehung von ROS (Leibovitz und Siegel 1980; Staniek und Nohl 2000; Nohl et al. 2004). Durch zwei Eigenschaften wird die Bildung von ROS in den Mitochondrien begünstigt: Die mitochondriale Elektronentransportkette besitzt die höchste Dichte kooperativer Enzyme, die mit einem Eisen oder Kupfermolekül in ihrem aktiven Zentrum ausgestattet sind und bevorzugt die Übertragung eines einzelnen Elektrons katalysieren. Zudem findet in den Mitochondrien nachweislich 80-90 % des Gewebe-Sauerstoffumsatzes statt (Brand et al. 1994; Staniek und Nohl 2000; Nohl et al. 2004). Durch Versuche an isolierten Mitochondrien wurden in der Elektronentransportkette, welche in der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert ist, die Komplexe I und III als Quelle für  $O_2^{\cdot-}$  identifiziert (Herrero und Barja 1997). Dabei werden während der oxidativen Phosphorylierung zwischen 1 bis 2 % des gesamt veratmeten Sauerstoffs in  $O_2^{\cdot-}$  umgewandelt (Abele et al. in prep.). Die mitochondriale SOD katalysiert anschließend die Bildung des stabileren  $H_2O_2$ , welches als Indikator für die Entstehung von ROS verwendet wird (Nohl et al. 2004).

Das Enzym Citratsynthase (CS) ist als wichtiges Enzym des Citratzyklus in der Matrix der inneren Mitochondrienmembran lokalisiert und katalysiert die Umwandlung von Acetyl-CoA und Oxalacetat in Citrat. Dieses Enzym kann als Markerenzym für die Mitochondrienkapazität in der Zelle verwendet werden (Sukhotin und Pörtner 2001; Lucassen et al. 2003).

### **1.3 Oxidative Schädigung der Zelle durch ROS, Proteinoxidation und die Entstehung von Lipofuszin**

Sauerstoffradikale können die Zelle durch die Oxidation von Proteinen, Lipiden und Nucleinsäuren auf vielfältige Weise schädigen und so den Prozess der Zellalterung beschleunigen (Sohal 1984; Manduzio et al. 2005). Die Mitochondrien sind als Entstehungsort

gleichzeitig direkter Ort der Schädigung, was zu einer verminderten mitochondrialen Energieproduktion und erhöhten ROS-Produktionsraten in geschädigten Mitochondrien führen kann (Harman 1956; Brunk und Terman 2002a; Philipp 2005).

Gut untersucht ist die Lipidperoxidation, welche meist auf der Oxidation von Lipiden mit konjugierter Doppelbindung durch Hydroxylradikale ( $\cdot\text{OH}$ ) beruht und Kettenreaktionen hervorrufen kann. Zunächst entstehen Alkoxyl- ( $\text{RO}\cdot$ ) oder Peroxyl-Radikale ( $\text{ROO}\cdot$ ), anschließend Aldehyde wie Malondialdehyd (MDA), welche mit ungesättigten Lipiden oder Proteinen reagieren können (Leibovitz und Siegel 1980).

Durch einen oxidativen Angriff werden Proteine modifiziert und verlieren ihre katalytischen Funktionen, wodurch der Zelle wichtige biochemische Funktionen verloren gehen (Sohal 2002). Eine Proteinoxidation wird meist von Hydroxylradikalen ausgelöst. Durch die Oxidation von Lysin-, Arginin-, Prolin- und Threoninresten oder die Reaktion von Proteinen mit Aldehyden, den Produkten der Lipidperoxidation, entstehen Proteincarbonyle, welche mit Hilfe unterschiedlicher Methoden im Gewebe nachweisbar sind. Die Konzentration von Proteincarbonylen ergibt sich aus der Balance zwischen Proteinoxidation und deren Abbaurate durch die Proteasen (Berlett und Stadtman 1997). Ist diese Balance mit zunehmendem Alter nicht mehr gegeben, findet in Vertebraten und Evertrebraten eine vermehrte Akkumulation von Proteinoxidationsprodukten statt (Sohal 2002; Philipp et al. 2005a).

Die Lipidperoxidation führt ebenfalls zu der Akkumulation von nicht abbaubaren Makromolekülen in unterschiedlichen Zellkompartimenten, vornehmlich in Lysosomen. Dabei entstehen durch die Reaktion von Malondialdehyd mit Proteinen, Phospholipiden und Nukleinsäuren extrem große fluoreszente Lipofuszingranula, die auch als Alterspigmente bezeichnet werden (Sohal 1984; Pamplona et al. 1998; Zielinski und Pörtner 2000; Brunk und Terman 2002a). Es ist umstritten, ob die Ablagerung von Alterspigmenten den Zellstoffwechsel beeinträchtigt. Nach (Brunk und Terman 2002a) behindert die Lipofuszin-Akkumulation mit zunehmendem Alter die Diffusion von Sauerstoff und Nährstoffen und spielt in dem Prozess der Alterung eine wichtige Rolle. Lipofuszin kann nicht wie andere „Abfallmoleküle“ aus der Zelle entfernt werden und stört mit zunehmender Akkumulation die Abbauprozesse in den Lysosomen sowie die Fähigkeit zur Autophagozytose und damit einen generellen Reparaturmechanismus der Zelle (Brunk und Terman 2002a).

#### 1.4 Das antioxidative Schutzsystem der Zelle

Als Schutz vor oxidativer Schädigung durch ROS besitzt die Zelle ein komplexes antioxidatives Schutzsystem, bestehend aus Radikalfängern wie Glutathion, Vitamin C und E und antioxidativen Enzymen wie Superoxidismutase (SOD) und Katalase (KAT) (Leibovitz und Siegel 1980; Sohal 1984; Yu 1994; Viarengo et al. 1995; Doyotte et al. 1997; Gorbi und Regoli 2003). Die Antioxidantien sind unterschiedlich verteilt und ergänzen sich gegenseitig bei der Abwehr von oxidativem Stress im Gewebe (Banerjee et al. 2003). Die Entstehung von ROS wird durch das antioxidative Schutzsystem nicht verhindert, vielmehr werden die während des Metabolismus entstehenden Sauerstoffradikale abgebaut oder abgefangen und so wichtige Zellfunktionen erhalten (Gorbi und Regoli 2003). Die akute Entstehung von ROS kann nachweislich eine verstärkte SOD- und KAT-Aktivität sowie einen höheren Glutathiongehalt in der Zelle induzieren (Arun und Subramanian 1998; Banerjee et al. 2003). Superoxiddismutase ist in den Mitochondrien, den Lysosomen, Peroxisomen und im Zytoplasma zu finden und katalysiert die Reaktion:  $O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} \Rightarrow H_2O_2 + O_2$  (Fridovich 1978). Das Enzym verhindert die Bildung von freien Sauerstoffradikalen und schützt die Zelle bereits am Entstehungsort von ROS vor einem oxidativen Angriff (Leibovitz und Siegel 1980; Yu 1994). Anschließend baut Katalase  $H_2O_2$  in  $H_2O$  und  $O_2$  ab (Angel et al. 1999). Das Enzym ist vor allem im Zytoplasma lokalisiert (Yu 1994).

Glutathion ist ein Tripeptid mit einer Sulfhydrylgruppe und hat mehrere wichtige Funktionen in der Zelle. Es kann in der reduzierten Thiolform (GSH) oder in der oxidierten Form (GSSG) vorliegen, in der zwei Tripeptide über eine Disulfidbrücke miteinander verknüpft sind (Stryer et al. 2003). Das reduzierte GSH ( $\gamma$ -Glutamyl-Cysteinyl-Glycin) ist in hohen Konzentrationen in der Zelle zu finden. Es reduziert mit Hilfe des Enzyms Glutathionperoxidase (GPX) Wasserstoffperoxide und organische Peroxide. GSH reagiert mit ROS und neutralisiert damit vor allem das hoch reaktive Hydroxylradikal (Banerjee et al. 2003). Dabei wird GSH zu GSSG oxidiert und hält so als Antioxidans den reduzierten Zustand der Zelle, Enzymfunktionen und den Stoffwechsel der Zelle aufrecht. Das Redoxpaar GSSG:GSH ist häufig in der Zelle zu finden und wird als Indikator für den Redoxstatus der Zelle verwendet (Schafer und Buettner 2001; Philipp 2005). Ein niedriges GSSG:GSH-Verhältnis weist auf einen hohen Anteil der reduzierten GSH-Form und eine niedrige Oxidationsrate hin. Dies kann durch geringe ROS-Bildungsraten oder eine hohe Aktivität des Enzyms Glutathionreduktase (GR) bedingt sein (Philipp et al. 2005a). Da das antioxidative Schutzsystem einer oxidativen Schädigung entgegen wirkt, wird die MLSP eines Organis-

mus möglicherweise von der Balance zwischen ROS-Produktion und antioxidativem Schutz beeinflusst (Sohal 1984; Miquel 1998).

### 1.5 Die langlebige *Arctica islandica*

*Arctica islandica* ist eine auf beiden Seiten des Nordatlantiks häufig dokumentierte Muschelart. Entlang des europäischen Kontinents schließt ihr Verbreitungsgebiet den Englischen Kanal, die Irische See und die Nordsee ein (Rowell et al. 1990; Witbaard und Bergman 2003). *Arctica islandica* ist in der Barents See, im Weißen Meer (Rowell et al. 1990) sowie in den Gewässern um Dänemark, Norwegen und Schweden (Petersen 1915) bis in die Kieler Bucht (Brey et al. 1990) zu finden. Entlang des amerikanischen Kontinents wurden Bestände zwischen dem südlichen Cape Hatteras bis nach Neufundland dokumentiert (Merrill und Ropes 1969; Rowell und Chaisson 1983). Dichte Populationen sind in den Gewässern um Island mit einer jährlichen Temperaturspanne von 3-10 °C im Oberflächenwasser zu finden ([www.hafro.is/Sjora](http://www.hafro.is/Sjora)). Um die Nordseite der Insel ist *A. islandica*, neben verschiedenen Schlangensterne (Ophiuroidea), eine der häufigsten in der Sedimentoberfläche zu findende Art der Makrofauna (Ragnarsson und Thórarinsdottir 2002). *Arctica islandica* wurden in Tiefen von 14 bis 82 m gefunden, in einzelnen Fällen sogar unterhalb von 200 m (Holmes et al. 2003) bis in Tiefen von 482 m (Nicol 1951). Am häufigsten befinden sie sich jedoch in einem Bereich zwischen 25 und 61 m Wassertiefe (Merrill und Ropes 1969). Die Tiere leben eingegraben direkt unterhalb der Sedimentoberfläche in feinkörnigem Sediment (Rowell und Chaisson 1983) bis hin zu grobem Sand oder Kies (Thorarinsdottir und Einarsson 1996) Sie gehören zu den Suspensionsfressern und filtrieren mit Hilfe ihrer relativ kurzen Siphone Phytoplankton und organische Partikel aus der Wassersäule. *Arctica islandica* wächst sehr langsam. Das Wachstum findet hauptsächlich im Frühjahr und Sommer zwischen den Reproduktionsphasen statt. Dabei bilden sich Jahresringe, die das jährliche Wachstum der Tiere dokumentieren (Jones 1980; Thompson et al. 1980; Schöne et al. 2005). Untersuchungen an den Schalen der Tiere konnten für einzelne Individuen eine Lebensspanne von 225 Jahren (Ropes und Murawski 1983) bis hin zu 374 Jahren (Schöne et al. 2005) und damit eine extreme Langlebigkeit der Art nachweisen.

Aus Untersuchungen von Taylor (1976) geht hervor, dass sich *A. islandica* in unregelmäßigen Abständen mehrere Zentimeter tief in das Sediment eingräbt. Während dieser Zeit können die Tiere kein Wasser über die Siphone in ihre Mantelhöhle aufnehmen, was zu einer Abnahme der Sauerstoffkonzentration im Mantelwasser führt. Aufgrund Ihrer Oxy-

konformität wird damit eine „selbst-induzierte“ Stoffwechselreduktion herbeigeführt (Taylor 1976). Die Dauer der hypometabolischen Perioden ist selbst für ein Individuum variabel, liegt jedoch zwischen ein und sieben Tagen. Einmal eingegraben, verändert sich die Herzschlagrate der Tiere und kann nach mehr als 24 Stunden auf 10 % des normoxen Frequenzwertes absinken (Taylor 1976). Oeschger (1990) konnte nachweisen, dass die Tiere ihre Stoffwechselrate nach einigen Tagen auf 40 % absenken und unter anhaltender experimenteller Hypoxie auf weniger als 1 % des aeroben Wertes reduzieren. Es konnte weder eine saisonalen Abhängigkeit noch ein äußerer auslösender Faktor für das Eingrabverhalten festgestellt werden. Da *A. islandica* in mehreren Zentimetern Tiefe vor Seesternen oder anderen Fressfeinden geschützt ist, kombinieren die Tiere möglicherweise ein vermindertes Prädationsrisiko mit dem Herunterfahren ihres aeroben Stoffwechsels und dem Einsparen von Energiereserven (Taylor 1976). Da bei reduziertem O<sub>2</sub>-Umsatz weniger ROS entstehen, könnte dies ein Grund für die extreme Langlebigkeit von *A. islandica* sein.

## 1.6 Fragestellung

Der Prozess der zellulären Alterung mariner Evertebraten, einschließlich verschiedener Muschelarten aus unterschiedlichen Lebensräumen und mit unterschiedlich langen maximalen Lebensspannen (MLSP), wurde bereits untersucht. Die Mechanismen der zellulären Alterung waren in allen Organismen vergleichbar, unterschieden sich jedoch in der Stärke ihrer Ausprägung und im zeitlichen Verlauf (Viarengo et al. 1990; Philipp et al. 2005a; Philipp et al. 2005b). Die aus isländischen Gewässern stammende *A. islandica* weist mit 374 Jahren (Schöne et al. 2005) eine der längsten MLSP aller bisher untersuchten Mollusken auf. In der vorliegenden Arbeit wurden die zugrunde liegenden Mechanismen der Langlebigkeit von *A. islandica* untersucht. Spezielle fragen waren dabei:

- (i) Wie hoch ist die mitochondriale Kapazität in Mantel und Kieme von *A. islandica* und verändert sich die Kapazität mit zunehmendem Alter der Tiere?
- (ii) Wie hoch sind die antioxidativen Kapazitäten von *A. islandica* in Mantel und Kieme? Verändern sich die Kapazitäten von Superoxiddismutase, Katalase und Glutathion mit zunehmendem Alter?
- (iii) Sind in den Geweben von *A. islandica* altersabhängige oxidative Schädigungen und Akkumulationen von Oxidationsprodukten wie Proteincarbonyle und Lipofuszin zu erkennen oder kann diese langlebige Art die Bildung von Alterspigmenten verhindern?



(iii) Besteht ein Zusammenhang zwischen der Aktivität des antioxidativen Schutzsystems, der oxidativen Schädigung und der mitochondrialen Kapazität im Gewebe von *A. islandica* mit zunehmendem Alter? Lassen sich Rückschlüsse auf die besondere Langlebigkeit dieser Art ziehen?



## 2 Material und Methoden

### 2.1 Tierbeschaffung, -hälterung und Probennahme

Alle untersuchten *Arctica islandica* stammen aus dem Nordatlantik nordöstlich von Island. Sie wurden im August 2004 (N 66° 02,6' - W 14° 48,8', Wassertemperatur 9 °C, Wassertiefe 22 m) mit einer hydraulischen Dredge und im Mai 2005 (N 66° 01,5' - W 14° 50,9', Wassertemperatur 3-4 °C, Wassertiefe 14 m) mit Hilfe einer kleineren mechanischen Dredge gefischt. Dabei wurden im August 2004 Tiere aller vorhandenen Größen- und Gewichtsklassen (32 bis 92 mm Höhe, 12 bis 260 g Gesamtgewicht) gesammelt, während im Mai 2005 besonders kleine (ab 18 mm Höhe, 3 g Gesamtgewicht) sowie große und schwere (bis 99 mm Höhe, 345 g Gesamtgewicht) Individuen ausgewählt wurden.

Die Tiere wurden in Kühlboxen, eingehüllt in feuchte Tücher, in das Meeresbiologische Zentrum Sandgerdi (Island) transportiert und dort zur Akklimatisierung sieben Tage lang in 400 l-Becken ohne Sediment und Futter gehältert. Die Becken waren an ein Durchflusssystem mit natürlichem Seewasser bei einer konstanten Temperatur von 9 °C und einer den *in situ*-Bedingungen entsprechenden Salinität von 34,9 ‰ angeschlossen. Wenige Sekunden vor der Präparation wurden die Tiere mit Schale gewogen und vermessen. Anschließend wurden Gewebeproben des Mantels und der Kieme entnommen und mit Hilfe einer Freeze clamp in flüssigem Stickstoff eingefroren. Während der Präparation eines Individuums wurde zusätzlich zum Gesamtgewicht das Gewicht einzelner Organe bestimmt. Danach wurden die nummerierten Schalen der Tiere gesäubert, getrocknet und gewogen. Die eingefrorenen Gewebeproben des Mantels und der Kieme wurden teils in flüssigem Stickstoff (-196 °C), teils auf Trockeneis (-78 °C) gelagert und zusammen mit den Muschelschalen in das Alfred-Wegener-Institut nach Bremerhaven transportiert.

### 2.2 Bestimmung des Alters

Die Schale von *A. islandica* wächst in jährlichen Zyklen, mit hohen Zuwachsraten im Frühjahr bis Sommer und sehr geringen Zuwachsraten im Herbst und Winter, bedingt durch eine Wachstumspause (Jones 1980; Thompson et al. 1980; Schöne et al. 2005). In Präparationen von Schalenquerschnitten wird ein Muster von Wachstumsbändern sichtbar, von denen jedes einem jährlichen Inkrement entspricht (Jones 1980; Ropes et al. 1984). Die Inkremente werden optisch von Jahreswachstumslinien getrennt, die durch die winterliche Wachstumspause entstehen und sich in ihrer Mikrostruktur und Dichte von den Wachstumsbändern unterscheiden (Ropes et al. 1984). Diese Unterschiede beruhen auf

Veränderungen von Umweltbedingungen wie Temperatur, Salinität, Sauerstoff- und Nahrungsverfügbarkeit oder auf inneren Faktoren wie Reproduktion (Thompson et al. 1980; Brey und Mackensen 1997; Schöne et al. 2005). Anhand dieser Jahreswachstumslinien wurde das individuelle Alter aller Versuchstiere nach der Methode von Mutvei et al. (1994) und Schöne et al. (2004) bestimmt. Die linke Muschelschale der Tiere wurde mit Wasser gereinigt, von noch vorhandenen Weichteilen befreit und in Epoxidharz (Bootservice-Behnke, Epoxidharz 300, 100 Teile Harz zu 55 Teilen Härter) eingebettet (Abb. 2.2-1 A). Nach einer Mindestaushärtungszeit von 48 Stunden bei maximal 40 °C wurden die Schalen entlang der Achse des maximalen Wachstums (= line of strongest growth, LSG, Abb.2.2.1 B) mit einer Diamantsäge (Buehler, Isomet-Niedertourensäge), je nach Größe des Präparates mit zwei unterschiedlichen Diamanttrennscheiben (Buehler-Met, Serie 15 LC, Abmessung 102 x 0,30 x 12,7 mm oder 127 x 0,40 x 12,7 mm), durchgesägt. Zur besseren Handhabung beim Schleifen und Polieren wurde das Präparat parallel zur LSG in einem Abstand von 10 mm ein zweites Mal durchgesägt. Im Verlauf der Diplomarbeit wurde die Einbettung der *A. islandica*-Schalen in Kunstharz durch ein verbessertes Verfahren ersetzt, wodurch sich die Bearbeitungszeit insgesamt verkürzte. Dabei wurde zur Stabilisierung der Schalen 2 cm entlang der LSG ein Zwei-Komponenten-Kleber (J-B KWIK Weld, 1 Teil Komponenten Steel zu 1 Teil Härter angerührt) aufgetragen. Nach einer Mindestaushärtungszeit von 12 h wurde das Präparat entlang der LSG sowie parallel dazu in einem Abstand von 4 mm durchgesägt. Anschließend wurde das herausgeschnittene Präparat auf einen Objektträger geklebt. Die 10 mm bzw. 4 mm breiten Schalenpräparate wurden mit Hilfe einer Schleifmaschine (Buehler, Alpha) von grob bis fein geschliffen (Silikon-Karbid-Schleifpapier Buehler-Met II: 400, 1000, 2400 Körner pro Zoll) und poliert (Diamantpolierlösung Buehler, Metadi Supreme: 0,1 und 0,05 QGµm). Anschließend wurden die Schnitte für 10 bis 15 min in ein Ultraschallbad gegeben, getrocknet und mit 100 % Ethanol gesäubert. Die Wachstumslinien wurden unter dem Binokular (Olympus SZX 12, bis 50 x-Vergrößerung) ausgezählt (Abb. 2.2-2 A / B). Schalenpräparate mit schwer erkennbaren oder besonders vielen Wachstumsringen wurden zuvor mit einem Färbe-Ätzverfahren behandelt. Die geschliffenen und polierten Präparate wurden dabei nach gründlicher Reinigung 15 bis 25 min bei 37 bis 40 °C in eine Ätz-Färbelösung (500 ml 1% Essigsäure, 500 ml 25 % Glutaraldehyd, 5 g Alcianblau) gegeben. Dabei laufen gleichzeitig drei Prozesse ab. Zum einen wird das Karbonat der Muschelschale je nach Kristallgröße oder -habitus unterschiedlich schnell weggeätzt. Die organische Matrix wird mit Hilfe des Glutaraldehyds dreidimensional erhalten und getrocknet und so vor dem Kollabieren be-

wahrt. Schließlich werden die Mucopolysaccharide und Glucosamide blau eingefärbt. Da deren Konzentration an den Wachstumslinien höher ist, treten die reliefartig durch die Essigsäure herausgearbeiteten Jahreswachstumslinien deutlich hervor (Abb. 2.2-3 A / B). Die angefärbten Präparate wurden schließlich mit Aqua dest. abgespült und bei Raumtemperatur getrocknet. Durch die Färbung jener Präparate mit schwer erkennbaren oder besonders vielen Jahresringen konnte das Alter aller Versuchstiere bestimmt werden. Einzelne *A. islandica*-Präparate wurden unter einem Binokular mit Kameraaufsatz (Olympus Color-View 1, Auflösung 2048 x 1536 Pixel, Software analysIS DOCU FIVE) digitalisiert (Abb. 2.2-2, 2.2-3).

Um die Beziehung zwischen Schalenhöhe und Alter der untersuchten *A. islandica* zu beschreiben, wurde die Von Bertalanffy Wachstumsfunktion (von Bertalanffy growth function VBGF) verwendet (Brey 2001 [http:// www.awi-bremerhaven.de / Benthic / Ecosystem / FoodWb / Handbook / main.html](http://www.awi-bremerhaven.de/Benthic/Ecosystem/FoodWb/Handbook/main.html) Alfred-Wegener Institute for Polar and Marine Research, Germany).

$$H_t = H_\infty * (1 - e^{-k * (t - t_0)})$$

$H_t$ : Schalenhöhe bei Alter  $t$

$H_\infty$ : errechnete maximale Schalenhöhe

$k$ : Wachstumskonstante

$t_0$ : Alter bei dem die Schalenhöhe theoretisch 0 ist

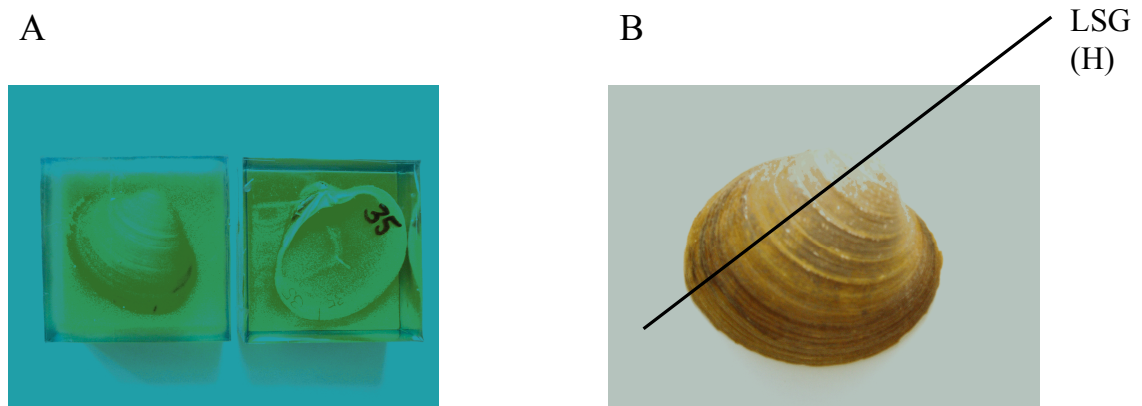


Abb. 2.2-1: A) In Kunstharz eingebettete Schalen von *A. islandica* und B) Achse des maximalen Wachstums („line of strongest growth“ LSG) und Schalenhöhe (H) von *A. islandica*.

A

B

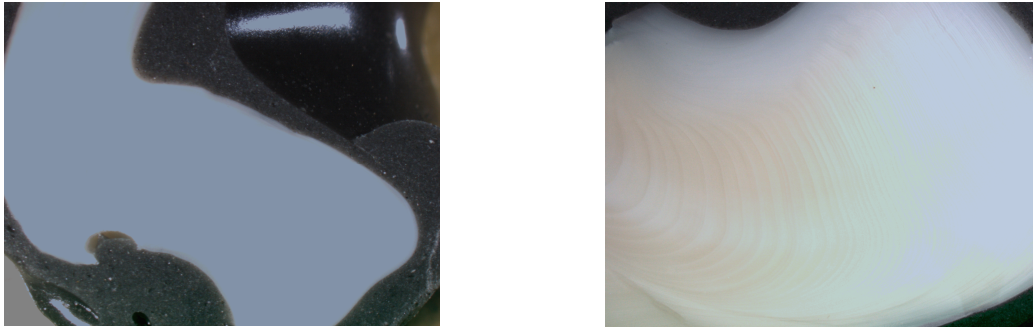


Abb. 2.2-2: Jahresringe von *A. islandica* A) im Umbo, 6 Jahre, Vergrößerung 10 x B) im Umbo, 122 Jahre, Vergrößerung 7 x. Präparate sind jeweils geschliffen und poliert.

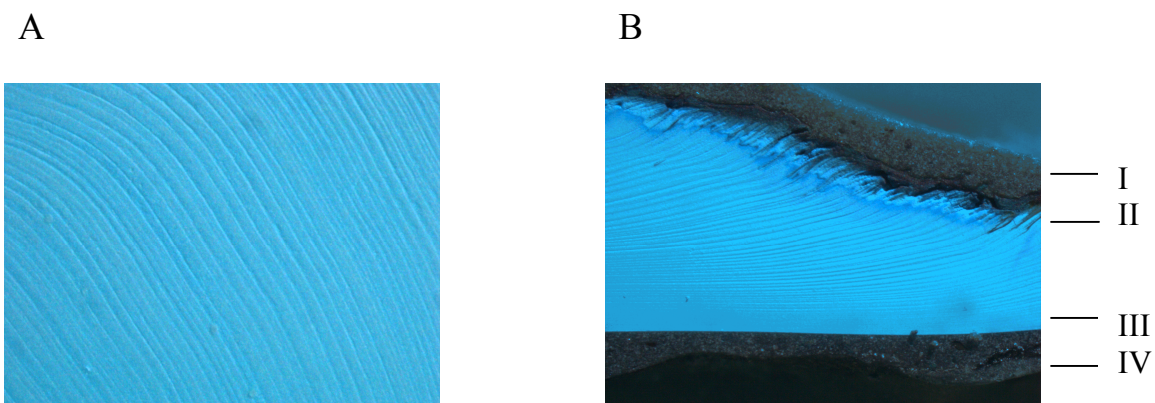


Abb. 2.2-3: Jahresringe einer 150 Jahre alten *A. islandica* A) im Umbo, Vergrößerung 40x B) entlang des äußeren Schalenrands, Vergrößerung 16 x, I / IV = Klebstoff, II = äußerer Schalenrand, III = innerer Schalenrand. Präparate sind jeweils geschliffen, poliert und gefärbt.

### 2.3 Untersuchung der physiologischen Parameter

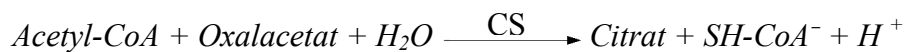
Zur Messung der Enzyme Citratsynthase (CS), Katalase (KAT) und Superoxiddismutase (SOD) und zur Bestimmung des Glutathiongehalts, des intrazellulären pH-Wertes, des Redoxpotentials sowie des Carbonylgruppengehalts wurden jeweils Gewebeproben des Mantels und der Kieme von *A. islandica* verwendet.

Die Enzymaktivitäten von CS und SOD wurden jeweils in Units pro ml Gewebeextrakt ( $U \cdot ml^{-1}$ ) ausgerechnet. Dabei entspricht 1 Unit unter optimalen Bedingungen (pH, Temperatur) einer Enzym-Umsatzrate von  $1 \mu mol$  Substrat pro min. Durch die anschließende Proteinbestimmung nach Bradford konnte die Enzymaktivität umgerechnet und in Units pro mg Protein ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein) angegeben werden.

### 2.3.1 Bestimmung der Citratsynthase-Aktivität (nach Sidell et al. 1987)

Die Aktivitätsbestimmung des Enzyms Citratsynthase (CS) fand bei einer Messtemperatur von 20 °C statt. Zunächst wurden zwischen 30 und 90 mg der bei -80 °C gelagerten Gewebeproben unter flüssigem Stickstoff gemörsert und in ein vorgekühltes 2 ml-Eppendorfgefäß eingewogen. Um eine möglichst quantitative Extraktion zu gewährleisten, wurden unterschiedliche Verdünnungen der Probe getestet. Schließlich wurde die Probe in einem Verhältnis von 1:10 (w/v) mit Homogenisationspuffer (20 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 0,1 % Tween 20, pH 7,4) verdünnt, 15 min in ein auf 2 °C vortemperiertes Ultraschallbad (Duty cycle 50 %, Output Control 8) (Branson Sonifier 450, G. Heinemann Ultraschall- und Labortechnik) gegeben und 5 min bei 4 °C und 7400 g zentrifugiert (Eppendorfzentrifuge, Sigma 2-16 K). Der Überstand wurde abgenommen und bis zur Messung auf Eis gelagert.

Citratsynthase ist in der mitochondrialen Matrix lokalisiert und dient deswegen als Markerenzym für Mitochondrien. Im Citratzyklus katalysiert das Enzym die Reaktion:



DTNB bildet mit der aliphatischen Schwefelgruppe (SH-CoA<sup>-</sup>) einen Farbkomplex, welcher bei 412 nm absorbiert. Anhand der Absorptionzunahme kann daher die Substratumsetzung gemessen werden (Sidell et al. 1987). Zur Messung der CS-Enzymaktivität wurde ein Spektralphotometer (Beckman Coulter, UV-DU 800) verwendet. Für den Messansatz wurden 750 µl Messpuffer (20 mM Tris-HCl, pH 7,4), 50 µl DTNB (5 mM DTNB in Aqua dest. mit wenigen Tropfen KOH gelöst), 20 µl Acetyl-CoA (20 mM Acetyl-CoA in Aqua dest.) und 120 µl Aqua dest. in einer 1,5 ml Halbmikro UV-Küvette gemischt. Es wurden 40 µl Probe hinzu gegeben und nochmals umgerührt. Nach einer Wartezeit von 5 min ist das Oxalacetat der Probe, welches die CS-Messung stört, verbraucht. Vor der eigentlichen Messung wurde die Reaktion der Probe mit DTNB ohne zugegebenes Oxalacetat als Probenblindwert („Vorlauf“) gemessen. Anschließend wurde die Messung durch die Zugabe von 20 µl Oxalacetat (20 mM) bei einem Gesamtvolumen von 1 ml gestartet.

Zunächst wurde der Messwert des Vorlaufs von der insgesamt gemessenen Steigung abgezogen, um anschließend die CS-Aktivität zu berechnen:

$$EA_{CS} = \frac{\left( \left( \frac{\Delta E}{\Delta t} \right) * V_K \right)}{(\epsilon * d * V_P)}$$

d: Schichtdicke der Küvette (cm)

EA<sub>CS</sub>: Enzymaktivität von CS (Units \* ml<sup>-1</sup>)

€: Extinktionskoeffizient des DTNB-SH-CoA-Komplexes  
(13,61 ml \* μmol<sup>-1</sup> \* cm<sup>-1</sup>)

V<sub>K</sub>: Küvettenvolumen (1000 μl)

V<sub>P</sub>: Probenvolumen (μl)

ΔE / Δt: Absorption pro Zeit (Abs. \* min<sup>-1</sup>)

### 2.3.2 Bestimmung der Katalase-Aktivität (nach Aebi 1984)

Die bei -80 °C gelagerten Gewebeproben von *A. islandica* wurden jeweils in flüssigem Stickstoff gemörsert und 20 bis 50 mg des aufbereiteten Materials in ein vorgekühltes 2 ml-Reaktionsgefäß eingewogen. Um eine möglichst quantitative Extraktion zu gewährleisten, wurden unterschiedliche Verdünnungen der Probe getestet. Schließlich wurde das Gewebepulver in einem Verhältnis von 1:30 (w/v) mit Phosphatpuffer (50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7,0 und Zugabe von 1 %iger Triton X-100-Lösung im Verhältnis 1:11) versetzt, für 20 sec mit einem Kunststoffpistill homogenisiert und 15 min bei 4 °C und 13 000 rpm zentrifugiert (Eppendorfzentrifuge, Sigma 2-16 K). Der Überstand wurde abgenommen und auf Eis gelagert. Die Katalase-Aktivität wurde mit Hilfe eines Spektralphotometers (Beckmann, UV-DU 800) bei 240 nm und 20 °C bestimmt. Das Substrat (40 μl 30 %iges H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in 10 ml Messpuffer) wurde jeden Tag frisch angesetzt und auf ca. 1500 Extinktionseinheiten eingestellt. Zur Messung der Enzym-Aktivität in der jeweiligen Probe wurden 20 μl Probe, 630 μl Messpuffer (50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7,0, 20 °C vortemperiert) und 350 μl Substrat in 1,5 ml Halbmikro UV-Küvetten zu einem Gesamtvolumen von 1 ml vermischt.



Die Aktivitätsbestimmung des Enzyms Katalase beruht auf der Umsatzgeschwindigkeit einer definierten Menge Substrat ( $H_2O_2$ ) durch die im Probenüberstand befindliche Katalasemenge:



Dazu wurde die Eigenextinktion der Probe auf „0“ abgeglichen, so dass während der Messung nur die durch den Abbau des Substrats hervorgerufene Extinktionsänderung bestimmt wird. Als Messgröße diente die Zeitspanne, innerhalb der die Extinktion um 0,05 Extinktionseinheiten (E) im Bereich von 0,45 bis 0,40 E abnimmt. In dem verwendeten Konzentrationsbereich des Substrats von 1  $\mu\text{M}$   $H_2O_2$  änderte sich die Umsatzrate proportional zur Enzymmenge. Aus diesem Grund wurde die Enzymaktivität in der Probe über die Umsatzzeit berechnet:

$$EA_{\text{KAT}} = \frac{1}{t} * \ln\left(\frac{E_0}{E}\right) * \left(\frac{585,53}{V_P}\right)$$

$E_0$ : Extinktion zum Zeitpunkt  $t_0$

E:  $E_0 - 0,05$  E

t: Zeit zur Abnahme der Extinktion um 50 E (sec)

$V_P$ : zur Messung eingesetztes Probevolumen (ml)

$EA_{\text{KAT}}$ : Enzymaktivität von Katalase ( $\text{U} * \text{ml}^{-1}$ )

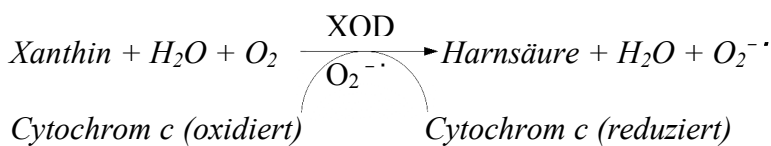
Bei einer Abnahme von 50 E wird eine Substratmenge von 1,15  $\mu\text{mol}$   $H_2O_2/\text{min}$  umgesetzt. Aus diesem Grund wurde, um die definierte Enzymaktivität von 1 Unit/ml als Umsatz von 1  $\mu\text{mol} * \text{min}^{-1} * \text{ml}^{-1}$  zu ermitteln, mit dem Faktor 585,53 multipliziert.

### 2.3.3 Bestimmung der Superoxiddismutase-Aktivität (nach Livingstone et al. 1992)

Zur Aktivitätsbestimmung des Enzyms Superoxiddismutase (SOD) wurden jeweils 25 bis 60 mg der bei  $-80$  °C eingefrorenen Gewebeproben unter flüssigem Stickstoff gemörsert und in einen vorgekühlten Glaspotter überführt. Um eine möglichst quantitative Extraktion zu gewährleisten, wurden unterschiedliche Verdünnungen der Probe getestet. Schließlich wurde Homogenisationspuffer (20 mM Tris-HCL, 1 mM EDTA, pH 7,6) in einem Verhältnis von 1:30 (w/v) zugegeben und das Gemisch auf Eis mit einem Glaspistill homoge-

nisiert (IKA-Werke, Eurostar digital, 300 U/min). Die Probe wurde in ein 2 ml-Reaktionsgefäß überführt und 3 min bei 4 °C und 14 000 rpm zentrifugiert (Eppendorff-zentrifuge, Sigma 2-6K). Anschließend wurde der Überstand abgenommen und auf Eis gelagert. Die SOD-Messung wurde mit Hilfe eines Spektralphotometers (Beckmann, UV-DU 800) bei 20 °C und 550 nm durchgeführt.

Die Aktivität des Enzyms SOD wurde über das Xanthinoxidase (XOD)/ Xanthin-System bestimmt. Innerhalb dieses Reaktionssystems entstehen Superoxidanionradikale ( $O_2^{\cdot-}$ ), welche oxidiertes Cytochrom c reduzieren und dadurch zu einer Extinktionszunahme führen:



Das mit der Gewebeprobe zugesetzte Enzym SOD wandelt die entstehenden  $O_2^{\cdot-}$  in Wasserstoffperoxide ( $H_2O_2$ ) um und verringert damit eine Extinktionszunahme.



Die Reduktionsrate von Cytochrom c durch die freigesetzten Superoxidanionradikale wurde über die Absorptionzunahme vor jeder zweiten Messung eingestellt. Dabei wurden Messpuffer (43 mM K-Phosphat, 0,1 mM EDTA, pH 7,68 Endkonzentration in der Küvette), 10 µl Xanthin (5 mM), 100 µl Cytochrom c (100 µM) sowie etwa 1,8 mU/ml XOD (erster Ansatz 20 µl auf 985 µl 2M  $(NH_4)_2 SO_4$ ) zu einem Gesamtvolumen von 1 ml in der 1,5 ml Halbmikro UV-Küvette vermischt. Über einen Zeitraum von 1 min wurde die Extinktionszunahme bei 550 nm bestimmt. Der Anteil an XOD wurde so lange variiert, bis die gewünschte Extinktionszunahme von  $0,02 E \cdot \text{min}^{-1}$  erfolgte.

Zur eigentlichen Messung wurden Messpuffer, 100 µl Cytochrom-C, Xanthin, XOD und 10 bis 20 µl Probe wiederum zu einem Gesamtvolumen von 1 ml in die Küvette gegeben, gemischt und gemessen. Da bei der Zugabe von 1 Unit SOD die Absorptionzunahme um 50 % ( $0,01 \cdot \text{min}^{-1}$ ) gehemmt wird, wurde die Probenmenge so variiert, dass  $\Delta E$  0,01 bis 0,015 betrug.

Anschließend konnte die Enzymaktivität über  $\Delta E$  errechnet werden:

$$EA_{SOD} = \frac{\left( \frac{\Delta E}{\Delta t_{100\%}} - \frac{\Delta E}{\Delta t_P} \right)}{\left( \frac{\Delta E}{\Delta t_{50\%}} * V_P \right)}$$

$EA_{SOD}$ : Enzymaktivität von SOD ( $U * ml^{-1}$ )

$\Delta E/\Delta t_P$ : Absorptionszunahme nach Zugabe von Oxalacetat (Abs. \*  $min^{-1}$ )

$\Delta E/\Delta t_{50\%}$ : 50 % der Absorptionszunahme im Vorlauf (Abs. \*  $min^{-1}$ )

$\Delta E/\Delta t_{100\%}$ : Absorptionszunahme im Vorlauf (Abs. \*  $min^{-1}$ )

$V_P$ : Probenvolumen (ml)

### 2.3.4 Bestimmung des Proteingehalts (nach Bradford 1976)

Um die Enzymaktivität von CS, KAT und SOD in ( $U * mg \text{ Protein}^{-1}$ ) anzugeben, wurde der Proteingehalt im jeweiligen Probenextrakt nach Bradford ermittelt. Die Bradford-Methode beruht auf der Beobachtung, dass das Absorptionsmaximum einer sauren Coomassie-Blau-Lösung von 465 auf 595 nm übergeht, wenn die Bindung des Farbstoffs an ein Protein stattgefunden hat.

Zunächst wurde eine Messreihe mit 5 Standardlösungen (Proteingehalt: 2, 4, 6, 8, 10  $\mu g$  pro Messansatz) anhand einer Stammlösung (1 mg Rinderserumalbumin BSA in 1 ml 0,9 % NaCl) hergestellt. Der Standard (2, 4, 6, 8, 10  $\mu l$ ), 0,9 % NaCl (98, 96, 94, 92, 90  $\mu l$ ) und 1000  $\mu l$  filtriertes Bradford-Reagenz (20 mg Coomassie Blue brilliant G-250, 10 ml Ethanol, 20 ml 85 %  $H_3PO_4$  auf 200 ml mit Aqua dest. auffüllen) wurden in 1,5 ml Halbmikro UV-Küvetten pipettiert und gut gemischt. Nach einer Inkubationszeit von 10 min wurde mit einem Spektralphotometer (Pharmacia, LBK Biochrom 4060) die Extinktion des jeweiligen Standards bei Raumtemperatur und 595 nm gegen einen Reagenzienblindwert gemessen. Nach Subtraktion der Blindwerte von den Standard-Extinktionswerten wurde eine Eichgerade mit fünf Messpunkten erstellt. Die nach der CS-, KAT- bzw. SOD-Bestimmung (2.3.1 – 2.3.3) bei  $-20 \text{ }^\circ C$  eingefrorenen Probenextrakte wurden aufgetaut, in einem Verhältnis von 1:3 (w/v) bzw. 1:6 mit 0,9 % NaCl verdünnt und 1 min gevortext (Scientific Industries, Vortex-Genie 2 G 560-E). Anschließend wurden jeweils Probenlösung (5 - 20  $\mu l$ ), 0,9 % NaCl (95 - 80  $\mu l$ ) sowie Bradford-Reagenz (1000  $\mu l$ ) in eine Küvet-

te gegeben, vermischt, 10 min inkubiert und gemessen. Anhand der Eichgerade konnte aus den Extinktionswerten die Proteinkonzentration der Probe berechnet werden.

### **2.3.5 Bestimmung von Glutathiongehalt (nach Fariss und Reed 1987), pH-Wert und Redoxpotential**

Die während der Präparation entnommenen Gewebeproben lagerten vor der Bestimmung des Glutathiongehalts ausschließlich in flüssigem Stickstoff (-196 °C), um eine Oxidation des Glutathions zu verhindern. Jeweils 125 bis 200 mg Gewebe wurden unter flüssigem Stickstoff gemörsert, in einen Glaspotter überführt und in dem Verhältnis von 1:11 (w/v) mit vorgekühlter, N<sub>2</sub>-begaster Perchlorsäure (10 % PCA mit 2 mM Batho-Phenantrolin-Disulphonsäure BPDS) versetzt. Das Gemisch wurde auf Eis mit einem Glaspistill homogenisiert, in ein vorgekühltes 2 ml- Reaktionsgefäß überführt und 5 min bei 4 °C und 15 000 g zentrifugiert (Eppendorffzentrifuge, Sigma 2-6K). Zur Doppelbestimmung des Glutathiongehalts wurden in zwei vorgekühlte 2-ml-Reaktionsgefäße jeweils 50 µl interner Standard (1 mM  $\gamma$ -Glutamyl-glutamat in 0,3 % PCA) und 10 µl pH Indikator (1 mM m-Kresol purpur Natriumsalz in Aqua dest. und 0,5 M Iodessigsäure IAA) mit 500 µl Probenüberstand vermischt. Das IAA verhinderte dabei die Oxidation des freien GSH zu GSSG. Um die vollständige Bindung des Derivatisierungsreagenzes IAA an das GSH zu induzieren, wurden die Proben mit Kaliumlauge (4 M KOH mit 0,3 M MOPS) auf pH 8,5 eingestellt und 45 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden die Proben 5 min bei 4 °C und 15 000 g zentrifugiert, in ein dunkles 2 ml-Reaktionsgefäß überführt und in einem Verhältnis von 1:3 mit FDNB (1 % 1-Fluor-2,4-Dinitrobenzen in Ethanol) versetzt. Zur Inkubation wurden sie 24 h bei Raumtemperatur gelagert und schließlich bei -20 °C eingefroren. Um die dabei ausgefallene PCA zu entfernen, wurde die Probe erneut 1 min bei 4 °C und 7500 g zentrifugiert. Der Überstand wurde durch einen 0,2 µm Nylonmembranfilter gefiltert und bis zur Messung in dunklen HPLC-Fläschchen eingefroren.

Der Glutathiongehalt der Gewebeproben wurde mittels HPLC (high performance liquid chromatography) bestimmt. Das System der HPLC (Beckman Coulter GmbH) besteht aus einer binären Pumpe, einem Probenaufgeber und einer Sperisorb NH<sub>2</sub>-Trennsäule (4 mm x 250 mm; 5 µm Ø, Waters). Die Säule wurde auf 38 °C (Säulenofen) erwärmt und die Peak-Detektion (Dioden-Array) fand bei 365 nm statt. Die Auftrennung der Probenkomponenten erfolgte über ein binäres Gradientensystem. Lösungsmittel A: 80 % Methanol und 20 % MilliQ Wasser. Lösungsmittel B: 80 % Lösungsmittel A und 20 % Natriumacetatlösung (272 g Natriumacetat-Trihydrat, 122 ml Aqua dest., 378 ml 100 % Eisessig). Es wurden

ausschließlich Chemikalien mit HPLC-grade und MilliQ-Wasser verwendet. Unmittelbar vor der Verwendung wurde Lösungsmittel A zur Entgasung 15 min in ein Ultraschallbad (Bandelin SONOREX, SUPER RK 255H) gegeben. Lösungsmittel B wurde durch einen Membranfilter (Satorius, RC-Vliesverstärkt, 0,2 µm Porengröße) filtriert und währenddessen entgast. Die Lösungsmittel A und B wurden mit einer Flussrate von 1,2 ml \* min<sup>-1</sup> über die Säule gepumpt. Die Trennung erfolgte über einen linearen Gradienten: 3 min 92 % A zu 8 % B, in 28 min auf 40 % A zu 60 % B und 11 min gehalten, anschließend in 5 min auf Ausgangsverhältnis mit 92 % A zu 8 % B und zur Reequilibrierung der Säule 15 min gehalten.

Zur Berechnung des jeweiligen Gehalts an reduziertem (GSH) und oxidiertem Glutathion (GSSG) sowie des Gesamtglutathiongehalts (GSH<sub>ges</sub>) wurden neben den Proben jeweils fünf GSH- bzw. GSSG-Standardlösungen aus einer GSH- bzw. GSSG-Stammlösung hergestellt. Diese wurden auf identische Weise wie die Proben nach der ersten Zentrifugation aufbereitet und gemessen. Aus den Messwerten der Standardlösungen wurde für GSH bzw. GSSG jeweils eine Eichgerade erstellt. Anhand der Eichreihen konnten die Messwerte der jeweiligen Probe in GSH- und GSSH-Gehalt berechnet werden. Zudem wurden der Gesamtglutathiongehalt ( $GSH_{ges} = GSH + 2 * GSSG$ ) und das Verhältnis von oxidiertem zu reduziertem Glutathion (GSSG:GSH) berechnet.

Zur Berechnung des Redoxpotentials wurde der intrazelluläre pH-Wert (pH<sub>i</sub>) nach Pörtner et al. (1990) bestimmt. Dabei wurden zwischen 100 und 120 mg der bei -80 °C tiefgefrorenen Gewebeproben unter flüssigem Stickstoff gemörsert und in einem vorgekühlten 0,5-ml-Reaktionsgefäß mit 150 µl vorgelegtem Medium (160 mmol \* l<sup>-1</sup> Kaliumfluorid, 2 mmol \* l<sup>-1</sup> Nitrilotriessigsäure, pH 6,9) versetzt. Das Reaktionsgefäß wurde vollständig mit Medium aufgefüllt und luftblasenfrei verschlossen, um den Kontakt mit Luft und eine daraus hervorgerufene Ansäuerung des Gewebes durch kondensiertes CO<sub>2</sub> zu verhindern. Die Probe wurde zum verbesserten Gewebeaufschluss 1 min bei -7 °C mit Ultraschall (G. Heinemann, Branson Sonifier 450, Duty cycle 40 %, Output control 4,5) behandelt und 30 sec bei 20 000 g und 3 °C zentrifugiert (Eppendorfcentrifuge, 5417 R). Anschließend konnte der pH<sub>i</sub> in den Gewebeproben mittels einer pH-Elektrode (SenTix Mic) bestimmt werden. Vor der Messung wurde die pH-Elektrode mit Präzisions-Eichpuffer (AppliChem Darmstadt) kalibriert. Da der pH<sub>i</sub> in Gewebeproben der Tiere aus dem Jahr 2005 bestimmt wurde, betrug die Messtemperatur genauso wie die *in situ* Temperatur 3 °C. Die Messungen wurden anhand der Aufzeichnungen eines Schreibers ausgewertet.

### 2.3.6 Bestimmung des Carbonylgruppengehaltes (nach Levine et al. 1990)

Die Messung der Proteinoxidation im Gewebe wurde anhand der Bestimmung des Carbonylgruppengehalts nach Levine et al. (1990) vorgenommen. Das Prinzip der Messung beruht auf der Reaktion von Carbonylgruppen mit dem carbonyl-spezifischen Reagenz 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNP), welches bei 360 nm im Spektrophotometer gemessen werden kann. Zur Extraktion wurde zunächst 1 ml Homogenisationspuffer (für vier Proben: 25 ml HEPES-Puffer, 1,25 µl Leupeptin, 37,5 µl Pepstatin A, 87 µl PMSF, 1,25 µl Aprotinin, 11 mg EDTA, 4 mg MgSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O) in eine Wägschale auf Eis vorgelegt. Zwischen 150 und 300 mg der bei – 80 °C eingefrorenen Gewebeproben wurden dem Puffer zugegeben, gewogen und mit einer Schere in kleine Stücke geschnitten. Das Probengemisch wurde in einen Glaspotter überführt und auf Eis mit einem Glaspistill homogenisiert (IKA-Werke, Eurostar digital, 300 U/min). Anschließend wurden das Homogenat und 4 ml Homogenisationspuffer in ein Zentrifugenröhrchen gegeben und 22 min bei 4 °C und 31 000 rpm zentrifugiert (Ultrazentrifuge, Beckman L7-80, Rotor 70 Ti). Von jeder Probe wurden für zwei Replikate jeweils 0,4 ml Überstand mit 1,4 ml DNP (10 mM 2,4-dinitrophenylhydrazin in 2 M HCl-Lösung) versetzt. Für zwei Probenblindwerte wurde das DNP jeweils durch 1,4 ml 2 M HCl ersetzt. Alle vier Ansätze einer Probe wurden 1 h bei Raumtemperatur inkubiert und währenddessen alle 15 min erneut gemischt. Zur Fällung der Proteine wurden die Probenansätze nach der Inkubation jeweils mit 200 µl 100 % TCA (10 g Trichloressigsäure, 10 ml Aqua dest.) versetzt, gemischt und in der Eppendorffzentrifuge 5 min bei 4 °C und 11 000 g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet mindestens dreimal mit Waschlösung (50 Teile Ethanol zu 50 Teilen Ethylacetat) gewaschen, um überschüssiges DNP zu entfernen. Das Pellet wurde dabei mit einem Spatel zerkleinert und in Ethanol/Ethylacetat resuspendiert. Zwischen den Waschschritten schlug sich das Probenmaterial durch das Zentrifugieren an den Rändern des Eppendorfcups als feiner Film nieder und wurde durch sorgsames Abkratzen wieder in Lösung gebracht. Das Waschen des Pellets war beendet, wenn der Überstand keine gelbliche Färbung vom DNP mehr aufwies. Nach dem letzten Waschschrift wurde das Pellet innerhalb von 2 h vollständig an der Luft getrocknet und anschließend in 0,6 ml 6 M Guanidinlösung (28,7 g Guanidin-HCl in 20 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, mit TCA auf pH 2,5) gelöst. Nach 12 h Inkubation bei 4 °C wurde die Probe erneut 5 min bei 4 °C und 11 000 g zentrifugiert und der Überstand bei 360 nm gegen 6 M Guanidinlösung im Spektrophotometer (Beckmann, UV-DU 800) gemessen. In allen Replikaten und Blindwerten wurde anschließend der Proteingehalt nach Bradford (1976) bestimmt.

Anhand der Formel:

$$G_{CG} = \frac{(Abs * V_G * 10^9)}{(\epsilon * 1000 * G_{PB})}$$

wurde zunächst jeweils der Proteincarbonylgehalt der Probe und des Probenblindwertes ausgerechnet, um anschließend den Blindwert vom Probenwert abzuziehen.

Abs: Probe bei 360 nm

$\epsilon$ : Extinktionskoeffizient DNP bei 360nm ( $22\,000 * M^{-1} * cm^{-1} * f$ )

$G_{CG}$ : Carbonylgruppengehalt (nmol Carbonyle \* mg Protein<sup>-1</sup>)

$G_{PB}$ : Proteingehalt nach Bradford (mg \* ml<sup>-1</sup>)

$V_G$ : Volumen Guanidinlösung zur Lösung des Proteinpellets (ml)

#### 2.4 Histologische Untersuchung der Lipofuszin-Akkumulation im Gewebe

Die Lipofuszin-Ablagerung in Kiemen- Mantel- und Schließmuskelgewebe wurde in acht jungen (6-11 Jahre) und acht alten (110-192 Jahre) *A. islandica* untersucht. Während der Präparation der Tiere wurden sofort mit einer scharfen Rasierklinge jeweils 5 x 5 x 5 mm große Gewebelöcke des Mantels, der Kieme und des Schließmuskels entnommen. Jeder Gewebelöcke wurde in eine einzelne beschriftete Histocette gegeben und zur Fixierung 24 h in Bakers Lösung (300 ml 40 % Formaldehyd und 60 g Calciumacetat mit A. dest. auf 3 l Gesamtvolumen) inkubiert. Anschließend wurden die Histocetten mit den Gewebelöcken in Gum-sucrose Lösung (30 g Saccharose und 1 g Gum arabic mit Aqua dest. auf 100 ml Gesamtvolumen) überführt und in das Alfred-Wegener-Institut nach Bremerhaven transportiert. Um die Proben dauerhaft haltbar zu machen wurden sie in frische Gum-sucrose Lösung gegeben und bei 4 °C gelagert. Zur Einbettung wurden die in den Histocetten befindlichen Gewebelöcke zweimal in Phosphatpuffer (0,1 M Natriumdihydrogenphosphat, 0,1 M Disodiumhydrogenphosphat, pH 7,4) gespült und mit Hilfe eines selbstgebauten Rütteltischs ½ Stunde in frischem Phosphatpuffer bewegt. Anschließend wurden die Proben auf dem Rütteltisch 2 x 15 min in 70 % und 2 x 15 min in 100 % Aceton entwässert. Der Gewebelöcke wurde jeweils aus der Histocette genommen, in ein Schnappdeckelglas mit 5 ml Monomer-Lösung (80 ml 2-Hydroxyethylmethacrylat, 12 ml 2-Butoxyethanol und 0,27 g Benzoylperoxid in 25 % H<sub>2</sub>O) überführt und 12 h bewegt. Die Probe wurde in eine spezielle Einbettungsform überführt, die Monomer-Lösung wurde in einem Verhältnis

von 5:0,1 mit Aktivator (0,1 ml 10 ml Polyethylen BHD und 1 ml N, N-Dimethylanilin) versetzt und in die Einbettungsform gegossen. Diese wurde mit einem etikettierten Blockhalter versehen und in den Kühlschrank gestellt. Nach einer Polymerisationszeit von 12 Stunden bei 4 °C wurden alle Proben als Methacrylatblöcke aus den Einbettungsformen genommen und 24 h zum Trocknen unter den Abzug gelegt. Anschließend wurden mit Hilfe eines Mikrotoms (Leica RM 2145) 2 µm dicke Methacrylatschnitte angefertigt und auf Objektträger überführt.

Zum Nachweis von Lipofuszin wurde die Schmorl-Färbemethode (Pearse 1960) angewendet, wobei Lipofuszinmoleküle tief dunkelblau erscheinen. Zunächst wurden Färbelösung A (500 mg Eisen-(III)-chlorid in 50 ml Aqua dest.) und B (500 mg Kalium-Eisencyanid in 50 ml Aqua dest.) angesetzt, die Methacrylatschnitte 10 min in Aqua dest. eingeweicht und anschließend in Färbelösung (100 ml A zu 100 ml B) überführt. Nach 30 min nahmen die Schnitte eine bläuliche Färbung an, wurden für 2 min in 1 % Essigsäure gegeben, 10 min unter fließendem Wasser und 3 x in Aqua dest. gespült. Nach einer Trocknungszeit von 2 h wurden alle Methacrylatschnitte in geschmolzener Glyceringelatine (Merck, Microscopy Kaiser Glyceringelatine für die Mikroskopie) fixiert. Zusätzlich wurde mit der H&E-Methode (Gills Hämatoxylin & Eosin) (Romeis 1948) an parallelen Methacrylatschnitten eine Übersichtsfärbung durchgeführt. Dabei erscheinen die Zellkerne und das basophile Zytoplasma durch das Hämatoxylin blau, während Bindegewebe, acidophiles Zytoplasma, Kollagenfasern und Muskelgewebe durch das Eosin-Phloxin eine pinke Färbung annehmen. Zunächst wurden die Methacrylatschnitte 60 min in filtrierter Gill's Hämatoxylin Lösung (6 g Hämatoxylin CI 7529, 0,6 g Natriumjodat und 52,8 g Aluminiumsulphat in 690 ml Aqua dest, 250 ml Ethylenglycol, 60 ml 100 % Eisessig) angefärbt, 20 min in H<sub>2</sub>O und 1 min in Aqua dest. gespült. Nach 1 min Gegenfärbung in Eosin Lösung (20 ml 1 % Eosin, 2 ml 1% Phloxin, 156 ml 96 % Ethanol, 1 ml 100 % Eisessig) wurden die Gewebeschnitte 6 x in 80 % Alkohol eingetaucht, getrocknet und in Euparal (CHROMA-GESELLSCHAFT, 3C 239) fixiert. Die jeweilige Fixierung macht die Schnitte mehrere Jahre haltbar.

## 2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten und die Erstellung der Abbildungen wurde mit Hilfe von Graph Pad Prism (Version 4.03) vorgenommen. Zur Linearisierung wurden die Daten des GSSG:GSH-Verhältnisses vor dem statistischen Vergleich transformiert ( $x = \log(\sqrt{y+1})$ ). Alle Daten wurden zunächst auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov) und



auf Homogenität der Varianzen (Bartlett) überprüft. Anschließend wurden die Parameter mit Hilfe eines t-Tests nach Student, oder wenn keine Normalverteilung und Homogenität der Varianzen gegeben war, mit dem Mann-Whitney-Test auf Unterschiede zwischen den Jahren 2004 und 2005 überprüft. Dabei wurden die Daten der 5 bis 10 Jahre alten Tiere verglichen, weil nur diese Altersklasse in beiden Jahren vertreten war. Bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Jahren 2004 und 2005, wurde für die jeweiligen Parameter ein gemeinsamer Kiemen- bzw. Mantel-Datensatz aller Tiere gebildet. Andernfalls wurden die Daten der beiden Jahre getrennt voneinander betrachtet.

Mit Hilfe einer Zwei-faktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und einem anschließenden Post-Hoc-Test (Tukey), wurden die verschiedenen Parameter auf signifikante Unterschiede zwischen Geweben (Mantel und Kieme) und verschiedenen Altersklassen untersucht. Waren die Voraussetzungen für eine Zwei-faktorielle Varianzanalyse nicht gegeben, wurden die Ergebnisse mit dem nicht-parametrischen Kruskal-Wallis und Post-Hoc-Test (Dunn's) auf Signifikanzen geprüft.



### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Altersabhängigkeit der Wachstumsrate von *Arctica islandica*

Die Von Bertalanffy Wachstumsfunktion (VBGF) beschreibt ein asymptotisches Wachstumsmodell. Die Beziehung zwischen Schalenhöhe und Alter von 179 untersuchten *A. islandica* wurde mit Hilfe dieser Funktion beschrieben (Abb. 3.3-1). Die im August 2004 und im Mai 2005 gefischten Tiere stammen von unterschiedlichen Fundstellen (s. 2.1), wiesen jedoch vergleichbare Wachstumsraten auf und konnten durch eine Funktion beschrieben werden.

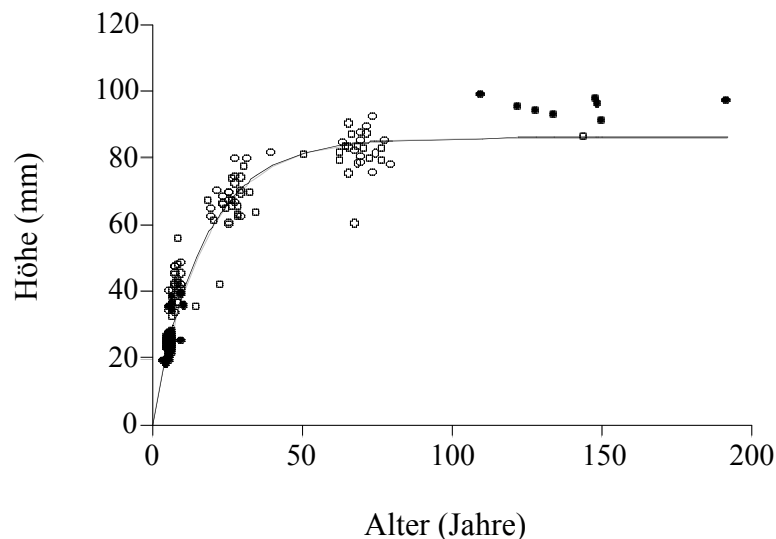


Abb. 3.1-1: Wachstumsrate von *A. islandica*, August 2004 (offene Punkte), Mai 2005 (gefüllte Punkte), Von Bertalanffy Wachstumsfunktion:  $H_t = 86 * (1 - e^{-0.057(t + 0.399)})$ , ( $n = 179$ ,  $r^2 = 0.933$ ).

#### 3.2 Altersabhängigkeit der Citratsynthase-Aktivität und der antioxidativen Kapazität

Zunächst wurde die Aktivität der Citratsynthase als mitochondriales Markerenzym im Mantel- und Kiemengewebe von *A. islandica* bestimmt. Als Vertreter des antioxidativen Schutzsystems wurden die Enzyme Superoxiddismutase und Katalase, sowie der Gehalt des Redoxfängers Glutathion in Mantel und Kieme untersucht. Die Enzymaktivitäten wurden auf den jeweiligen Proteingehalt im Extrakt bezogen. Gezeigt wird die Entwicklung aller Parameter mit zunehmendem Alter. Signifikante Ergebnisse sind in den Legenden der Abbildungen angegeben. In einigen Fällen wurden die Säulendiagramme zur Darstellung der Einzelwerte durch Punktdiagramme ergänzt.

### 3.2.1 Altersabhängigkeit der Citratsynthase-Aktivität

Die 2004- und 2005-gefishchten Tiere zeigten bezüglich der Citratsynthase (CS)-Aktivität im Mantel und in der Kieme keine signifikanten Unterschiede. Deswegen wurden die Daten aller Tiere für jedes Gewebe als jeweils ein Datensatz betrachtet.

Die CS-Aktivität der 5 bis 77 Jahre alten Tiere war in der Kieme signifikant höher als im Mantel ( $p < 0.0001$ ). Die 110 bis 192 Jahre alten *A. islandica* zeigten bezüglich der Enzymaktivität in den beiden Geweben keine signifikanten Unterschiede (Abb. 3.2.1-1). Mit zunehmendem Alter veränderte sich die CS-Aktivität weder im Mantel noch in der Kieme signifikant, in der Kieme deutete sich jedoch eine Abnahme der CS-Aktivität an (Abb. 3.2.1-2 B). Im Mantel aller untersuchten Tiere lag die CS-Aktivität zwischen 0.03 und 0.22  $U \cdot mg^{-1}$  Protein und war in der Kieme mit 0.06 und 0.36  $U \cdot mg^{-1}$  Protein fast doppelt so hoch (Abb. 3.2.1-2).

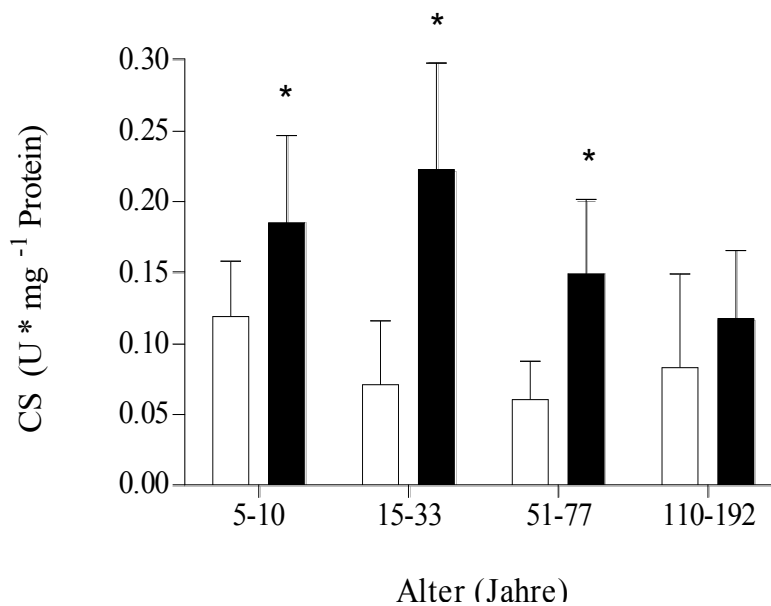


Abb. 3.2.1-1: Citratsynthase-Aktivität in Mantel (weiße Säulen) und Kieme (schwarze Säulen) von *A. islandica*, August 2004 und Mai 2005, Messtemperatur 20 °C. Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt ( $n = 6-14$ ). \* = CS-Aktivität in Kieme der 5-77 Jahre alten Tieren ist signifikant höher als im Mantel ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.05$  Tukey).



### 3.2.2 Altersabhängigkeit der Katalase-Aktivität

Die 2004- und 2005-gefishchten Tiere unterschieden sich signifikant bezüglich der Katalase (KAT)-Aktivität im Mantel ( $p = 0.0012$  Mann-Whitney) und in der Kieme ( $p < 0.0001$  t-Test nach Student). Dabei war die KAT-Aktivität in der Kieme aller 2005-Tiere doppelt so hoch wie in den 2004-Tieren (Abb. 3.2.2-2 B). Aus diesem Grund wurden die Daten der 2004- und 2005-Tiere für Mantel und Kieme statistisch jeweils als getrennte Datensätze untersucht

Die Tiere aus den Jahren 2004 und 2005 wiesen in der Kieme eine signifikant höhere Enzymaktivität als im Mantel auf ( $p < 0.0001$ ). Die KAT-Aktivität in der Kieme war dabei drei- bis viermal so hoch wie im Mantel. Mit zunehmendem Alter zeigte die KAT-Aktivität aller untersuchten *A. islandica* weder im Mantel noch in der Kieme eine signifikante Veränderung. Betrachtet man nur die 2005-Tiere, war jedoch in beiden Geweben ein Hinweis auf eine Abnahme mit dem Alter zu erkennen (Abb. 3.2.2-1). In den 2004-Tieren streuten die Werte der KAT-Aktivität im Mantel zwischen 15.7 und 67.7 U \* mg<sup>-1</sup> Protein, in der Kieme zwischen 109.11 und 188.69 U \* mg<sup>-1</sup> Protein. Die 2005-Tiere zeigten im Mantel eine Enzymaktivität von 10 bis 124.39 U \* mg<sup>-1</sup> Protein, in der Kieme von 222.89 bis 450.75 U \* mg<sup>-1</sup> Protein (Abb. 3.2.2-2).

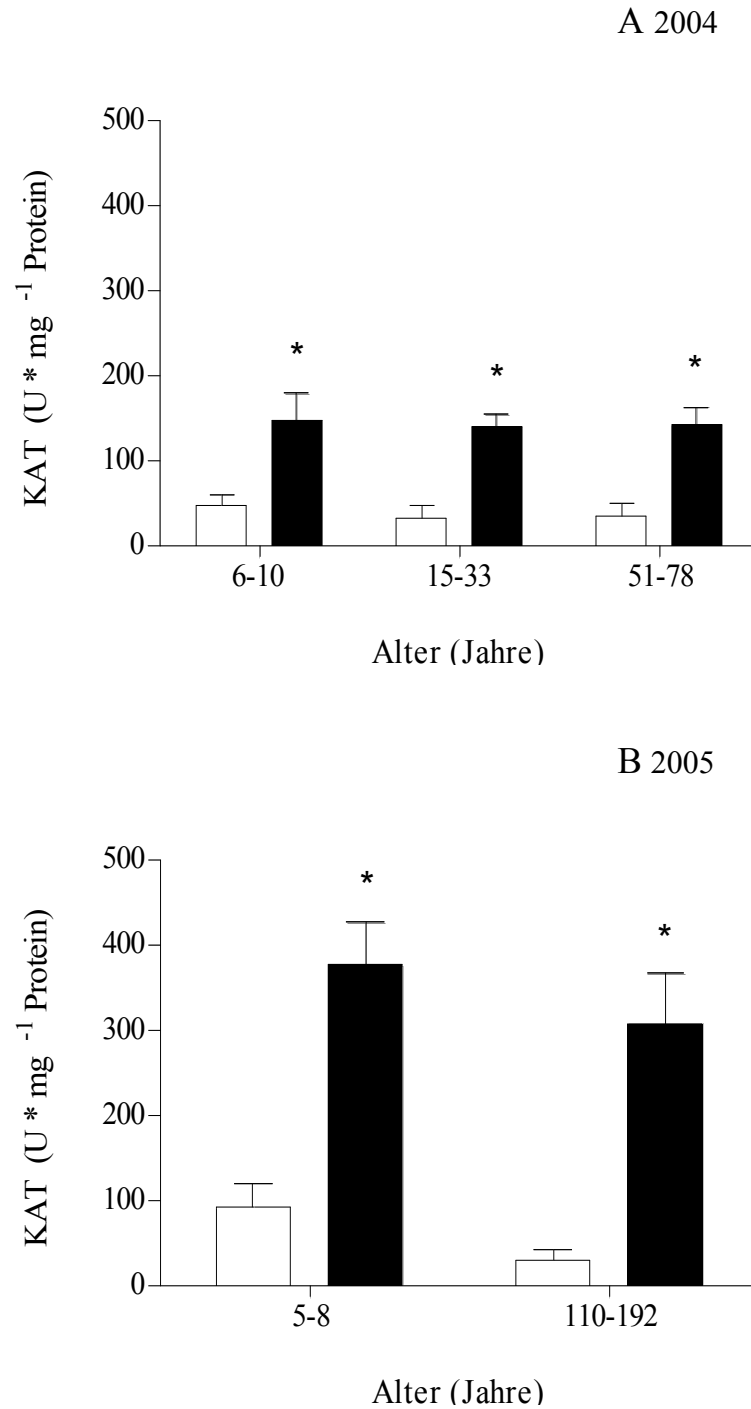
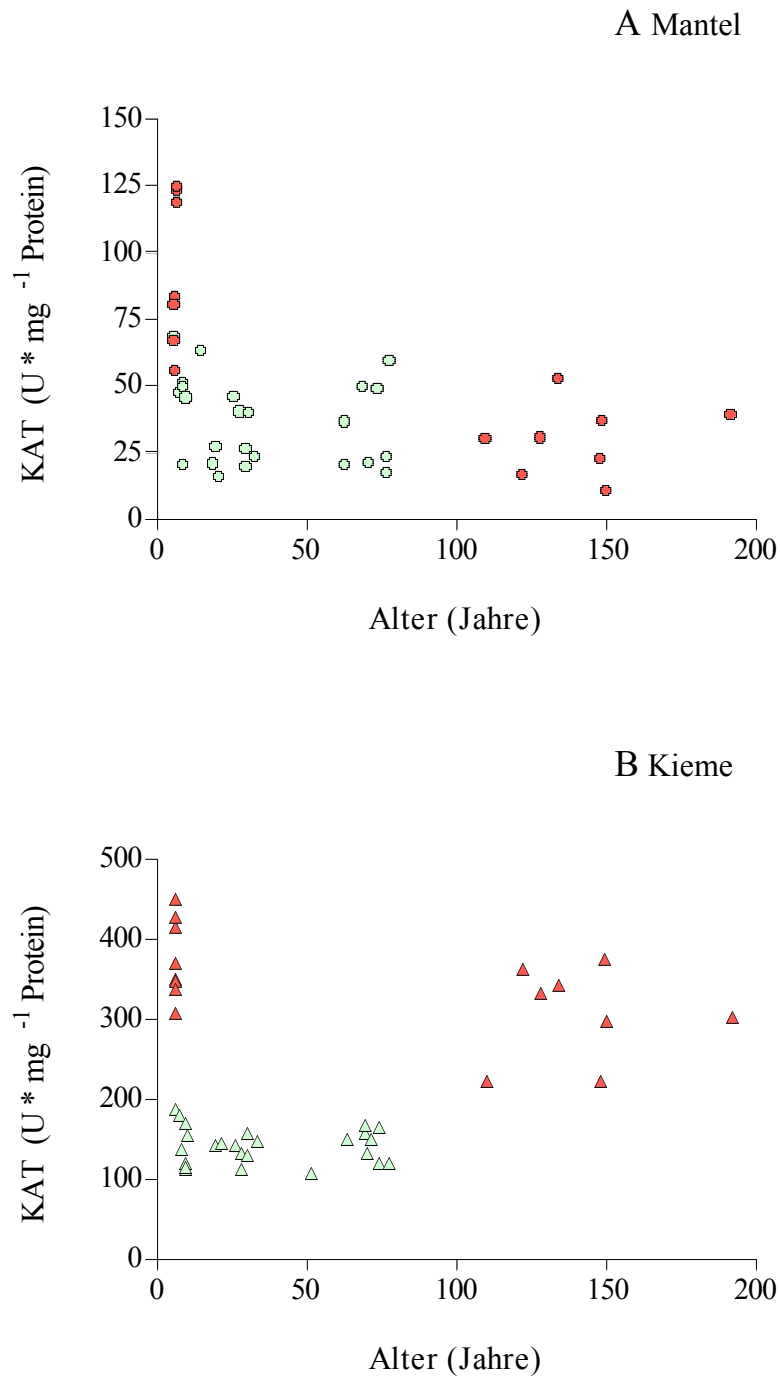


Abb. 3.2.2-1: Katalase-Aktivität in Mantel (weiße Säulen) und Kieme (schwarze Säulen) von *A. islandica*, August 2004 und Mai 2005, Messtemperatur 20 °C. Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt (n 2004 (2005) = 7-10 (8)). \* = KAT-Aktivität aller Tiere in Kieme signifikant höher als im Mantel ( $p < 0.001$  ANOVA,  $p < 0.001$  Tukey).



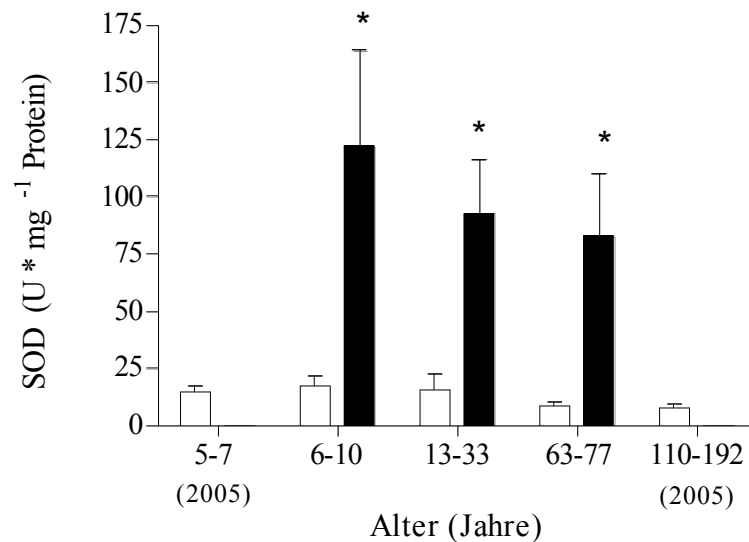
**Abb. 3.2.2-2: Katalase-Aktivität in Mantel und Kieme von *A. islandica* (grün = August 2004, rot = Mai 2005), Messtemperatur 20 °C. Jeder Datenpunkt repräsentiert 1 Tier und beruht auf 3 Messungen.**



### 3.2.3 Altersabhängigkeit der Superoxiddismutase-Aktivität

Die Tiere aus den Jahren 2004 und 2005 unterschieden sich bezüglich der Superoxiddismutase (SOD)-Aktivität im Mantel nicht signifikant voneinander, weshalb alle Daten des Mantelgewebes zu einem Datensatz zusammengefasst wurden. Die SOD-Aktivität in der Kieme der 2005-Tiere wurde nicht bestimmt. Ein Gewebe-Vergleich wurde anhand der 2004-Tiere vorgenommen.

Die SOD-Aktivität der 2004-Tiere aller Altersklassen war in der Kieme signifikant höher als im Mantel ( $p < 0.0001$ ). Sie lag im Mantel der 2004-Tiere zwischen  $8.67 \pm 1.32$  und  $17.31 \pm 4.22 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ Protein}$  und in der Kieme 6-x höher zwischen  $82.68 \pm 27.66$  und  $121.8 \pm 42.3 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ Protein}$  (Abb. 3.2.3-1). Im Mantel aller untersuchten *A. islandica* nahm die SOD-Aktivität mit dem Alter signifikant ab ( $p < 0.0001$ ). Die Enzymaktivität sank dabei um 51 % von  $15.38 \pm 3.6 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ Protein}$  (5-10 Jahre) auf  $7.67 \pm 2.07 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ Protein}$  (110-192 Jahre) (Abb. 3.2.3-1, 3.2.3-2). Die SOD-Aktivität in der Kieme der 2004-Tiere veränderte sich nicht signifikant, ergab jedoch einen Hinweis auf eine Abnahme mit zunehmendem Alter (Abb. 3.2.3-1).



**Abb. 3.2.3-1: Superoxiddismutase-Aktivität in Mantel (weiße Säulen) und Kieme (schwarze Säulen) von *A. islandica*, August 2004, Mai 2005 = nur Mantel-Messungen, Messtemperatur 20 °C. Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt (n 2004 (2005) = 6-8 (9-13)). \* = SOD-Aktivität ist in Kieme signifikant höher als im Mantel ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.001$  Tukey). SOD-Aktivität nimmt im Mantel aller Tiere mit zunehmendem Alter signifikant ab ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.05$  Tukey).**

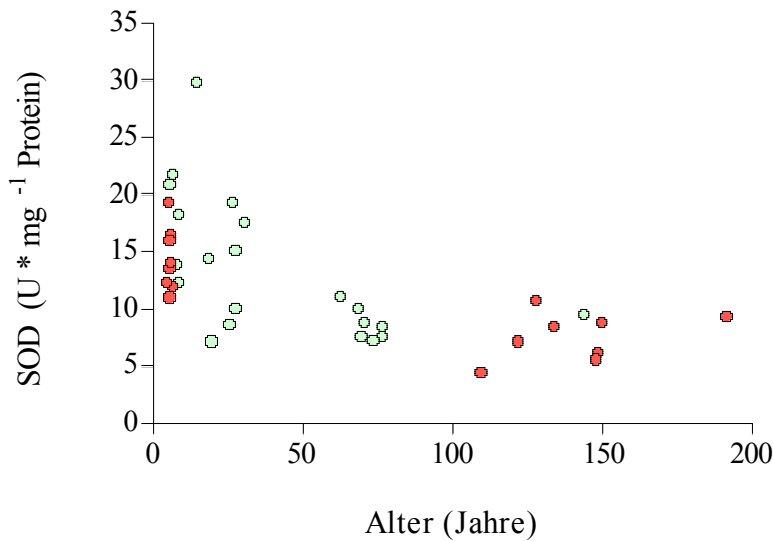
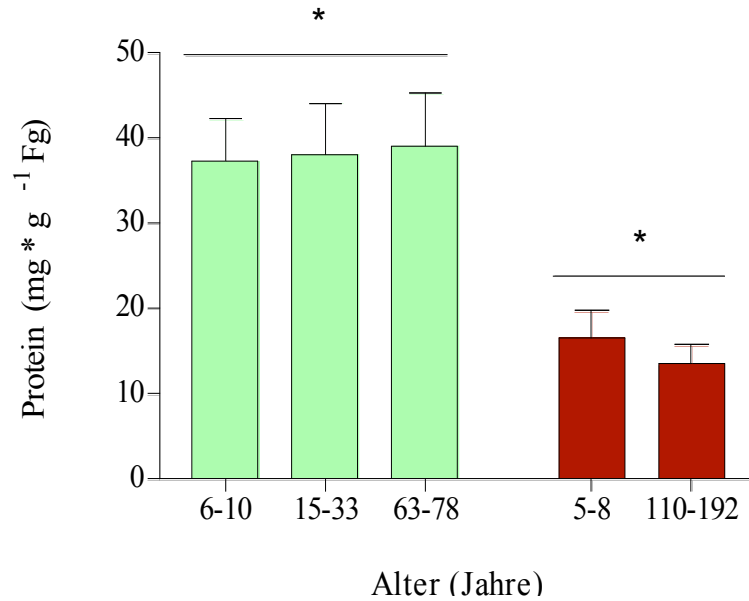


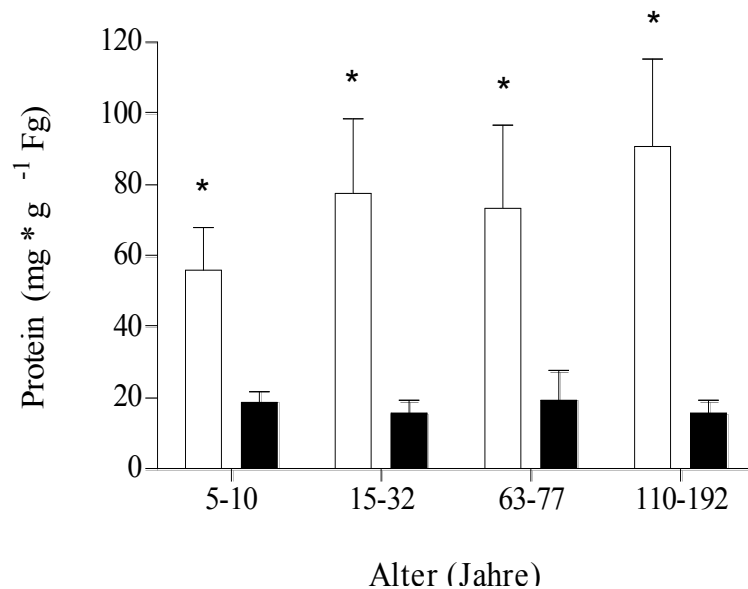
Abb. 3.2.3-2: Superoxiddismutase-Aktivität im Mantel von *A. islandica* (grün = August 2004, rot = Mai 2005), Messtemperatur 20 °C. Jeder Datenpunkt repräsentiert 1 Tier und beruht auf 5 Messungen.

### 3.2.4 Extrahierbares Protein im Gewebe mit zunehmendem Alter

In den Messextrakten der CS-, KAT-, und SOD-Bestimmung des Mantels und der Kieme von *A. islandica* wurde der Proteingehalt in mg Protein \* g<sup>-1</sup> Fg bestimmt. Die Verdünnung des jeweiligen Messextrakts (CAT / SOD: 1:30, CS: 1:10) wurde für den statistischen Vergleich berücksichtigt und der Proteingehalt auf das Frischgewicht bezogen dargestellt. Die Extrakte der CS- und SOD-Bestimmung unterschieden sich nicht signifikant zwischen den 2004- und 2005-gefishten Tieren. Die 2004-Tiere zeigten jedoch in den KAT-Extrakten der Kieme einen signifikant höheren Proteingehalt als die 2005-Tiere ( $p < 0.0001$ ). Der Proteingehalt in der Kieme der jungen 2004-Tiere war dabei mit  $37.28 \pm 4.89$  mg Protein \* g<sup>-1</sup> Fg etwa 2 ½ Mal so hoch wie der Proteingehalt der jungen 2005-Tiere mit  $13.44 \pm 2.26$  mg Protein \* g<sup>-1</sup> Fg (Abb. 3.2.4-1). In allen untersuchten *A. islandica* war der Gehalt an extrahierbarem Protein im Mantel signifikant höher als in der Kieme ( $p < 0.0001$ ). Dabei war der Proteingehalt in den Messextrakten des Mantels etwa doppelt so hoch wie in der Kieme (Abb. 3.2.4-2, exemplarische Abbildung). In der Kieme aller untersuchten Tiere war mit zunehmendem Alter keine Veränderung zu beobachten. Aus den Messungen der CS- und SOD-Extrakte aller Tiere sowie der KAT-Extrakte der 2005-Tiere ging ein Hinweis auf eine Zunahme des extrahierbaren Proteingehalts im Mantel mit zunehmendem Alter hervor (Abb. 3.2.4-3, exemplarische Abbildung).

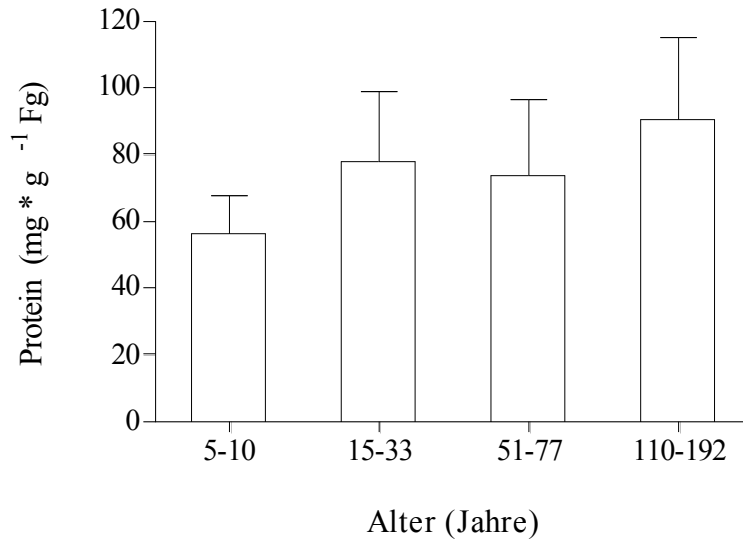


**Abb. 3.2.4-1: Extrahierbares Protein in der Kieme von *A. islandica*, (grüne Säulen = August 2004, rote Säulen = Mai 2005), KAT-Messextrakt. Die Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichungen dargestellt (n = 7-9). \* = Extrahierbares Protein in Kieme der 2004-Tieren signifikant höher als in 2005-Tieren ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.001$  Tukey).**



**Abb. 3.2.4-4: Extrahierbares Protein in Mantel- (weiße Säulen) und Kieme (schwarze Säulen) von *A. islandica*, August 2004 und Mai 2005, CS-Messextrakt, exemplarisch dargestellt für den Proteingehalt aller Messextrakte. Die Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt (n = 6-14).**

\* = Extrahierbares Protein im Mantel aller Tiere signifikant höher als in Kieme ( $p < 0.0001$  ANOVA).



**Abb. 3.2.4-3:** Extrahierbares Protein im Mantel von *A. islandica*, August 2004 und Mai 2005, SOD-Messextrakt, exemplarisch dargestellt für den Proteingehalt aller Messextrakte. Die Daten sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichungen dargestellt (n = 7-13).

### 3.2.5 Glutathiongehalt, pH-Wert und Redoxpotential mit zunehmendem Alter

Da sich die Tiere aus den beiden untersuchten Jahrgängen bezüglich der Glutathion-Parameter signifikant voneinander unterschieden, wurden alle statistischen Vergleiche getrennt für die 2004- und 2005-Daten durchgeführt, ( $p < 0.01$  t-Test nach Student).

In beiden Jahren bestand ein signifikanter Unterschied zwischen dem Gesamtglutathiongehalt ( $\text{GSH}_{\text{ges}}$ ) des Mantels und der Kieme, wobei der  $\text{GSH}_{\text{ges}}$  in der Kieme doppelt so hoch war ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.01$  Tukey) (Abb. 3.2.5-1, Tab. 3.1). Der GSSG-Gehalt in den Kiemen aller Tiere und der GSH-Gehalt in den Kiemen der 2005-Tiere waren signifikant höher als im Mantel ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.01$  Tukey) (Tab. 3.1). Sowohl der  $\text{GSH}_{\text{ges}}$ , als auch der GSH- und GSSG-Gehalt im Mantel und in der Kieme der 2005-Tieren nahmen mit zunehmendem Alter signifikant ab ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.05$  Tukey), während in den 2004-Tieren keine signifikanten Veränderungen mit dem Alter nachzuweisen waren (Tab. 3.1). Der  $\text{GSH}_{\text{ges}}$  der 2005-Tiere war im Mantel der alten Tiere um 60 % und in der Kieme um 43 % niedriger als in den jungen Tieren. Im Einzelnen nahm der GSH-Gehalt im Mantel um 47 % und in der Kieme um 42 % ab, der GSSG-Gehalt nahm im Mantel um 73 % und in der Kieme um 43 % mit dem Alter ab (Tab.3.1).

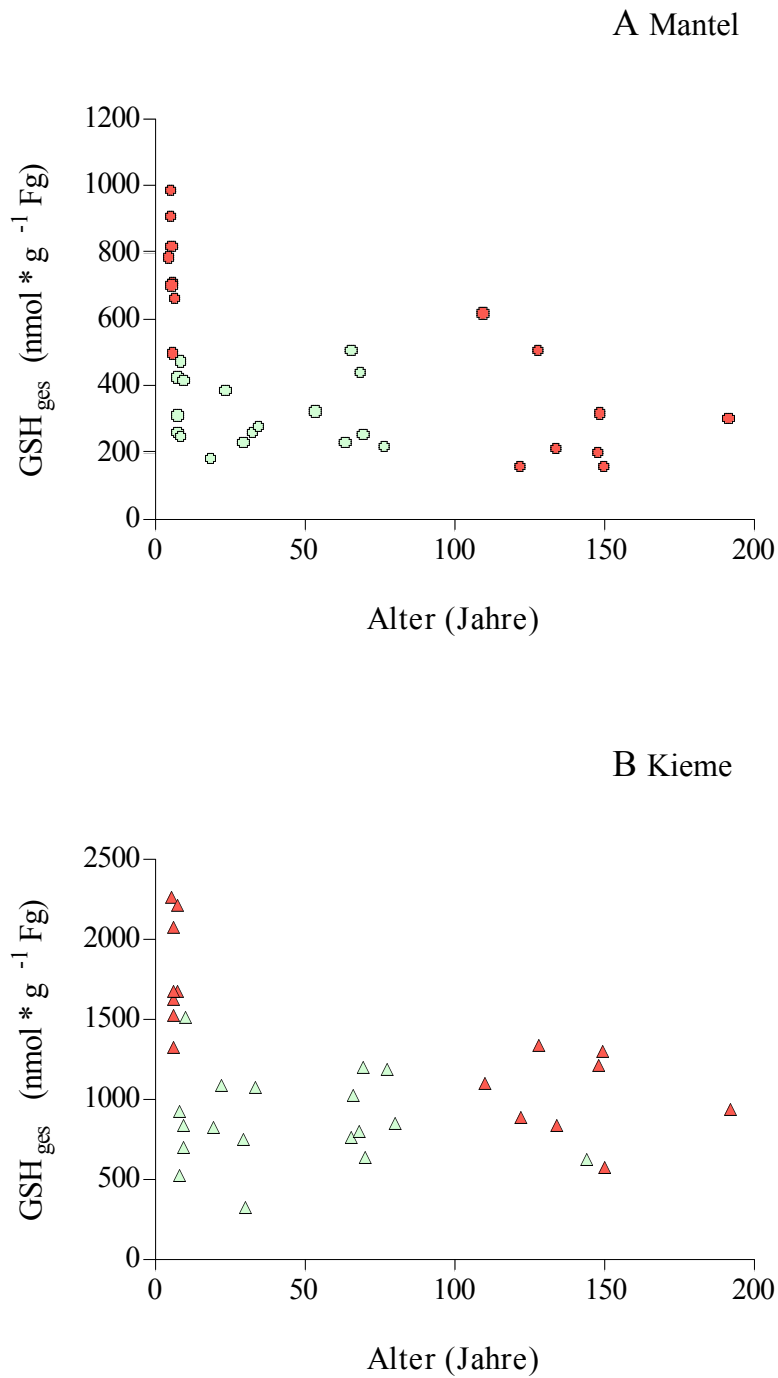
**Tab. 3.1: Parameter des Glutathionstoffwechsels A) im Mantel und B) in der Kieme von *A. islandica*, August 2004 und Mai 2005. GSH<sub>ges</sub> = Gesamtglutathion, GSH = reduziertes Glutathion, GSSG = oxidiertes Glutathion, RP = Redoxpotential berechnet nach Nernst-Gleichung. GSSG:GSH = Redoxverhältnis. \*\* = signifikante Veränderung eines Parameters mit zunehmendem Alter ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.05$  Tukey). Konzentration von GSH<sub>ges</sub>, GSH und GSSG sowie GSSG:GSH-Verhältnis unterschieden sich in Mantel und Kieme beider Jahre signifikant ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.01$  Tukey).**

**A**

	<b>GSH<sub>ges</sub></b> (nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	<b>GSH</b> (nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	<b>GSSG</b> (nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	<b>GSSG:GSH</b>	<b>Rp</b> (mV)
<b>2004 :</b>					
8-77 Jahre (N = 17)	315.7 ± 100.4	234.9 ± 84.3	43.6 ± 19.7	0.18 ± 0.1	
<b>2005:</b>					
5-8 Jahre (N = 8)	754.3 ± 152.3 **	402.6 ± 78.8 **	179.2 ± 47.4 **	0.43 ± 0.19 **	-316.5 ± 5.6 **
110-192 Jahre (N = 8)	304.25 169.4 **	214.1 ± 66.1**	49.1 ± 52.7 **	0.17 ± 0.18 **	-306.7 ± 9.9 **

**B**

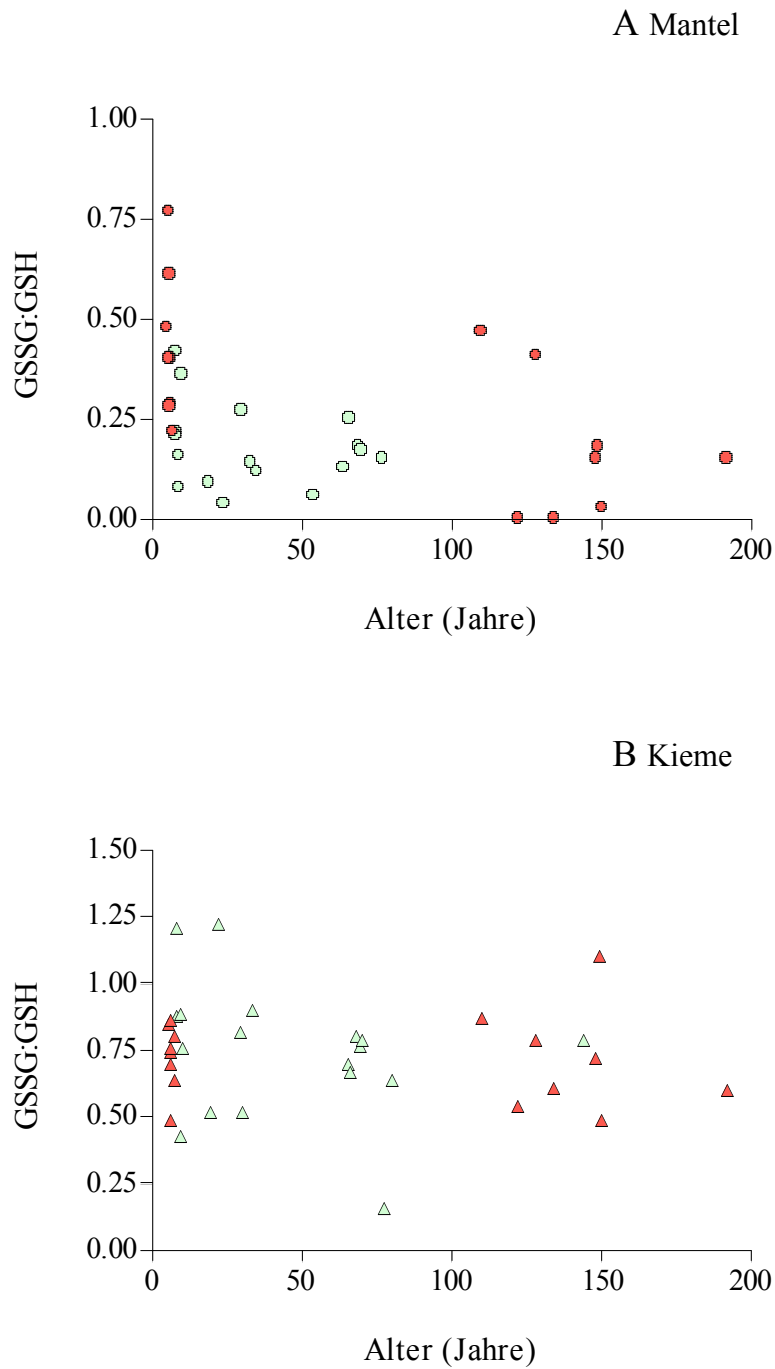
	<b>GSH<sub>ges</sub></b> (nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	<b>GSH</b> (nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	<b>GSSG</b> (nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	<b>GSSG:GSH</b>	<b>Rp</b> (mV)
<b>2004:</b>					
8-144 Jahre (N = 18)	871.1 ± 280.6	366.5 ± 170.8	252.3 ± 95.58	0.75 ± 0.25	
<b>2005:</b>					
5-8 Jahre (N = 8)	1798.9 ± 341.6 **	730.6 ± 108.8 **	534.15 ± 130.5 **	0.73 ± 0.12	-316 ± 2.8 **
110-192 Jahre (N = 8)	1027.5 ± 262 **	420.2 ± 70.4 **	303.7 ± 104.4 **	0.71 ± 0.20	-303.6 ± 3 **



**Abb. 3.2.5-1: Gesamtglutathiongehalt in Mantel und Kieme von *A. islandica* (grün = August 2004, rot = Mai 2005). Jeder Datenpunkt repräsentiert 1 Tier und beruht auf 2 Messungen.**

Das GSSG:GSH-Verhältnis war in der Kieme der 2004- und 2005-Tiere signifikant höher als im Mantel ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.05$  Tukey). Dabei war GSSG:GSH in der Kieme der 2004-Tiere in den jeweiligen Altersklassen mindestens doppelt so hoch wie im Mantel. Das GSSG:GSH-Verhältnis im Mantel der 2005-Tiere nahm mit zunehmendem Alter um 60 % ab ( $p = 0.0162$  ANOVA,  $p < 0.05$  Tukey), während in der Kieme der 2005-Tiere und in beiden Geweben der 2004-Tiere keine signifikanten Veränderungen nachgewiesen werden konnten (Abb. 3.2.5-2, Tab. 3.1).

Zur Berechnung des Redoxpotentials in Mantel und Kieme der 2005-Tiere wurde der intrazelluläre pH-Wert ( $\text{pH}_i$ ) bestimmt. Der  $\text{pH}_i$  nahm in beiden Geweben mit dem Alter ab: Im Mantel von 6.92 (5-8 Jahre) auf 6.69 (110-192 Jahre), in der Kieme von 6.90 (5 bis 8 Jahre) auf 6.77 (110-192 Jahre). Das Redoxpotential im Mantel und in der Kieme veränderte sich signifikant mit dem Alter ( $p < 0.0001$  ANOVA,  $p < 0.05$  Tukey). Im Mantel stieg das Redoxpotential um 3 % von  $-316.5 \pm 5.6$  (5-8 Jahre) auf  $-306.71 \pm 9.92$  mV (110-192 Jahre), in der Kieme um 4 % von  $-316 \pm 2.82$  (5-8 Jahre) auf  $-303.62 \pm 2.97$  mV (110-192 Jahre) (Abb. 3.2.5-3, Tab. 3.1).



**Abb. 3.2.5-2: GSSG:GSH in Mantel und Kieme von *A. islandica* (grün = August 2004, rot = Mai 2005). Jeder Datenpunkt repräsentiert 1 Tier und beruht auf 2 Messungen.**



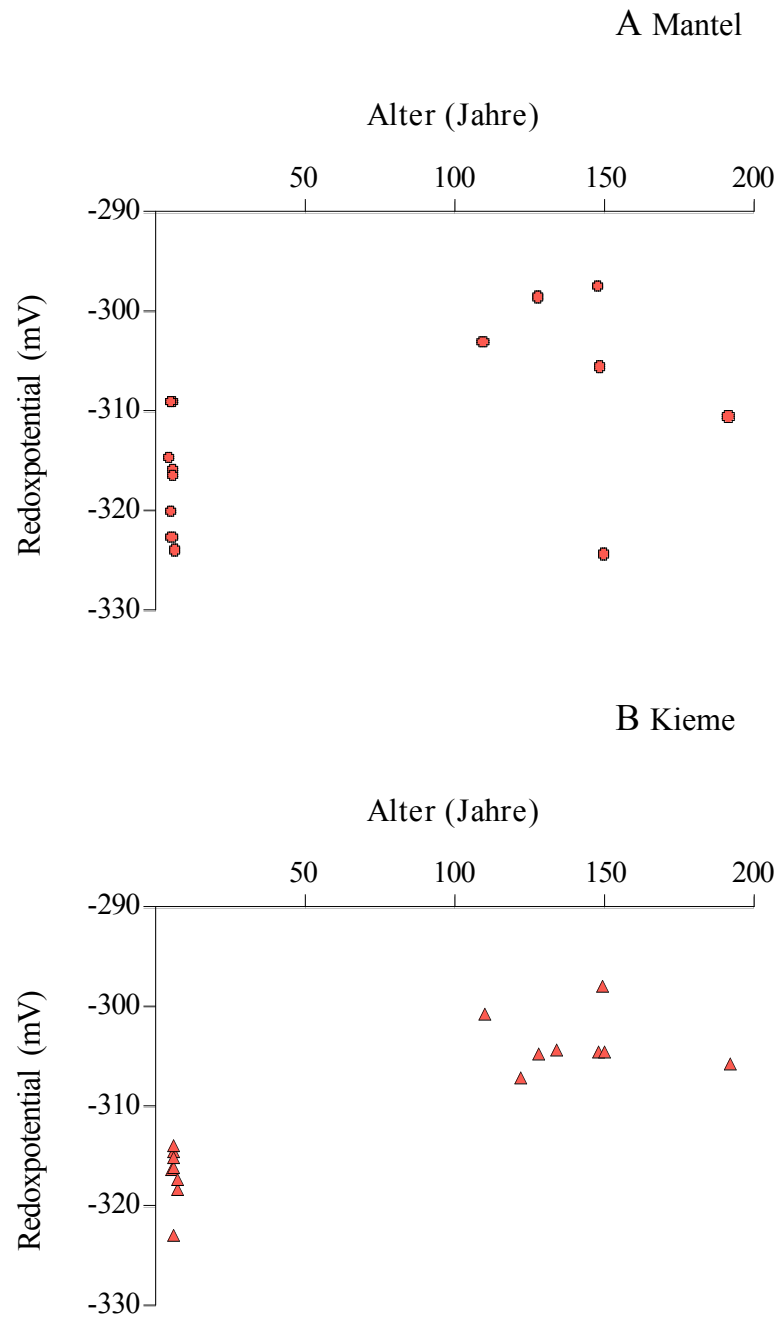


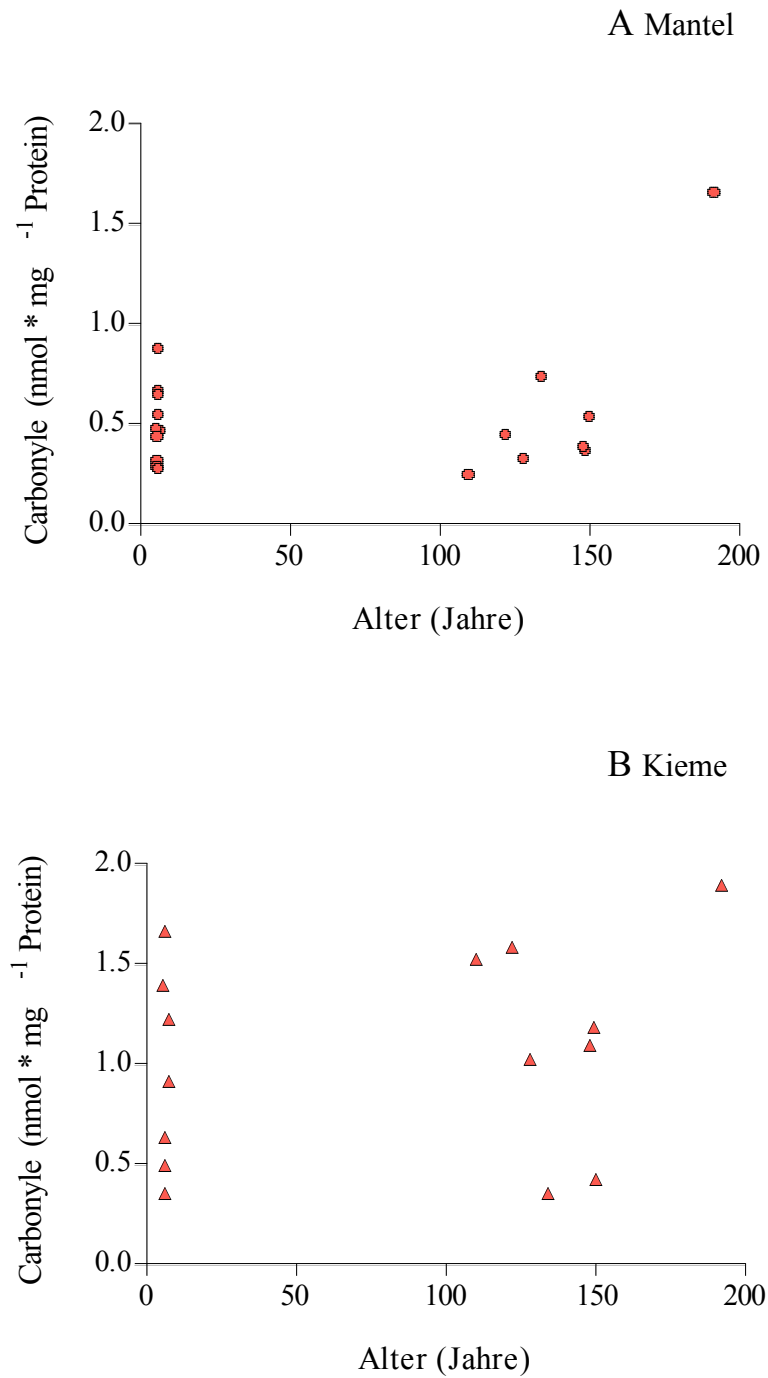
Abb. 3.2.5-3: Redoxpotential in Mantel und Kieme von *A. islandica*, Mai 2005. Jeder Datenpunkt repräsentiert 1 Tier und beruht auf 2 Messungen.

### 3.3 Altersabhängigkeit von Proteinoxidation und Lipofuszinanreicherung im Gewebe

Dargestellt werden der Gehalt an Proteincarbonylen als Marker für die Proteinoxidation im Mantel und in der Kieme von *A. islandica* mit zunehmendem Alter, sowie die Akkumulation von Lipofuszin (fluoreszierende Alterspigmente) im Mantel, in der Kieme und im Schließmuskel von jungen (6-11 Jahre) und alten (110-192 Jahre) Tieren.

#### 3.3.1 Die Proteinoxidation mit zunehmendem Alter

Der Carbonylgruppengehalt wurde ausschließlich in den Tiere aus dem Jahr 2005 bestimmt. Dabei bestanden weder signifikante Unterschiede zwischen Mantel und Kieme, noch wurden in den beiden Geweben signifikante Veränderungen mit zunehmendem Alter festgestellt. Im Mantel lag der Carbonylgruppengehalt der 5 bis 8 Jahre alten *A. islandica* bei  $0.49 \pm 0.19$  und der 110 bis 192 Jahre alten Tiere bei  $0.58 \pm 0.46$  nmol \* mg<sup>-1</sup> Protein (Abb. 3.3.1-1 A). In der Kieme streuten die Werte sehr stark, wobei in den 5 bis 8 Jahre alten *A. islandica*  $0.96 \pm 0.49$  und in den 110 bis 192 Jahre alten Tieren  $1.14 \pm 0.54$  nmol \* mg<sup>-1</sup> Protein gemessen wurde (Abb. 3.3.1-1 B).

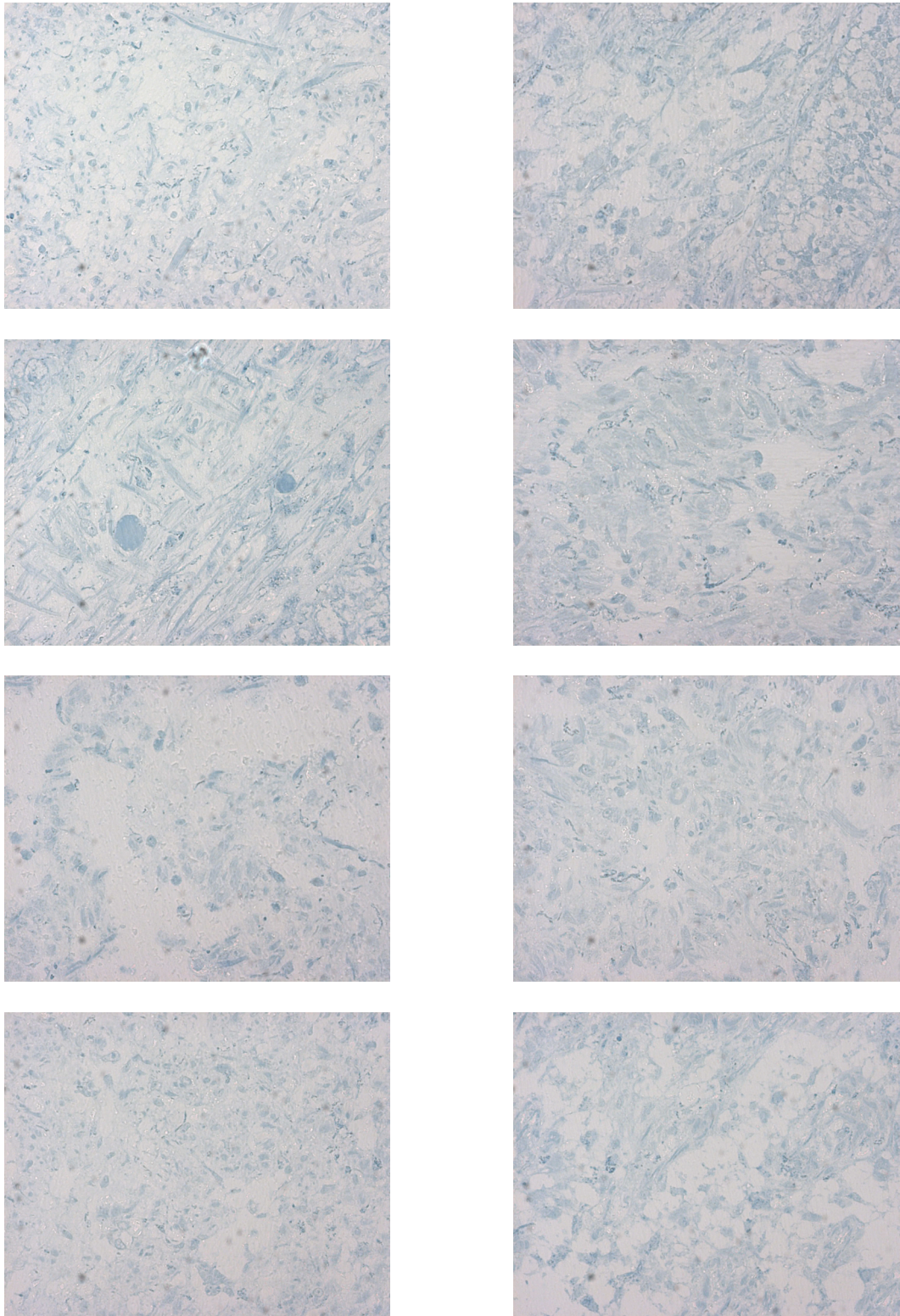


**Abb. 3.3.1-1: Carbonylgruppengehalt in Mantel und Kieme von *A. islandica*, Mai 2005. Jeder Datenpunkt repräsentiert 1 Tier und beruht auf 2 Messungen.**

### 3.3.2 Die Lipofuszin-Akkumulation mit zunehmendem Alter

In den nach Schmorl angefärbten Mantel- und Kiemenproben der 110 bis 192 Jahre alten *A. islandica* wurden im Gegensatz zu den 6 bis 11 Jahre alten Tieren tiefblaue Lipofuszin-Aggregate sichtbar (Abb. 3.3.2-1, 3.3.2-2, 3.3.2-3, 3.3.2-4). Im Schließmuskel konnten weder in den jungen noch in den 110 bis 192 Jahre alten Tieren Lipofuszin-Akkumulationen nachgewiesen werden (Abb. 3.3.2-5).

Zusätzlich wurde in den Gewebeproben des Mantels, der Kieme und des Schließmuskels jeweils eine H&E-Färbung (Gills Hämatoxylin & Eosin) durchgeführt, um die Zellstrukturen darzustellen. Die Zellkerne wurden dabei als dunkle Punkte im Gewebe sichtbar. Der Schließmuskel unterschied sich von Mantel und Kieme bezüglich der Zelleigenschaften. Die bläulich-pinken Mantel- und Kiemenzellen waren stärker basophil als die Schließmuskelzellen, welche intensiv pink erschienen (Abb. 3.3-6, 3.3-7, 3.3-8).



**Abb. 3.3.2-1: Mantelgewebe 6 - 11 Jahre alter *A. islandica*, Mai 2005, Schmorl-Färbung, Vergrößerung 40 x.**

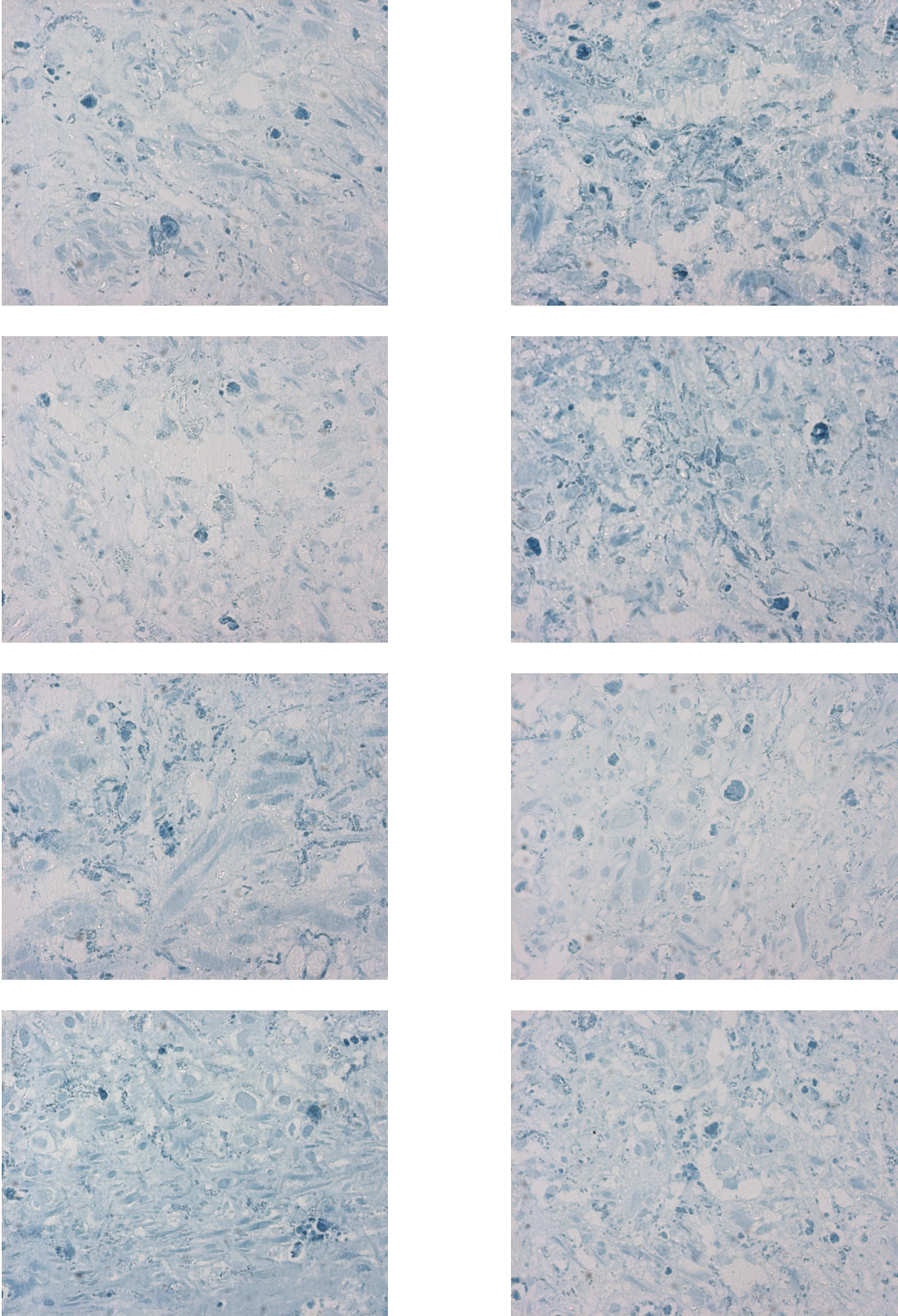
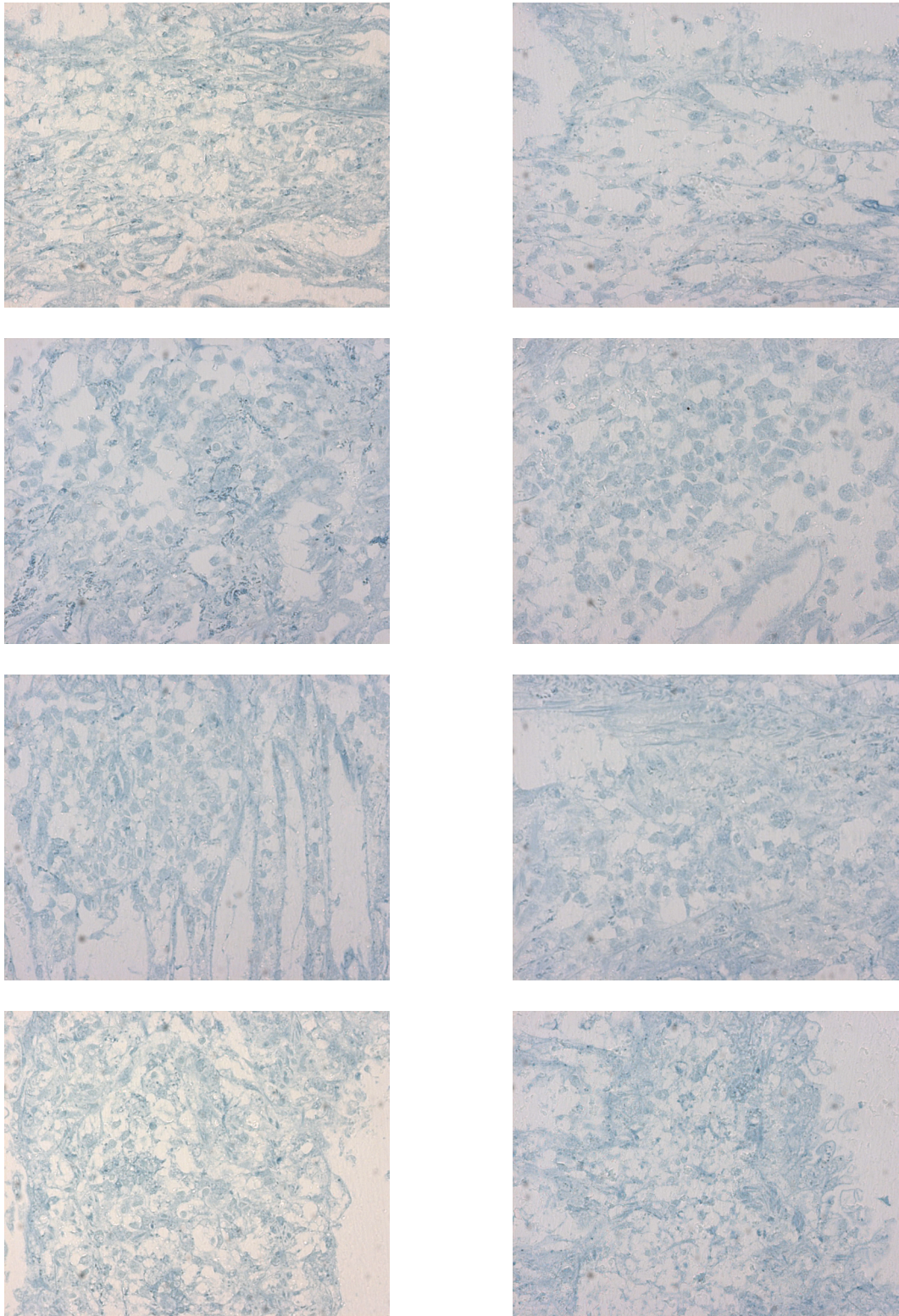
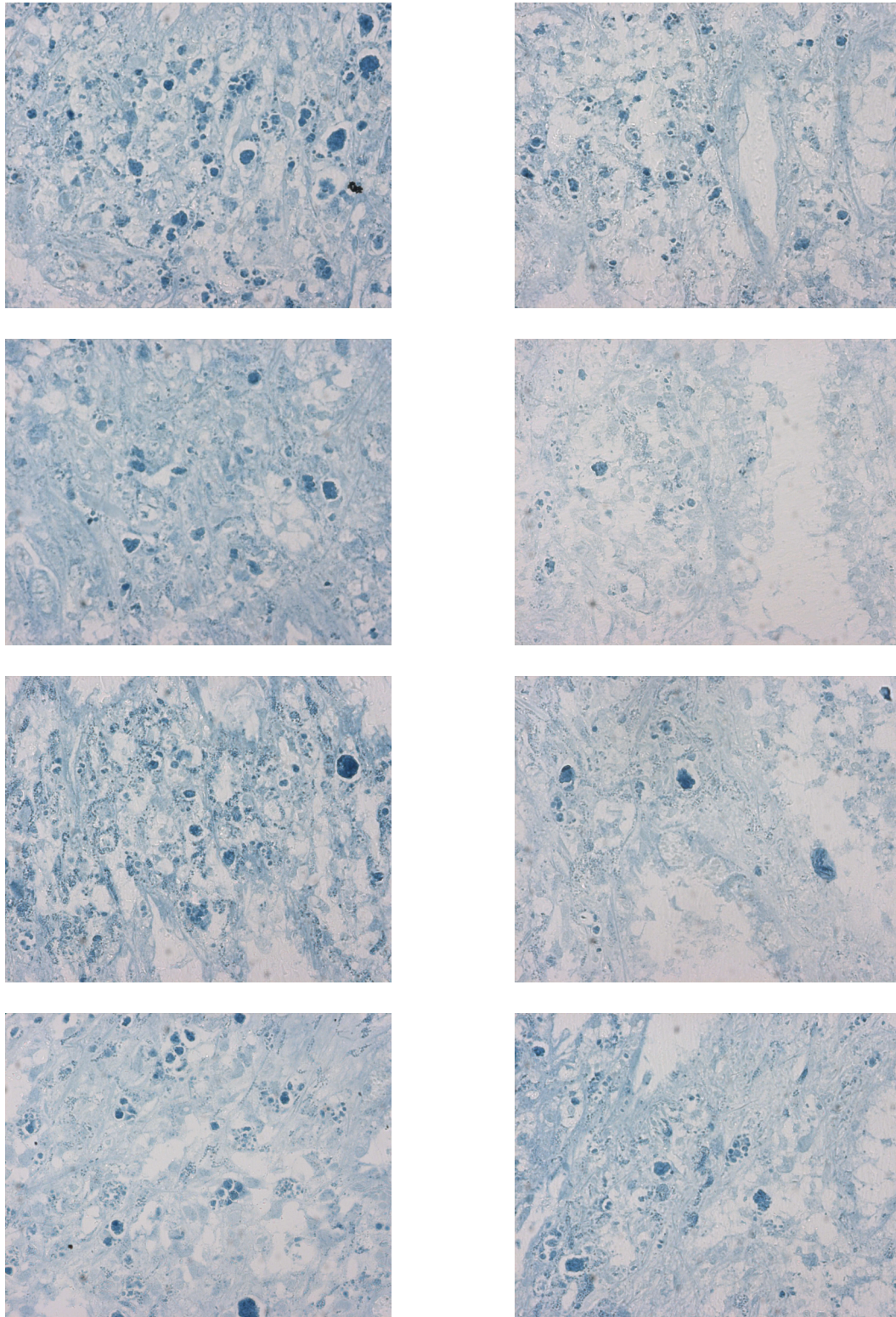


Abb. 3.3.2-2: Mantelgewebe 110-192 Jahre alter *A. islandica*, Mai 2005, Schmorl-Färbung, Vergrößerung 40 x.



**Abb. 3.3.2-3: Kiemengewebe 6 - 11 Jahre alter *A. islandica*, Mai 2005, Schmorl-Färbung, Vergrößerung 40 x.**



**Abb. 3.3.2-4: Kiemengewebe 110-192 Jahre alter *A. islandica*, Mai 2005, Schmorl-Färbung, Vergrößerung 40 x.**



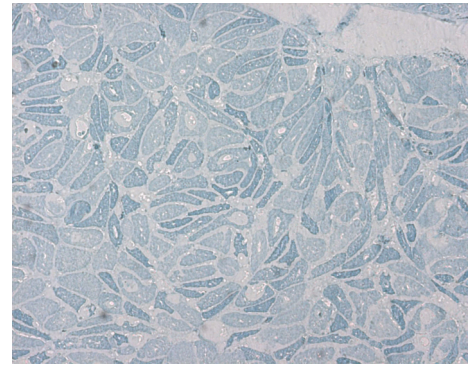
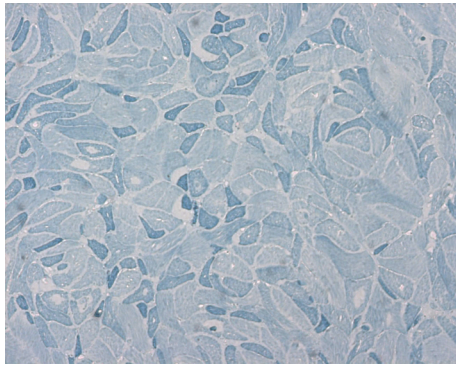


Abb. 3.3.2-5: Muskelgewebe von *A. islandica*, A) 7-jährig B) 122-jährig, Mai 2005, Schmorl-Färbung, Vergrößerung 40 x.

A

B

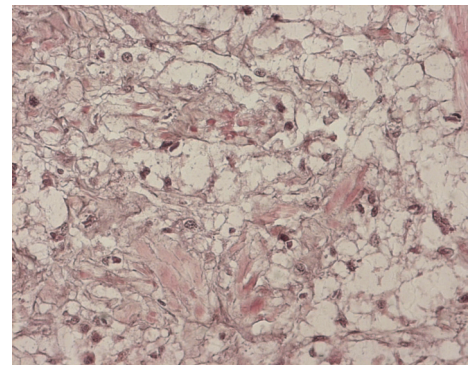
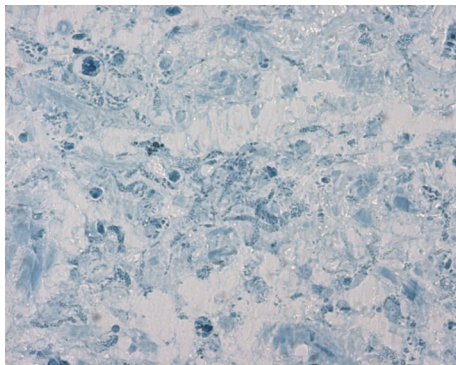


Abb. 3.3.2-6: Mantelgewebe von *A. islandica*, Mai 2005, A) Schmorl-Färbung und B) H&E-Färbung, Vergrößerung 40 x.

A

B

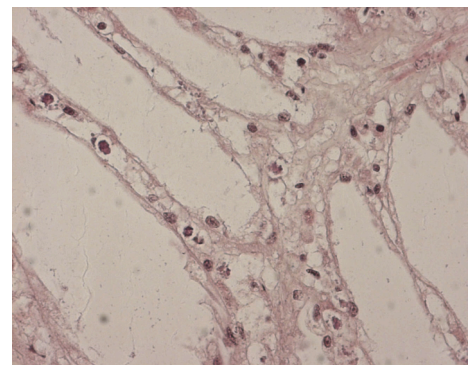
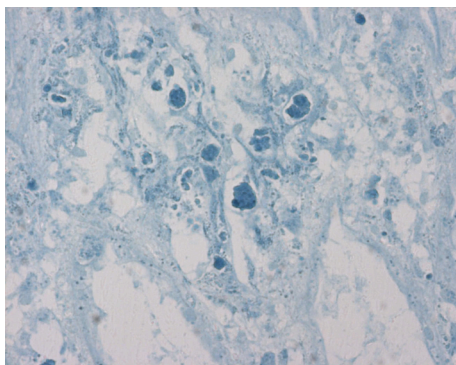


Abb. 3.3.2-7: Kiemengewebe von *A. islandica*, Mai 2005, A) Schmorl-Färbung und B) H&E-Färbung, Vergrößerung 40 x.

A

B

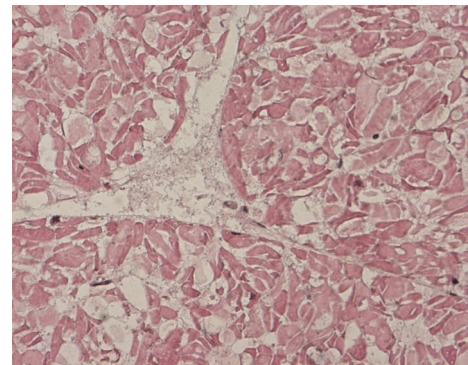
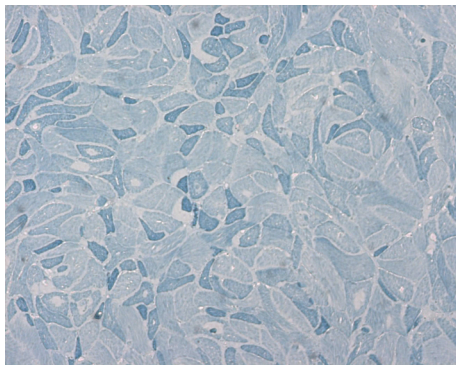


Abb. 3.3.2-8: Schließmuskelgewebe von *A. islandic*, Mai 2005, A) Schmorl-Färbung und B) H&E-Färbung, Vergrößerung 40 x.



## 4 Diskussion

### 4.1 Ändert sich die mitochondriale Respiration von *Arctica islandica* mit zunehmendem Alter?

Die CS-Aktivität im Mantelgewebe von *Arctica islandica* ist höher als die Enzymaktivität in bereits untersuchten Muschelarten. Dabei übersteigt sie mit  $0,09 \pm 0,05 \text{ U} \cdot \text{mg Protein}^{-1}$  selbst die polare *Laternula elliptica*, welche vergleichsweise hohe CS-Aktivitäten von  $0,048 \pm 0,013 \text{ U} \cdot \text{mg Protein}^{-1}$  besitzt, um den doppelten Wert (Tab. 4.1). Mit zunehmendem Alter wurde im Mantel von *A. islandica* keine signifikante Veränderung der mitochondrialen Enzymaktivität beobachtet. Selbst im Mantel der 110 bis 192 Jahre alten Tiere ist die CS-Aktivität nicht signifikant geringer als in den 5 bis 10 Jahre alten Tieren und immer noch höher als in anderen Muschelarten (Tab. 4.1). Eine ähnliche Beobachtung wurde in der polaren Klaffmuschel *Adamussim colbecki* gemacht, bei der die CS- und Cytochrom c-Oxidase (COX)-Aktivitäten bis in hohes Alter stabil blieb, was möglicherweise eine lange maximale Lebensspanne (MLSP) begünstigt. Dagegen geht eine Abnahme der beiden Enzyme mit zunehmendem Alter mit einer reduzierten Geweberespiration und daher offenbar mit einer verminderten mitochondrialen Kapazität einher (Sukhotin und Pörtner 2001; Philipp 2005). Geht man von einem konstanten Verhältnis zwischen CS-Aktivität und mitochondrialer Volumendichte aus, so besitzt die langlebige Muschel *A. islandica* offensichtlich höhere Mitochondriendichten als die bisher untersuchten Muschelarten, und das ohne signifikante Abnahme in der Kapazität des Citratzyklus im Mantelgewebe bis zum maximalen Alter der untersuchten Individuen (110-192 Jahre).

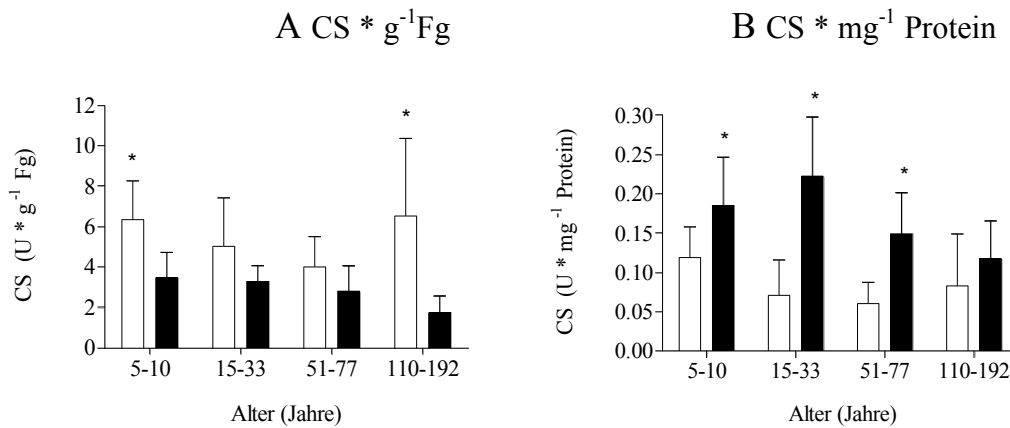
Im Gegensatz dazu nahm die CS-Aktivität in der Kieme mit dem Alter geringfügig ab. Da die Kieme das respiratorische Organ der Muschel ist, sind hier besonders hohe Sauerstoffkonzentrationen zu finden, was eine ROS-Bildung und eine stärkere Oxidation des Gewebes begünstigen könnte (Viarengo et al. 1989; Zielinski und Pörtner 2000). Dies wird in den vorliegenden Daten auch durch das höhere GSSG:GSH-Verhältnis in der Kieme deutlich. Um eine mögliche oxidative Schädigung auszuschließen, müsste eine altersabhängige Messung der Geweberespiration vorgenommen werden.

**Tab. 4.1: Vergleich der Citratsynthase-Aktivität ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein) verschiedener mariner Muschelarten in Mantel (MA) und Kieme (K), Temp = Messtemperatur in °C, \*\* = signifikante Abnahme mit zunehmendem Alter.**

Art	Temp.	Alter (Jahre)	MA	K	Autor
<i>Mya arenaria</i>	20	2-8	0,0018 ± 0,006		Philipp 2005
<i>Laternula elliptica</i>	20	2-30	0,048 ± 0,013		Philipp 2005
<i>Aequipecten opercularis</i>	20	1-5	0,04 **		Philipp 2005
<i>Adamussium colbecki</i>	20	2-16	0,045		Philipp 2005
<i>Arctica islandica</i>	20	5-192	0,09 ± 0,05 **	0,06 – 0,36	eigene Untersuchung

Die im Vergleich zum Mantel signifikant höhere auf den Proteingehalt bezogene CS-Aktivität der Kieme lässt zunächst vermuten, dass in der Kieme eine höhere Mitochondriendichte vorliegt. In den Kiemen der 15 bis 77 Jahre alten *A. islandica* war die Enzymaktivität pro mg Protein im Mittel sogar doppelt so hoch wie im Mantel. *Arctica islandica* gehört zu den Suspensionsfressern und pumpt mit Hilfe der relativ kurzen Siphone Meerwasser in die Mantelhöhle. Die Kieme ist nicht nur respiratorisches Organ der Muschel, sondern dient als Filterapparat zudem der Nahrungsaufnahme (Lau und Wong 2003). Bezieht man die CS-Aktivität aber auf eine Gewichtseinheit Körpergewebe (mg Fg), so ist nicht die Kieme, sondern das Mantelgewebe mit höherer CS-Aktivität und dementsprechend höherer Mitochondriendichte ausgestattet (Abb. 4.1-1).

Citratsynthase war das einzige Enzym, bei dem die auf Protein bezogenen Daten andere Verhältnisse zwischen den Geweben Mantel und Kieme anzeigten, als die auf das Frischgewicht bezogenen Daten. Es sollten stets beide Einheiten gleichermaßen betrachtet werden, denn die auf Protein bezogenen CS-Daten alleine stellen ein falsches Verhältnis in den Geweben dar.



**Abb. 4.1-1: Citratsynthase-Aktivität in Mantel (weiße Säulen) und Kieme (schwarze Säulen) von *A. islandica*, August 2004 und Mai 2005, Messtemperatur 20 °C. Daten sind als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung dargestellt (n = 6 – 14). A) U \* g<sup>-1</sup> Fg, \* = Die CS-Aktivität ist im Mantel der 5-10 und 110-192 Jahre alten Tiere signifikant höher als in der Kieme B) U \* mg<sup>-1</sup> Protein, \* = Die CS-Aktivität ist in der Kieme der 5-77 Jahre alten Tieren signifikant höher als im Mantel.**

## 4.2 Die antioxidativen Kapazitäten im Gewebe von *Arctica islandica*

### 4.2.1 Besitzt *Arctica islandica* als langlebige Art besonders hohe antioxidative Kapazitäten?

Oxidative Zellschädigung findet statt, wenn sich die Produktion von ROS und die Aktivität des antioxidativen Schutzsystems nicht mehr im Gleichgewicht befinden, ausgelöst durch einen Verschleiß der antioxidativen Abwehrmechanismen oder durch vermehrte ROS-Produktion (Sohal 1984; Doyotte et al. 1997). Daher besteht möglicherweise eine positive Korrelation zwischen der MLSP und der Aktivität der antioxidativen Schutzsysteme.

In der vorliegenden Arbeit wurde das antioxidative Schutzsystem der besonders langlebigen *A. islandica* anhand der Enzyme Superoxiddismutase (SOD) und Katalase (KAT) sowie des Redoxfängers Glutathion untersucht. Aus den Ergebnissen ging hervor, dass *A. islandica* insgesamt vergleichbare oder höhere antioxidative Kapazitäten aufweist als andere Muschelarten (Tab. 4.2, 4.3, 4.4). Möglicherweise wird der Alterungsprozess von *A. islandica* durch einen hohen antioxidativen Schutz verlangsamt und die MLSP verlängert.

*Laternula elliptica* und *Mya arenaria* sind ebenso wie *A. islandica* Filtrierer und leben eingegraben im Boden. Die ähnliche Lebensweise ermöglicht einen Vergleich dieser drei unterschiedlichen Muschelarten (Hardy 1972; Lewis et al. 2001; Liehr et al. 2005; Philipp

2005). *Arctica islandica*, mit einem maximalen Fundalter<sup>1</sup> von 374 Jahren, wies im Mantelgewebe ähnliche antioxidative Kapazitäten auf wie *L. elliptica* mit einem maximalen Fundalter<sup>1</sup> von etwa 36 Jahren (Philipp 2005). *Mya arenaria*, mit einem kürzeren maximalen Fundalter<sup>1</sup> von 10-12 Jahren (Strasser 1999) hingegen, wies eine geringere Katalase-Aktivität und einen geringeren Gesamtglutathiongehalt (GSH<sub>ges</sub>) als beide Arten und eine höhere Superoxiddismutase-Aktivität als *A. islandica* auf (Tab. 4.2, 4.3, 4.4). Insgesamt sind KAT- und SOD-Aktivität sowie GSH<sub>ges</sub>-Gehalt im Mantel von *A. islandica* vergleichbar mit anderen Muschelarten (Tab. 4.5). Im Gegensatz dazu zeigte *A. islandica* in der Kieme die höchsten antioxidativen Kapazitäten aller Muschelarten (Tab. 4.5), was auf eine Tendenz von höheren antioxidativen Kapazitäten mit zunehmender MLSP in diesem Gewebe hindeutet. Die SOD-Aktivität in der Kieme der Islandmuschel erreichte den bis zu 30-fachen Wert der Vergleichsarten (Tab. 4.3) und auch die KAT-Aktivität war im Kiemengewebe von *A. islandica* am höchsten. *Nacella concinna* und *Cerastoderma edule* wiesen annähernd hohe KAT-Aktivitäten auf, aber ein direkter Vergleich zwischen Arten aus dem Eulitoral und dem Sublitoral ist nicht aussagekräftig (Tab. 4.2). *Arctica islandica* hat offensichtlich in der Kieme einen stärkeren antioxidativen Schutz als die anderen Muschelarten, was möglicherweise die Langlebigkeit dieser Tiere begünstigt. Auch im Vergleich zu der aus der Ostsee stammenden *A. islandica* wiesen die isländischen Tiere einen höheren Gesamtglutathiongehalt (GSH<sub>ges</sub>) auf, wobei der Unterschied in der Kieme besonders deutlich wurde. Hier weisen die 2004-Tiere der isländischen *A. islandica* den 3-fachen GSH<sub>ges</sub>-Gehalt der Ostsee-Tiere auf, die 2005-Tiere sogar den 6-fachen GSH<sub>ges</sub>-Gehalt (Tab. 4.4). Wahrscheinlich besitzen die Ostseetiere generell niedrigere antioxidative Kapazitäten, denn auch die KAT-Aktivität war in der Kieme der Ostseetiere mit  $860 \pm 88 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Fg}$  (unveröffentlichte Daten Stefanie Meyer und Doris Abele) 4-fach niedriger als in den isländischen Tieren mit  $4262 \pm 1498 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \text{ Fg}$  (Daten aus der vorliegenden Arbeit bezogen auf g Fg). Bisher wurde für die Ostseetiere ein maximales Fundalter von 80 Jahren nachgewiesen (Murawski et al. 1982). Vermutlich korreliert ein geringeres maximales Lebensalter mit einem niedrigeren oxidativen Schutz. Möglich ist jedoch auch, dass die generell niedrigeren Wassertemperaturen um Island in den Geweben von *A. islandica* einen ganzjährig höheren Gehalt an GSH<sub>ges</sub> und eine höhere KAT-Aktivität induzieren. Um Nordwest-Island liegen die Temperaturen des Oberflächenwassers im jährlichen Verlauf zwischen 3 und 10 °C (www.hafro.is/Sjora), in der Kieler Bucht sind höhere Wassertempe-

---

<sup>1</sup> hier maximales Fundalter angegeben, über maximale Lebensspanne (MLSP) kann keine genaue Aussage getroffen werden

raturen von bis zu 21 °C in Tiefen von 8-13 m zu finden (www.bsh.de/de/Meeresdaten/Beobachtungen/MURSYS-Umweltreportsystem/Ostsee.jsp). Nachweislich besteht ein genereller Trend von höheren antioxidativen Kapazitäten in marinen Tieren aus polaren Lebensräumen verglichen mit Arten aus temperierten Regionen. Dies kann auf einer höheren Sauerstoffkonzentration in kälteren Gewässern und höheren oxidativen Stressraten im Gewebe beruhen. Möglich ist auch, dass antioxidative Enzyme in Tieren aus polaren Regionen stärker synthetisiert werden, um einen Aktivitätsverlust der Enzyme bei niedrigeren Temperaturen auszugleichen. (Abele und Puntarulo 2004).

**Tab. 4.2: Vergleich der Katalase-Aktivität ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein) verschiedener Mollusken im Mantel (MA) und in der Kieme (K), E = eulitorale Arten und alle anderen sublitoral, a = 2004-Tiere, b = 2005-Tiere, Temp = Messtemperatur in °C, ka = keine altersabhängige Untersuchung, \*\* = signifikante Abnahme mit zunehmendem Alter.**

Art	Temp.	Alter (Jahre)	MA	K	Autor
<i>Cerastoderma edule</i> (E)	20	ka		135,14 ± 70,8	Abele & Puntarulo 2004
<i>Mya arenaria</i> (E)	20	ka		26,3 ± 17,7	Abele & Puntarulo 2004
<i>Scrobicularia plana</i> (E)	20	ka		127,0 ± 57,02	Abele & Puntarulo 2004
<i>Nacella concinna</i>	20	ka		44,5 ± 21,9	Abele & Puntarulo 2004
<i>Nacella concinna</i> (E)	20	ka		140,2 ± 39,4	Abele & Puntarulo 2004
<i>Yoldia eightsi</i>	20	ka		79,4 ± 16,3	Abele & Puntarulo 2004
<i>Mya arenaria</i>	20	2-8	4		Philipp 2005
<i>Laternula elliptica</i>	20	2-28	77		Philipp 2005
<i>Aequipecten opercularis</i>	20	1-5	12**		Philipp 2005
<i>Adamussium colbecki</i>	20	2-16	10**		Philipp 2005
<i>Perna viridis</i>	?	ka		80	Lau & Wong 2003
<i>Arctica islandica</i>	20	6-78	45,9 ± 28,8	142,9 ± 22 <sup>a</sup>	vorliegende Arbeit
<i>Arctica islandica</i>	20	5-192		341,9 ± 63,4 <sup>b</sup>	vorliegende Arbeit

**Tab. 4.3: Vergleich der Superoxiddismutase-Aktivität ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein) verschiedener Mollusken im Mantel (MA) und in der Kieme (K), E = eulitorale Arten und alle anderen sublitoral, a = 2004-Tiere, Temp = Messtemperatur in °C, ka = keine altersabhängige Untersuchung, \*\* = signifikante Abnahme mit zunehmendem Alter.**

Art	Temp.	Alter (Jahre)	MA	K	Autor
<i>Cerastoderma edule</i> (E)	20	ka		$2,58 \pm 0,6$	Abele & Puntarulo 2004
<i>Mya arenaria</i> (E)	20	ka		$2,26 \pm 1,1$	Abele & Puntarulo 2004
<i>Scrobicularia plana</i> (E)	20	ka		$2,51 \pm 1,9$	Abele & Puntarulo 2004
<i>Nacella concinna</i>	20	ka		$3,80 \pm 2,2$	Abele & Puntarulo 2004
<i>Nacella concinna</i> (E)	20	ka		$4,45 \pm 2,8$	Abele & Puntarulo 2004
<i>Yoldia eightsi</i>	20	ka		$18,75 \pm 1,2$	Abele & Puntarulo 2004
<i>Perna viridis</i>	?	ka		11,5	Lau & Wong 2003
<i>Mya arenaria</i>	20	2-8	27		Philipp 2005
<i>Laternula elliptica</i>	20	5-28	21		Philipp 2005
<i>Aequipecten opercularis</i>	20	1-5	12		Philipp 2005
<i>Adamussium colbecki</i>	20	4-8	10		Philipp 2005
<i>Arctica islandica</i>	20	5-192	$12,16 \pm 5,4^{**}$	$92,9 \pm 36,4^a$	vorliegende Arbeit



**Tab. 4.4: Vergleich der Parameter des Glutathionstoffwechsels A) im Mantel und B) in der Kieme verschiedener mariner Muschelarten, GSH<sub>ges</sub> = Gesamtglutathion (nmol \* g<sup>-1</sup> Fg), GSSG = reduziertes Glutathion (nmol \* g Fg<sup>-1</sup>), GSSG:GSH = Redoxstatus, a = 2004-Tiere, b = 2005-Tiere, O = Ostsee, I = Island, ka = keine altersabhängige Untersuchung, Autoren: 1= Philipp 2005, 2 = Weihe 2005, 3 = Canesi & Viarengo 1997, 4 = eigene Untersuchung, \*\* = signifikante Abnahme mit zunehmendem Alter.**

**A**

Art	Alter (Jahre)	GSH <sub>ges</sub>	GSSG	GSSG:GSH	Autor
<i>Mya arenaria</i>	2	200	30	0,25	1
	8	420	80	0,4	
<i>Laternula elliptica</i>	2	850 **	100	0,15	1
	22	380	55	0,15	
<i>Aequipecten opercularis</i>	1	800 **	49	0,075 **	1
	5	300	13	0,025	
<i>Adamussium colbecki</i>	3	1750 **	298	0,16 **	1
	14	750	430	0,08	
<i>Arctica islandica</i> (O)		249,7 ± 69,3	18,4 ± 12,5	0,09 ± 0,07	2
<i>Arctica islandica</i> (I)	8-77 <sup>a</sup>	315,7 ± 100,4	43,6 ± 19,7	0,2 ± 0,1	4
	5-8 <sup>b</sup>	754,3 ± 152,3 **	179,2 ± 47,4 **	0,43 ± 0,19 **	
	110-192 <sup>b</sup>	304,3 ± 169,4	49,1 ± 52,7	0,17 ± 0,18	

**B**

Art	Alter	GSH <sub>ges</sub>	GSSG	GSSG:GSH	Autor
<i>Mytilus edulis</i>	ka	192,1 ± 5,9			3
<i>Arctica islandica</i> (O)	ka	226,7 ± 120,8	34,7 ± 21,3	0,3 ± 0,34	2
<i>Arctica islandica</i> (I)	8-77 <sup>a</sup>	871,1 ± 280,6	252,3 ± 95,6	0,75 ± 0,25	4
	5-8 <sup>b</sup>	1799 ± 341,6 **	534,2 ± 130,5 **	0,72 ± 0,16**	
	110-192 <sup>b</sup>	1027,5 ± 262	303,7 ± 104,4	0,72 ± 0,16	

**Tab. 4.5 Schematischer Vergleich antioxidativer Kapazitäten von *A. islandica* mit anderen Muschelarten in Mantel (MA) und Kieme (K), GSH<sub>ges</sub> = Gesamtglutathion, KAT = Katalase-Aktivität, SOD = Superoxiddismutase-Aktivität, +/- = *A. islandica* hat ähnliche Kapazität, + = *A. islandica* hat höhere Kapazität.**

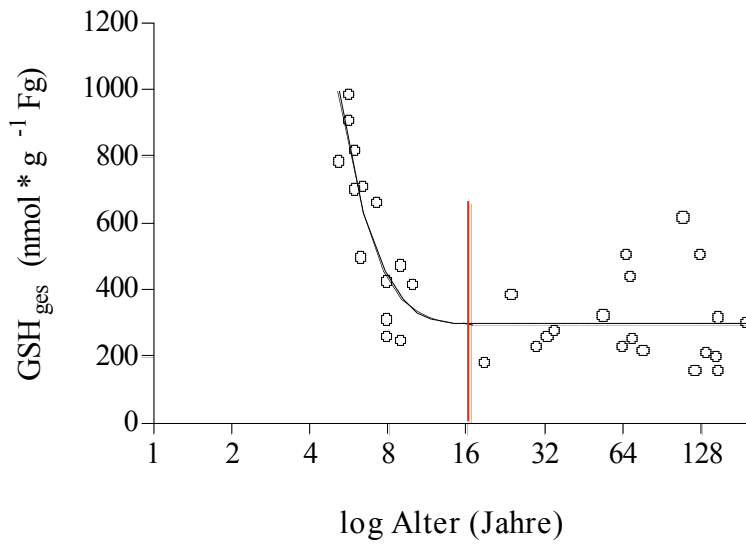
	MA	K
GSH <sub>ges</sub>	+/-	+
KAT	+/-	+
SOD	+/-	+

#### 4.2.2 Kann sich *Arctica islandica* bis ins hohe Alter vor einer oxidativen Schädigung schützen?

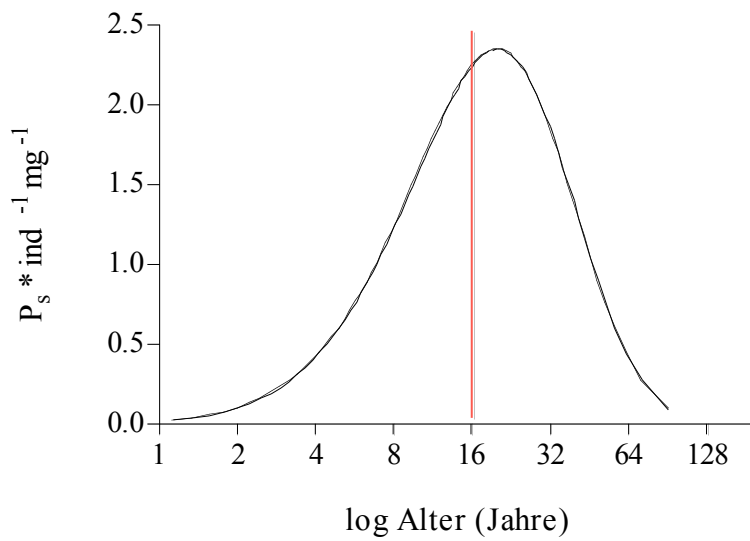
Aus der altersabhängigen Untersuchung des Gewebes von *A. islandica* ging zunächst hervor, dass der GSH<sub>ges</sub>-Gehalt sowohl in der Kieme, als auch im Mantel der im Mai 2005 gefischten *A. islandica* stark abnahm, während in den 2004-Tieren keine Unterschiede zwischen den mittleren Altersklassen zu erkennen waren. Vermutlich findet eine altersabhängige Veränderung von physiologischen Parametern wie dem GSH<sub>ges</sub>-Gehalt in bestimmten Altersphasen statt. Sukhotin und Pörtner (2001) wiesen in *Mytilus edulis* eine zweistufige Abnahme der Citratsynthase-Aktivität in 2 bis 3 sowie 6 bis 7 Jahre alten Individuen nach. Der logarithmisch aufgetragene altersabhängige GSH<sub>ges</sub>-Gehalt bezogen auf Frischgewicht zeigt eine starke Abnahme zwischen dem fünften und achten Lebensjahr und ab dem sechzehnten Lebensjahr bis ins maximal untersuchte Lebensalter relativ stabile Werte in Mantel und Kieme (Abb. 4.2.2-1 A). Dementsprechend ist in den Geweben der Islandmuscheln aus dem Jahr 2004 keine signifikante Abnahme im GSH<sub>ges</sub>-Gehalt zu beobachten, denn es wurden nur mittlere Altersgruppen zwischen 8 bis 77 Jahren untersucht. Die Abnahme des GSH<sub>ges</sub>-Gehalts in den ersten Lebensjahren von *A. islandica* ist vermutlich kein Alterseffekt, sondern ein Massenzuwachseffekt, denn die somatische Produktion nimmt etwa bis zum sechzehnten Lebensjahr der Tiere zu (Abb. 4.2.2-1 B). Die stabilen GSH<sub>ges</sub>-Werte etwa ab dem sechzehnten Lebensjahr bis zum maximalen Alter der Versuchstiere bestätigen dabei, dass die anfängliche Abnahme nicht altersbedingt ist. Sie deuten auf einen stabilen antioxidativen Schutz in den Geweben von *A. islandica*, zumindest über  $\frac{2}{3}$  der gesamten Lebensspanne, hin. Im Gegensatz dazu ist im Mantelgewebe aller Muschelarten, außer in *M. arenaria*, eine kontinuierliche Abnahme des GSH<sub>ges</sub>-Gehalts mit dem Alter zu finden (Philipp 2005; Philipp et al. 2005, in press) (Tab. 4.4). Die KAT-Aktivitäten in Mantel und Kieme von *A. islandica* zeigen bis in das maximal untersuchte Alter der Versuchstiere (110-192 Jahre) konstante Werte und einen stabilen Schutz vor oxidativer Schädigung, wohingegen die SOD-Aktivität im Mantel mit zunehmendem Alter abnahm. Über eine mögliche Abnahme in der Kieme lässt sich spekulieren, denn die SOD-Aktivität wurde nur im Kiemengewebe der 2004-Tiere gemessen, wo sich keiner der untersuchten Parameter mit dem Alter veränderte. Im Vergleich zum GSH<sub>ges</sub>-Gehalt zeigt die logarithmierte Darstellung für die SOD-Aktivität eine sigmoide Abnahme mit zunehmendem Alter (Abb. 4.2.2-2 A). Das Enzym Superoxiddismutase baut die im Organismus entstehenden Superoxidanionradikale (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ab (Fridovich 1978). Eine mit zunehmendem Alter verminderte SOD-Aktivität im Mantel von *A. islandica* deutet im Gegensatz zu KAT-

Aktivität und  $\text{GSH}_{\text{ges}}$ -Gehalt zunächst auf einen verminderten Schutz vor oxidativer Schädigung durch Superoxidanionradikale ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) hin. Die logarithmierte Darstellung der altersabhängigen SOD-Aktivität zeigt aber, dass die Enzymaktivität nur bis zu einem Alter von etwa 64 Jahren abnimmt und anschließend bis zum maximal untersuchten Alter von *A. islandica* relativ stabil bleibt (Abb. 4.2.2-2 A). Dies könnte nicht nur auf einem Alterseffekt, sondern auch auf einem Wachstumseffekt beruhen. Aus der Von Bertalanffy Wachstumsfunktion wird ersichtlich, dass der jährliche Höhenzuwachs der Schalen von *A. islandica* ab einem Lebensalter von etwa 60 Jahren stark vermindert war (Abb. 4.2.2-2 B). Frühere Untersuchungen konnten zeigen, dass in poikilothermen Tieren die Stoffwechsellintensität mit zunehmender Körpergröße bzw. -gewicht abnimmt (Bulnheim 1972; Bulnheim 1974), was nach der „Free Radical-Rate of Living theory“ (Pearl 1928; Harman 1956), mit einer reduzierten ROS-Bildungsrate korreliert (Ku et al. 1993). Möglicherweise nimmt die Aktivität der Superoxiddismutase bis zu einem Lebensalter von 60 Jahren ab, weil sich die ROS-Bildungsrate stetig vermindert und einen im Vergleich zu den jungen Tieren geringeren oxidativen Schutz notwendig macht. Ist die maximale Größe annähernd erreicht, wird weniger Energie ins Wachstum investiert und die Stoffwechselrate (nicht gemessen), die zelluläre ROS-Bildungsrate und die SOD-Aktivität pendeln sich auf stabile Werte ein. Die tendenzielle Abnahme der CS-Aktivität im Mantel von *A. islandica* in den ersten Lebensjahren und die stabilen Werte der 51 bis 192 Jahre alten Tiere sprechen für diese Annahme (s. Abb. 3.2.1-1, 3.2.1-2). Im Gegensatz zu SOD reagieren Katalase und Glutathion nicht nur mit den Sauerstoffradikalen in der Zelle, sondern auch mit den durch äußere Einflüsse entstehenden ROS (Abele-Oeschger 1996), weswegen das Gewebe auch mit zunehmendem Alter maximal vor einer oxidativen Schädigung geschützt werden muss.

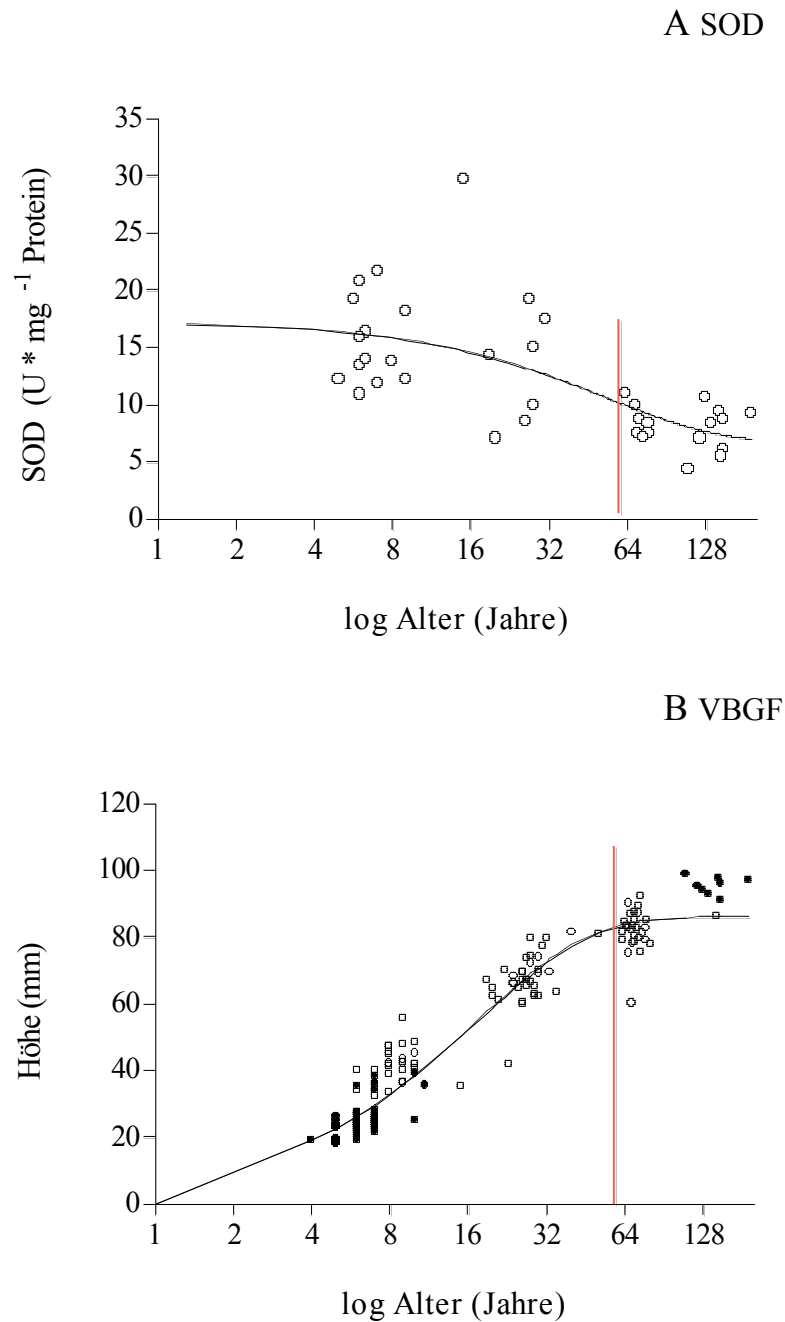
A  $GSH_{ges}$



B  $P_s$



**Abb. 4.2.2-1: A) Gesamtglutathiongehalt im Mantel von *A.islandica*, Regressionsgleichung:  $Y = 13378 * \exp^{(-0,573 * X)} + 296,6$  ( $r^2 = 0,697$ ) und B) somatischer Produktionszuwachs von *A. islandica*, errechnet aus der Von Bertalanffy Wachstumsfunktion:  $H_t = 86 * (1 - e^{-0,057(t + 0,399)})$ , ( $n = 179$ ,  $r^2 = 0,933$ ) und dem Größen (G)-Massen (M)-Verhältnis:  $\log(M) = -3,919 + 3,043 * \log(G)$ , M = mg Nassfrischgewicht.**



**Abb. 4.2.2-2: A) Superoxiddismutase-Aktivität im Mantel von *A. islandica*, Regressionsgleichung:  $Y = 10,64 * \exp^{(-0,018 * X)} + 6,68$  ( $r^2 = 0,44$ ) und B) Wachstumsrate von *A. islandica* nach Von Bertalanffy Wachstumsfunktion:  $H_t = 86 * (1 - e^{-0,057(t + 0,399)})$ , ( $n = 179$ ,  $r^2 = 0,933$ ).**

Zusammenfassend lässt sich die Langlebigkeit von *A. islandica* durch die vergleichsweise hohen antioxidativen Kapazitäten in der Kieme und den mit zunehmendem Alter stabilen Schutz vor antioxidativer Schädigung im Mantel- und Kiemengewebe erklären. Möglicherweise besitzt die Islandmuschel noch einen weiteren „lebensverlängernden“ Mechanismus, welcher mit der „Free Radical-Rate of Living theory“ (Pearl 1928; Harman 1956)

bereinstimmt und nach dem langlebige Organismen weniger ROS produzieren (Ku et al. 1993). In der Abnahme der SOD-Aktivität deutet sich dabei das Herunterfahren des Stoffwechsels und eine geringere ROS-Produktion mit zunehmendem Alter an. Zusätzlich reduziert *A. islandica* die über ihre gesamte Lebenszeit produzierten Sauerstoffradikale vermutlich durch selbst induzierte, aperiodische Stoffwechselreduktion. Dabei graben sich die Tiere für ein bis sieben Tage tiefer in das Sediment ein und können ihre Stoffwechselrate unter anhaltender Hypoxie auf weniger als 1 % des aeroben Wertes reduzieren (Taylor 1976; Oeschger 1990). Dadurch würde das Gewebe von *A. islandica* weniger stark oxidativ geschädigt als in vergleichbaren Arten mit einer höheren ROS-Bildungsrate, der Alterungsprozess würde verlangsamt und die MLSP der Islandmuschel verlängert.

#### **4.2.3 Lassen *Arctica islandica* aus dem Jahr 2004 und 2005 saisonale Unterschiede erkennen?**

Die im Mai 2004 gefischten 5 bis 10 Jahre alten *A. islandica* unterschieden sich bezüglich der Parameter des Glutathionstoffwechsels und der KAT-Aktivität signifikant von den im August 2005 gefischten 5 bis 10 Jahre alten Tieren. Dies lässt zunächst einen saisonalen Effekt vermuten, wie er für Parameter des antioxidativen Schutzsystems in Evertebraten bereits mehrfach nachgewiesen werden konnten (Viarengo et al. 1991; Keller et al. 2004). Möglich ist auch, dass die Unterschiede auf einem Alters- bzw. Wachstumseffekt beruhen, denn die jungen Islandmuscheln aus dem Jahr 2004 waren 6 bis 10 Jahre alt und die 2005-Tiere waren mit 5 bis 8 Jahren durchschnittlich etwas jünger. Im Gegensatz dazu können die Fangorte und mögliche Unterschiede im Sedimenteintrag von Land als Grund vernachlässigt werden, denn die Fangkoordinaten aus dem Jahr 2004 und 2005 (s. 2.1 Material & Methoden) liegen nur 2,5 km voneinander entfernt.

Besonders auffällig war die höhere KAT-Aktivität in der Kieme der 2005-gefischten *A. islandica* im Vergleich zu den Tieren aus dem Jahr 2004. Ein saisonaler Effekt kann aber ausgeschlossen werden, denn in der auf das Frischgewicht bezogenen KAT-Aktivität war kein Unterschied zwischen den beiden Jahren nachzuweisen (Abb. 4.2.3-1). Auch ein Alterseffekt ist ausgeschlossen, da der Gehalt an extrahierbarem Protein nicht nur in den jungen, sondern in allen Tieren des Augusts 2004 doppelt so hoch war wie in Tieren aus dem Mai 2005 (s. Abb. 3.2.4-1 Ergebnisse). Möglicherweise beeinflussen unterschiedliche Nahrungsbedingungen im Mai und August und der Reproduktionsstatus der Tiere die Proteinsyntheseraten, denn im Juli und August ist die Hauptlaichzeit der isländischen *A. islandica*

(Thorarinsdottir und Steingrímsson 2000). Um tatsächliche saisonale Unterschiede im Proteingehalt festzustellen, müsste der Proteingehalt direkt im Gewebe gemessen werden.

Auch der unterschiedliche  $\text{GSH}_{\text{ges}}$ -Gehalt in den Geweben der 2004 und 2005 gefischten *A. islandica* ist vermutlich kein saisonaler Effekt. Aus Abbildung 4.2.2-1 A geht hervor, dass möglicherweise ein Wachstumseffekt zugrunde liegt (s. 4.2.2), denn nur in den ersten 8 Jahren nimmt der  $\text{GSH}_{\text{ges}}$ -Gehalt deutlich ab und bleibt dann bis in die maximal untersuchte Altersklasse von 110-192 Jahren relativ konstant. Da die jungen Tiere aus dem Jahr 2004 im Mittel etwas älter waren, wiesen sie bereits geringere  $\text{GSH}_{\text{ges}}$ -Gehalte als die jungen 2005-Tiere auf.

Die CS- und SOD-Aktivitäten zeigten ebenfalls keine saisonalen Unterschiede.

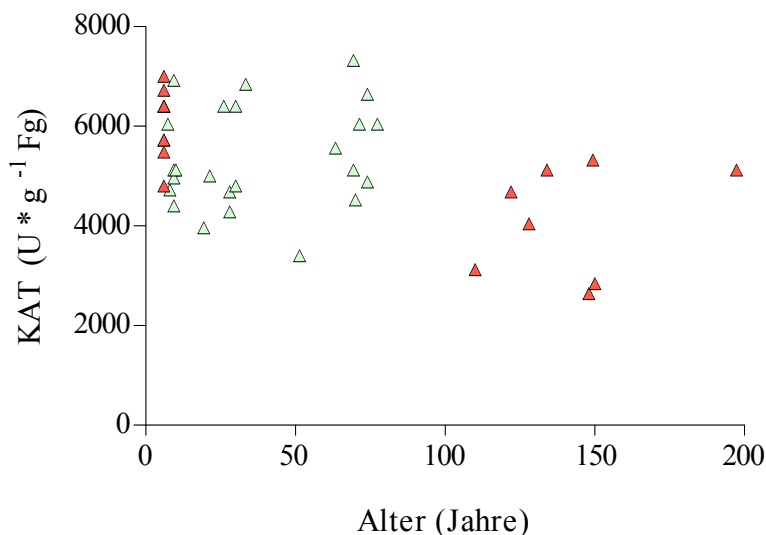


Abb. 4.2.3-1: Katalase-Aktivität in der Kieme von *A. islandica* (grün = Fang 2004, rot = Fang 2005), Messtemperatur 20 °C. Jeder Datenpunkt repräsentiert 1 Tier und beruht auf 3 Messungen.

#### 4.2.4 Warum sind die antioxidativen Kapazitäten in der Kieme höher als im Mantel?

Die Kieme von *A. islandica* wies insgesamt deutlich höhere antioxidative Kapazitäten als der Mantel auf (Tab. 4.4 A / B). Frühere Untersuchungen an Evertebraten konnten besonders hohe Enzymaktivitäten in der Kieme nachweisen (Arun und Subramanian 1998; Zielinski und Pörtner 2000; Lau und Wong 2003). Im Gegensatz zu der isländischen *A. islandica* wurden in den beiden Geweben der Ostseetiere keine Unterschiede im  $\text{GSH}_{\text{ges}}$ -Gehalts gefunden (Weihe 2005) (Tab. 4.3). Da die Kieme eine niedrigere metabolische Kapazität besitzt als der Mantel, angezeigt durch eine geringere CS-Aktivität, können die

höheren antioxidativen Kapazitäten der Kieme nicht primär auf eine zelluläre ROS-Produktion zurückgeführt werden. Vermutlich bedingen in erster Linie äußere Einflüsse einen hohen antioxidativen Schutz im Gewebe. Die Kieme ist gleichzeitig das respiratorische Organ und der Filterapparat der Muschel, welche das eingepumpte Wasser zum Gasaustausch und zur Nahrungsaufnahme aktiv filtert (Gregory et al. 2002; Lau und Wong 2003). Dadurch ist die Kieme die erste Berührungsstelle mit der Umwelt und mit dem einströmenden Wasser können Schwermetalle, PCB's (Polychlorbiphenyle), PAH's (Polycyclische Aromatische Hydrocarbonate) oder Fungizide aufgenommen werden. Diese können den oxidativen Stress im Kiemengewebe erhöhen und dadurch die Aktivität von Katalase und Superoxiddismutase sowie den Glutathiongehalt beeinflussen (Doyotte et al. 1997; Angel et al. 1999; Gregory et al. 2002). Die Kieme ist somit nicht nur erste Berührungsstelle für schädliche Einflüsse aus der Umwelt, sondern auch erste Abwehr. Zudem sind in der Kieme als respiratorisches Organ besonders hohe Sauerstoffkonzentrationen zu finden, was eine ROS-Bildung begünstigt (Viarengo et al. 1989; Zielinski und Pörtner 2000). *Arctica islandica* hat unter normalen Sauerstoffbedingungen die Schale überwiegend geöffnet (persönliche Beobachtung) und weist eine periodische Pumpaktivität auf, unterbrochen durch Ventilationspausen von wenigen Minuten (Brand und Taylor 1974). So werden die Kiemen in Abständen von wenigen Minuten immer wieder von Meerwasser mit hohem Sauerstoffgehalt umspült.

### **4.3 Oxidative Schädigung und die Akkumulation von Oxidationsprodukten mit zunehmendem Alter**

#### **4.3.1 Wird das Gewebe von *Arctica islandica* mit zunehmendem Alter oxidiert?**

Das Redoxpaar GSSG:GSH wird als Indikator für den Redoxstatus der Zelle verwendet (Schafer und Buettner 2001; Philipp 2005). Ein niedriges GSSG:GSH-Verhältnis weist auf einen hohen Anteil an reduziertem Glutathion (GSH) und eine niedrige Oxidationsrate hin. Demnach zeigt die Abnahme von GSSG:GSH im Mantel der im Mai 2005 gefischten *A. islandica* eine mit dem Alter zunehmende Reduzierung des Gewebes. Möglicherweise wird der Stoffwechsel von *A. islandica* mit dem Alter heruntergefahren, wodurch weniger ROS entsteht und der Anteil an GSH zunimmt. Darauf deutete bereits die Abnahme der SOD-Aktivität im Mantel hin. Im Vergleich dazu war der Redoxstatus im Kiemengewebe aller Versuchstiere wesentlich oxidiert, blieb jedoch bis in das maximal untersuchte Alter von 110-192 Jahren stabil. Auch in den Ostseetieren war die Kieme oxidiert als der Man-



tel, angezeigt durch das höhere Verhältnis von GSSG:GSH (Tab. 4.4). Wie bereits durch die höheren antioxidativen Kapazitäten von *A. islandica* angedeutet, ist die Kieme offensichtlich höherem oxidativem Stress ausgesetzt, bedingt durch äußere Einflüsse und direkten Kontakt dieses Gewebes mit sauerstoffreichem Wasser. Dadurch bleiben die ROS-Mengen im Gewebe konstant, selbst wenn der Stoffwechsel mit dem Alter heruntergefahren wird.

Im Gegensatz zum GSSG:GSH-Verhältnis bestanden im Redoxpotential keine Unterschiede zwischen Mantel und Kieme. Die von Weihe (2005) untersuchten *A. islandica* aus der Ostsee zeigten vergleichbare Werte für das Redoxpotential, wobei das Mantelgewebe mit -323,9 mV etwas reduzierter war als das Kiemengewebe mit 306,9 mV. Das mit zunehmendem Alter ansteigende Redoxpotential in beiden Geweben der isländischen *A. islandica* zeigt, dass sich die Zelleigenschaften nicht nur durch das GSSG:GSH-Verhältnis, sondern auch durch die Abnahme des intrazellulären pH ( $\text{pH}_i$ ) maßgeblich verändern. Eine altersabhängige  $\text{pH}_i$ -Abnahme wurde bereits im Gewebe der Muschel *Mytilus edulis* festgestellt (Sukhotin und Pörtner 2001). Obwohl der gesamte Weichkörper von *M. edulis* zur Messung verwendet wurde, sind die  $\text{pH}_i$ -Werte zwischen 6,66 und 6,97 fast identisch mit den in dieser Arbeit gemessenen Werten von *A. islandica*. Zudem entsprachen die  $\text{pH}_i$ -Werte der Ostseetiere mit 6,71 in der Kieme und 6,76 im Mantel etwa den  $\text{pH}_i$ -Werten der 110-192 Jahre alten isländischen *A. islandica*, was auf einem ähnlichen physiologischen Alter der Tiere beruhen könnte. Darüber kann jedoch keine genaue Aussage getroffen werden, da das Alter der Ostseetiere nicht bestimmt wurde. Die  $\text{pH}_i$ -Abnahme im Gewebe von *A. islandica* kann eine verminderte metabolische Rate mit zunehmendem Alter anzeigen, worauf bereits die Abnahme der SOD-Aktivität und des Verhältnisses von GSSG:GSH im Mantel hindeuten. Eine generelle Abnahme des zellulären Metabolismus mit zunehmendem Alter kann einen verminderten ATP-Umsatz und das Herunterfahren der Säure-Base-Regulation in der Zelle bewirken, was sich schließlich in einem Abfall des intrazellulären pH widerspiegelt (Sukhotin und Pörtner 2001).

### 4.3.2 Warum akkumulieren im Gewebe von *Arctica islandica* mit zunehmendem Alter Oxidationsprodukte?

Nach Terman (2001) beruht der Alterungsprozess auf der Akkumulation von nicht abbaubaren Oxidationsprodukten, wie den fluoreszenten Lipofuszinmolekülen, welche sich mit zunehmendem Alter überwiegend in den Lysosomen ablagern und den Zellstoffwechsel behindern. In der vorliegenden Arbeit wurde die Lipofuszin-Akkumulation in Mantel, Kieme und Schließmuskel von *A. islandica* untersucht. Daraus ging hervor, dass sich in Mantel und Kieme mit zunehmendem Alter Lipofuszin ablagert, obwohl *A. islandica* hohe antioxidative Kapazitäten besitzt. Nachweislich begünstigt oxidativer Stress die Akkumulation von Lipofuszin, während antioxidative Enzyme eine Lipofuszinbildung hinauszögern (Brunk und Terman 2002a). Möglicherweise wurde die Lipofuszin-Bildung in den Geweben von *A. islandica* nicht durch intrinsische Zellprozesse, sondern durch äußere Einflüsse beschleunigt. Im Meerwasser um Island kann die Konzentration gelöster Schwermetalle nachweislich durch vulkanische Aktivität erhöht sein (Stefansdottir und Gislason 2005). Muscheln gelten als Bioakkumulatoren für Schwermetalle und organische Schadstoffe und lagern diese sowohl in der Schale als auch im Weichkörper ab (Viarengo et al. 1990; Gregory et al. 2002). Die Kieme ist der beste Bioindikator für den Metallgehalt des Wassers. Gelöste Metalle wie Eisen, Kupfer, Kobalt oder Nickel werden direkt aus dem umgebenden Wasser aufgenommen und reichern sich mit zunehmendem Alter im Kiemengewebe der Muscheln an, wie für die antarktische *Laternula elliptica* gezeigt wurde (Ahn et al. 2001). In der Zelle werden die toxischen Metalle in den Lysosomen gelagert und entgiftet. Dabei reagieren in der Fenton-Reaktion (Halliwell und Gutteridge 1984) Kupfer ( $\text{Cu}^{2+}$ )- und Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ )-Moleküle mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  und produzieren hochreaktive Hydroxylradikale ( $\cdot\text{OH}$ ), welche Lipidperoxidation und Lipofuszinbildung im Muschelgewebe induzieren können (Viarengo et al. 1990). In der Kieme von *Mytilus galloprovincialis* wurden nach der Hälterung in schwermetallhaltigem Wasser vermehrt dichte Molekülaggregate mit hohem Schwermetallgehalt gefunden (Domouhtsidou und Dimitriadis 2000), bei denen es sich vermutlich um Lipofuszinablagerungen handelt und in der Mitteldarmdrüse dieser Tiere stieg der Lipofuszingehalt mit zunehmender Kupfer-Akkumulation an (Viarengo et al. 1990). Nach (Estevez et al. 2002) korreliert die Ablagerungen von Eisen ( $\text{Fe}^{2+}$ ) mit der Rate der Lipidperoxidation im Gewebe von *L. elliptica*, wobei das Eisen wahrscheinlich von vulkanisch entstandenen, Eisen- und Kupfer-haltigen Gebirgen stammt. Der Gasaustausch in Muscheln findet zum großen Teil über die Kiemen statt, aber auch der Mantel ist ein respiratorisches Organ. Möglicherweise wird eine Lipidperoxidati-

on und Lipofuszinbildung in beiden Geweben von *A. islandica* durch die Aufnahme und Ablagerung von gelösten Metallen aus dem umgebenden Wasser induziert. In *M. edulis* wurden im Bindegewebe des Mantels dichte Molekülaggregate gefunden, bei denen es sich möglicherweise nicht um Lysosomen, sondern um Lipofuszinakkumulationen handelte (Lowe und Moore 1979; Domouhtsidou und Dimitriadis 2000). Im Gegensatz zum Mantel- und Kiemengewebe konnte im Schließmuskel von *A. islandica* mit zunehmendem Alter keine Lipofuszinablagerung nachgewiesen werden. Der Muskel dient weder der Nahrungsaufnahme, noch dem Gasaustausch, was eine direkte Aufnahme von Schwermetallen aus der Umwelt und die damit verbundene verstärkte Lipofuszinbildung unwahrscheinlich macht. In diesem Zusammenhang wurden in der polaren *L. elliptica* bei einem Gewebevergleich im Muskel besonders niedrige Metallkonzentrationen gefunden (Ahn et al. 2001). Möglich ist auch, dass die Anfälligkeit für eine Lipofuszinbildung mit dem Gewebe- oder Zelltyp variiert. In der Kieme sind überwiegend Epithelzellen zu finden (Domouhtsidou und Dimitriadis 2000) und der Bindegewebsanteil ist in Mantel und Kieme höher als im Schließmuskel, welcher überwiegend aus Muskelzellen besteht. Möglicherweise lagert sich aufgrund der unterschiedlichen Zelleigenschaften in den Muskelzellen von *A. islandica* kein Lipofuszin ab. Damit übereinstimmend wurden in Mantel und Kieme ausschließlich im Bindegewebe und in den Epithelzellen Lipofuszingranula nachgewiesen, nicht aber in den Muskelzellen.

Durch ihren hohen Eisengehalt begünstigt Lipofuszin die Entstehung von Hydroxylradikalen ( $\cdot\text{OH}$ ) in der Fenton-Reaktion, wodurch die Schädigung der Mitochondrien und der Alterungsprozess der Zelle beschleunigt werden können (Brunk und Terman 2002b; Brunk und Terman 2002a). Die Alterung geht u.a. mit einer verminderten Aktivität des Citratzyklus einher (Perron et al. 2000). Die mit dem Alter gleichbleibend hohe Aktivität der Citratsynthase in Mantel und Kieme von *A. islandica* deutet im Gegensatz dazu auf einen guten Erhalt der mitochondrialen Kapazität im Gewebe hin. Die Untersuchung weiterer Enzyme des Citratzyklus wie z.B. Aconitase wäre sinnvoll, um diese Hypothese zu bestätigen.

In der Vergangenheit wurde die Proteincarbonylbildung bereits mit unterschiedlichen Mechanismen wie der ROS-Bildungsrate, den antioxidativen Kapazitäten, der Abbau- und Reparaturreffizienz oder der Anfälligkeit der Zelle gegenüber oxidativem Stress in Verbindung gebracht. Dabei kann eine hohe Lipofuszinakkumulation die Abbaueffizienz von Proteasomen mit zunehmendem Alter vermindern (Sitte et al. 2000) und dadurch zu einer höheren Proteincarbonyl-Konzentration in der Zelle führen (Agarwal und Sohal 1996; Yan und Sohal 1998; Dunlop et al. 2002). Aus dem unveränderten Proteincarbonylgehalt in

Mantel und Kieme von *A. islandica* geht jedoch hervor, dass sich das Gleichgewicht von Proteinoxidation und Proteinabbau mit zunehmendem Alter nicht verschiebt. Vermutlich findet im Mantel- und Kiemengewebe von *A. islandica* bis in das Alter von 110 bis 192 Jahren weder eine Erhöhung der Proteinoxidationsrate, noch eine Verminderung der Abbaurate oxidierter Proteine statt.

#### **4.4 Schlussfolgerung**

Die vorliegende Arbeit führt zu dem Schluss, dass das Gewebe von *A. islandica* durch hohe antioxidative Kapazitäten bis in das maximal untersuchte Alter von 110 bis 192 Jahren vor einer starken oxidativen Schädigung geschützt wird. Zudem deutet sich an, dass die ROS-Bildungsrate durch ein Herunterfahren des Stoffwechsels mit zunehmendem Alter vermindert sein könnte. Altersabhängige Respirationmessungen könnten diese Hypothese bestätigen. Vermutlich wird der Alterungsprozess in den Geweben von *A. islandica* durch diese beiden Mechanismen verlangsamt und die MLSP der Islandmuschel verlängert. Damit übereinstimmend konnten bis in das maximal untersuchte Alter der Versuchstiere keine Beeinträchtigungen des Zellstoffwechsels nachgewiesen werden.

## 5 Literaturverzeichnis

- Abele D, Puntarulo S (2004) Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 138: 405-415
- Abele-Oeschger D (1996) A comparative study of superoxide dismutase activity in marine benthic invertebrates with respect to environmental sulphide exposure. *Journal of Marine Biology and Ecology* 197: 39-49
- Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126
- Agarwal A, Sohal BH (1996) Relationship between susceptibility to protein oxidation, aging, and maximum life span potential of different species. *Experimental Gerontology* 31: 365-372
- Ahn IY, Kang J, Kim KW (2001) The effect of body size on metal accumulation in the bivalve *Laternula elliptica*. *Antarctic Science* 13: 355-362
- Angel DL, Fiedler U, Eden N, Kress N, Adelung D, Herut B (1999) Catalase activity in macro- and microorganisms as an indicator of biotic stress in coastal waters of the eastern Mediterranean Sea. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 53: 209-210
- Arun S, Subramanian P (1998) Antioxidant enzymes in freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* during embryonic and larval development. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 121: 273-277
- Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S (2003) Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry* 253: 307-312
- Berlett BS, Stadtman ER (1997) Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 272: 20313-20316
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254
- Brand AR, Taylor AC (1974) Pumping activity of *Arctica islandica* (L.) and some other common bivalves. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 3: 1-15
- Brand MD, Chien LF, Ainscow EK, Rolfe DF, Porter RK (1994) The causes and functions of mitochondrial proton leak. *Biochimica et Biophysica Acta* 1187: 132-139
- Brey T (1991) Population dynamics of *Sterechinus antarcticus* (Echinodermata: Echinoidea) on the Weddell Sea shelf and slope, Antarctica. *Antarctic Science* 3 (3): 251-256

- Brey T, Arntz WE, Pauly D, Rumohr H (1990) *Arctica (Cyprina) islandica* in Kiel Bay (Western Baltic): growth, production and ecological significance. *Experimental Marine Biology and Ecology* 136: 217-235
- Brey T, Mackensen A (1997) Stable isotopes prove shell growth bands in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica* to be formed annually. *Polar Biology* 17: 465-468
- Brey T, Pearse J, Basch L, MCCintock J, Slattery M (1995) Growth and production of *Sterechinus neumayeri* (Echinoidea: Echinodermata) in McMurdo Sound, Antarctica. *Marine Biology* 124: 279-292
- Brunk UT, Terman A (2002a) Lipofuscin: Mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function. *Free Radical Biology and Medicine* 33: 611-619
- Brunk UT, Terman A (2002b) The mitochondrial-lysosomal axis theory of aging: accumulation of damaged mitochondria as a result of imperfect autophagocytosis. *European Journal of Biochemistry* 269: 1996-2002
- Bulnheim H-P (1972) Vergleichende Untersuchungen zur Atmungsphysiologie euryhaliner Gammariden unter besonderer Berücksichtigung der Salzgehaltsanpassung. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 23: 485-534
- Bulnheim H-P (1974) Respiratory metabolism of *Idotea balthica* (Crustacea, Isopoda) in relation to the environmental variables, acclimation process and moulting. *Helgoländer Meeresuntersuchungen* 26: 464-480
- Busse EW (1987) Primary and secondary aging. In: Maddox GL, Roth G, Atchley R (eds) *The Encyclopedia of Aging*. Springer, New York, pp 534
- Domouhtsidou GP, Dimitriadis VK (2000) Ultrastructural localisation of heavy metals (Hg, Ag, Pb and Cu) in gills and digestive gland of mussels, *Mytilus galloprovincialis* (L.). *Archives of Environmental Contamination Toxicology* 38: 472-478
- Doyotte A, Cossu C, Jacquin MC, Babut M, Vasseur P (1997) Antioxidative enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquatic Toxicology* 39: 93-110
- Dunlop RA, Rodgers KJ, Dean RT (2002) Recent developments in the intracellular degradation of oxidized proteins. *Free Radical Biology and Medicine* 33: 894-906
- Estevez SM, Abele D, Puntarulo S (2002) Lipid radical generation in polar (*Laternula elliptica*) and temperate (*Mya arenaria*) bivalves. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 132: 729-737
- Fariss MW, Reed DJ (1987) High-performance liquid chromatography of thiols and disulfides: dinitrophenol derivatives. *Methods in Enzymology* 143: 101-109
- Fridovich I (1978) The biology of oxygen radicals. *Science* 201: 875-880

- Gorbi S, Regoli F (2003) Total oxyradical scavenging capacity as an index of susceptibility to oxidative stress in marine organisms. *Comments on Toxicology* 9: 303-322
- Gregory MA, Marshall DJ, George RC, Anandraj A, McClurg TP (2002) Correlation between metal uptake in the soft tissue of *Perna perna* and gill filament pathology after exposure to mercury. *Marine Pollution Bulletin* 45: 114-125
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal* 219: 1-14
- Hardy P (1972) Biomass estimates from some shallow-water infaunal communities at Signy Island, South Orkney Islands. *British Antarctic Survey Bulletin* 31: 93-106
- Harman D (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation biology. *Journal of Gerontology* 11: 298-300
- Herrero A, Barja G (1997) ADP-Regulation of mitochondrial free radical production is different with complex I or complex II linked substrates: implications for the exercise paradox and brain hypermetabolism. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 29: 241-249
- Holmes SP, Witbaard R, van der Meer J (2003) Phenotypic and genotypic population differentiation in the bivalve mollusc *Arctica islandica*: results from RAPD analysis. *Marine Ecology Progress Series* 254: 163-176
- Jones DS (1980) Annual cycle of shell growth increment formation in two continental shelf bivalves and its paleoecologic significance. *Paleobiology* 6: 331-340
- Keller M, Sommer AM, Pörtner HO, Abele D (2004) Seasonality of energetic functioning and production of reactive oxygen species by lugworm (*Arenicola marina*) mitochondria exposed to acute temperature changes. *Journal of Experimental Biology* 207: 2529-2538
- Ku HH, Brunk UT, Sohal RS (1993) Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biology and Medicine* 15: 621-627
- Ku HH, Sohal RS (1993) Comparison of mitochondrial pro-oxidant generation and antioxidant defenses between rat and pigeon: possible basis of variation in longevity and metabolic potential. *Mechanisms of Ageing and Development* 72: 67-76
- Lau PS, Wong HL (2003) Effect of size, tissue parts and location on six biochemical markers in the green-lipped mussel, *Perna viridis*. *Marine Pollution Bulletin* 46: 1563-1572
- Leibovitz BE, Siegel BV (1980) Aspects of free radical reactions in biological Systems: Aging. *Journal of Gerontology* 35: 45-56
- Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz A-G, Ahn B-W, Shaltiel S, Stadtman ER (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology* 186: 464-478

- Lewis CVW, Weinberg JR, Davis CS (2001) Population structure and recruitment of the bivalve *Arctica islandica* (Linnaeus, 1767) on Georges Bank from 1980-1999. *Journal of Shellfish Research* 20: 1135-1144
- Liehr GA, Zettler ML, Leipe T, Witt G (2005) The ocean quahog *Arctica islandica* L.: a bioindicator for contaminated sediments. *Marine Biology* 147: 671-679
- Livingstone DR, Lips F, Garcia Martinez P, Pipe RK (1992) Antioxidant enzymes in the digestive gland of the common mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 112: 265-276
- Lowe DM, Moore MN (1979) The cytochemical distribution of zinc (Zn II) and iron (Fe III) in the common mussel, *Mytilus edulis*, and their relationship with lysosomes. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 59: 851-858
- Lucassen M, Schmidt R, Eckerle LG, Pörtner HO (2003) Mitochondrial proliferation in the permanent vs. temporary cold: enzyme activities and mRNA levels in Antarctic and temperate zoarcid fish. *American Journal of Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 285: 1410-1420
- Manduzio H, Rocher B, Durand F, Galap C, Leboulenger F (2005) The point about oxidative stress in molluscs. *Invertebrate Survival Journal* 2: 91-104
- Merrill AS, Ropes JW (1969) The general distribution of the surf clam and ocean quahaug. *Proceedings of the National Shellfisheries Association* 59: 40-45
- Miquel J (1998) An update on the oxygen stress-mitochondrial mutation theory of aging: genetic and evolutionary implications. *Experimental Gerontology* 33: 113-126
- Murawski SA, Ropes JW, Serchuk FA (1982) Growth of the ocean quahog, *Arctica islandica*, in the Middle Atlantic Bight. *Fishery Bulletin* 80: 21-34
- Mutvei H, Westermark T, Dunca E, Carell B, Forberg S, Bignert A (1994) Methods for the study of environmental changes using the structural and chemical information in molluscan shells. *Bulletin de l'Institut océanographique, Monaco* 13: 163-186
- Nicol D (1951) Recent species of the Veneroid pelecypod *Arctica*. *Journal of the Washington Academy of Science* 41: 102-106
- Nohl H, Gille L, Staniek K (2004) The mystery of reactive oxygen species derived from cell respiration. *Acta Biochimica Polonica* 51: 223-229
- Oeschger R (1990) Long-term anaerobiosis in sublittoral marine invertebrates from the Western Baltic Sea: *Halicryptus spinulosus* (Priapulida), *Astarte borealis* and *Arctica islandica* (Bivalvia). *Marine Ecology Progress Series* 59: 133-143
- Pamplona R, Portero-Otin M, Riba D, Ruiz C, Prat J, Bellmunt MJ, Barja G (1998) Mitochondrial membrane peroxidizability index is inversely related to maximum life span in mammals. *Journal of Lipid Research* 39: 1989-1994



- Pearl R (1928) The rate of living. Alfred Knopf, New York
- Pearse AGE (1960) Histochemistry. Theoretical and Applied. Littel Brown & Co, Boston
- Perron JT, Tyson RL, Sutherland GR (2000) Maintenance of tricarboxylic acid cycle kinetics in Brown-Norway Fischer 344 rats may translate to longevity. Neuroscience Letters 281: 91-94
- Petersen CGJ (1915) The animal communities in the Skagerak, the Christiania Fjord and the Danish Waters. Report of the Danish biological station XXIII
- Philipp E (2005) Strategies of cellular ageing in polar and temperate marine invertebrates. PhD. Ecophysiology, Bremerhaven
- Philipp E, Brey T, Pörtner H-O, Abele D (2005a) Chronological and physiological ageing in a polar and a temperate mud clam. Mechanisms of Ageing and Development 126: 589-609
- Philipp E, Heilmayer O, Brey T, Abele D, Pörtner H-O (2005, in press) Physiological ageing in a polar and a temperate swimming scallop. Marine Ecology Progress Series
- Philipp E, Pörtner H-O, Abele D (2005b) Mitochondrial ageing of a polar and a temperate mud clam. Mechanisms of Ageing and Development 126: 610-619
- Pörtner HO, Boutilier RG, Tang Y, Toews DP (1990) Determination of intracellular pH and PCO<sub>2</sub> after metabolic inhibition by fluoride and nitrilotriacetic acid. Respiration Physiology 81: 255-274
- Ragnarsson SA, Thórarinsdottier GG (2002) Abundance of Ocean Quahog, *Arctica islandica*, assessed by underwater photography and a hydraulic dredge. Journal of Shellfish Research 21: 673-676
- Romeis B (1948) Mikroskopische Technik. Verlag R., Oldenbourg. München
- Ropes JW, Jones DS, Murawski SA, Serchuk FA, Jerald A (1984) Documentation of annual growth lines in ocean quahog *Arctica islandica* Linné. Fishery Bulletin 82: 1-19
- Ropes JW, Murawski SA (1983) Maximum shell length and longevity in ocean quahogs, *Arctica islandica* Linné. ICES. Council Meeting papers, pp 8
- Rowell TW, Chaisson DR (1983) Distribution and abundance of the ocean quahaug (*Arctica islandica*) and Stimpson's surf clam (*Spisula polynyma*) resource on the Scotian Shelf. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 142: 75 pp.
- Rowell TW, Chaisson DR, McLane JT (1990) Size and age of sexual maturity and annual gametogenic cycle in the ocean quahog, *Arctica islandica* (Linnaeus, 1767), from coastal waters in Nova Scotia, Canada. Journal of Shellfish Research 9: 195-203

- Schafer FQ, Buettner GR (2001) Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radical Biology and Medicine* 30: 1191-1212
- Schmidt RF, Lang F, Thews G (2005) *Physiologie des Menschen*. Springer Medizin Verlag, Heidelberg
- Schöne BR, Freyre Castro AD, Fiebig J, Houk SD, Oschman W, Kröncke I (2004) Sea surface water temperatures over the period 1884-1983 reconstructed from oxygen isotope ratios of a bivalve mollusk shell (*Arctica islandica*, southern North Sea). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 212: 215-232
- Schöne BR, Houk SD, Freyre Castro AD, Fiebig J, Oschman W (2005) Daily growth rates in shells of *Arctica islandica*: Assessing sub-seasonal environmental controls on a long-lived Bivalve Mollusk. *Palaios* 20: 78-92
- Sidell BD, Driedzic WR, Stowe DB, Johnston IA (1987) Biochemical correlations of power development and metabolic fuel preference in fish hearts. *Physiological Zoology* 60(2): 221-232
- Sitte N, Huber M, Grune T, Ladhoff A, Doecke WD, Von Zglinicki T, Davies KJ (2000) Proteasome inhibition by lipofuscin/ceroid during postmitotic aging of fibroblasts. *FASEB Journal* 14: 1490-1498
- Sohal RS (1984) *Metabolic Rate, Free radicals, and Aging*. Raven Press, New York
- Sohal RS (2002) Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radical Biology and Medicine* 33: 37-44
- Staniek K, Nohl H (2000) Are mitochondria a permanent source of reactive oxygen species? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1460: 268-275
- Stefansdottir MB, Gislason SR (2005) Suspended matter/seawater interaction following the 1996 outburst flood from the Vatnajökull Glacier, Iceland. *Geophysical Research Abstracts* 7
- Strasser M (1999) *Mya arenaria*- an ancient invader of the North Sea coast. *Helgolaender Meeresuntersuchungen* 52: 309-324
- Stryer L, Berg J, Tymoczko JL (2003) *Biochemie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- Sukhotin AA, Pörtner HO (2001) Age-dependence of metabolism in mussels *Mytilus edulis* (L.) from the White Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 257: 53-72
- Taylor AC (1976) Burrowing behaviour and anaerobiosis in the bivalve *Arctica islandica* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 56: 95-109

- Terman A (2001) Garbage catastrophe theory of aging: imperfect removal of oxidative damage? Redox Report 6: 15-26
- Thompson I, Jones DS, Ropes JW (1980) Advanced age for sexual maturity in the Ocean Quahog *Arctica islandica* (Mollusca: Bivalvia). Marine Biology 57: 35-39
- Thorarinsdottir G, Einarsson (1996) Distribution, abundance, population structure and meat yield of the Ocean Quahog, *Arctica islandica*, in Icelandic waters. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 76: 1107-1114
- Thorarinsdottir G, Steingrímsson SA (2000) Size and age at sexual maturity and sex ratio in ocean quahog, *Arctica islandica* (Linnaeus, 1767), off Northwest Iceland. Journal of Shellfish Research 19: 943-947
- Viarengo A, Canesi L, Martínez PG, Peters LD, Livingstone DR (1995) Pro-oxidant processes and antioxidant defence systems in the tissues of the Antarctic scallop (*Adamsium colbecki*) compared with the Mediterranean scallop (*Pecten jacobaeus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology 111: 119-126
- Viarengo A, Canesi L, Pertica M, Livingstone DR, Orunesu M (1991) Age-related lipid peroxidation in the digestive gland of mussels: the role of antioxidant defence systems. Experientia 47: 454-457
- Viarengo A, Canesi L, Pertica M, Poli G, Moore MN, Orunesu M (1990) Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus Galloprovincialis* LAM. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 97 C: 37-42
- Viarengo A, Pertica M, Canesi L, Accomando R, Mancinelli G, Orunesu M (1989) Lipid peroxidation and level of antioxidant compounds (GSH, vitamin E) in the digestive glands of mussels of three different age groups exposed to anaerobic and aerobic conditions. Marine Environmental Research 28: 291-295
- Weihe E (2005) Auswirkungen von Hypoxie auf die Islandmuschel *Arctica islandica*: Untersuchungen zum zellulären Redoxpotential und Vorarbeiten für die Messung Hypoxie-induzierter Genexpression. Fachbereich 2, Bremen
- Witbaard R, Bergman MJN (2003) The distribution and population structure of the bivalve *Arctica islandica* L. in the North Sea: what possible factors are involved? Journal of Shellfish Research 50: 11-25
- Wong TP (2001) An old question revisited: Current understanding of Aging theories. McGill Journal of Medicine 6: 41-47
- Yan LJ, Sohal BH (1998) Mitochondrial adenine nucleotide translocase is oxidatively modified during aging. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 95: 12896-12901
- Yu BP (1994) Cellular defence against Damage from reactive oxygen species. Physiological Reviews 74

Zielinski S, Pörtner HO (2000) Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 125: 147-160

Tab. 6-1: Verhältnis Alter-Höhe von *A. islandica*, VBGF Höhe = nach der Von Bertalanffy Wachstumsfunktion berechnete Höhe, ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere

ID-Nr	Alter (Jahre)	Höhe (mm)	VBGF Höhe (mm)	ID-Nr	Alter (Jahre)	Höhe (mm)	VBGF Höhe (mm)
27	6	40,00	26,40	21	27	73,50	68,12
89	6	33,80	26,40	31	27	66,90	68,12
6	7	35,5	29,72	33	28	66,60	69,11
10	7	40	29,72	81	28	74,00	69,11
45	7	34,00	29,72	82	28	72,00	69,11
92	7	32,00	29,72	93	28	79,70	69,11
7	8	47	32,86	19	29	62,10	70,05
26	8	41,80	32,86	64	29	62,50	70,05
34	8	42,00	32,86	67	29	65,00	70,05
44	8	41,00	32,86	4	30	70	70,94
51	8	33,30	32,86	39	30	69,00	70,94
62	8	47,00	32,86	56	30	61,90	70,94
63	8	47,00	32,86	78	30	73,80	70,94
72	8	45,30	32,86	42	31	77,30	71,78
73	8	38,70	32,86	18	32	79,50	72,57
74	8	44,80	32,86	83	33	69,50	73,32
9	9	36,6	35,82	87	35	63,40	74,69
22	9	47,50	35,82	80	40	81,60	77,51
35	9	39,90	35,82	13	51	80,5	81,48
47	9	42,60	35,82	30	63	81,50	83,73
48	9	43,20	35,82	94	63	78,90	83,73
49	9	36,50	35,82	69	64	84,50	83,86
71	9	42,00	35,82	55	65	83,00	83,98
90	9	55,80	35,82	70	65	83,00	83,98
91	9	36,00	35,82	12	66	90	84,09
8	10	41,9	38,61	14	66	82,8	84,09
24	10	48,40	38,61	60	66	75,00	84,09
25	10	40,50	38,61	66	67	86,50	84,20
46	10	45,00	38,61	54	68	81,90	84,30
50	10	41,80	38,61	59	68	60,00	84,30
36	15	35,30	50,42	15	69	83,1	84,39
84	19	67,00	57,71	76	69	78,00	84,39
3	20	64,5	59,29	53	70	87,50	84,48
32	20	62,00	59,29	68	70	78,40	84,48
40	21	61,00	60,77	75	70	84,90	84,48
88	22	70,00	62,18	85	70	80,30	84,48
23	23	41,50	63,51	38	71	82,70	84,57
5	24	67,9	64,76	11	72	88,9	84,65
57	24	66,00	64,76	52	72	87,00	84,65
61	24	65,90	64,76	86	73	79,40	84,72
1	25	64,5	65,94	37	74	92,10	84,79
16	26	59,7	67,06	96	74	75,50	84,79
20	26	60,50	67,06	29	75	81,00	84,86
41	26	67,10	67,06	77	77	82,60	84,98
43	26	69,60	67,06	95	77	79,00	84,98
65	26	69,40	67,06	28	78	84,80	85,04
2	27	65	68,12	79	80	77,90	85,14
17	27	67,00	68,12	58	144	86,00	85,98

ID-Nr	Alter	Höhe	VBGF Höhe	ID-Nr	Alter	Höhe	VBGF Höhe
	(Jahre)	(mm)	(mm)		(Jahre)	(mm)	(mm)
182	4	19	19,17	200	6	35	26,40
122	5	22,9	22,89	101	7	23	29,72
130	5	24,8	22,89	102	7	21,5	29,72
143	5	26,2	22,89	103	7	23,5	29,72
148	5	23,9	22,89	109	7	22,7	29,72
153	5	24,8	22,89	113	7	26,7	29,72
157	5	23	22,89	114	7	26	29,72
178	5	18	22,89	115	7	25,3	29,72
179	5	18	22,89	125	7	25,5	29,72
183	5	19,3	22,89	133	7	24,3	29,72
104	6	20	26,40	134	7	25,2	29,72
107	6	25,3	26,40	137	7	24,7	29,72
108	6	27,2	26,40	147	7	25	29,72
110	6	26,5	26,40	149	7	23,5	29,72
111	6	23,7	26,40	151	7	24	29,72
112	6	25	26,40	170	7	25,8	29,72
116	6	26,4	26,40	171	7	25,8	29,72
117	6	25	26,40	172	7	26,5	29,72
118	6	24,8	26,40	176	7	22,5	29,72
119	6	23,7	26,40	195	7	23,5	29,72
120	6	23,7	26,40	196	7	28	29,72
121	6	24,7	26,40	197	7	37,9	29,72
123	6	23,4	26,40	199	7	36	29,72
124	6	24,5	26,40	202	7	34	29,72
126	6	24	26,40	141	10	24,8	38,61
128	6	25,3	26,40	198	10	39	38,61
129	6	23,5	26,40	201	11	35,4	41,25
131	6	23,5	26,40	206	110	98,9	85,85
132	6	24,5	26,40	205	122	95	85,93
135	6	26,5	26,40	204	128	94	85,95
136	6	26,7	26,40	194	134	92,5	85,96
139	6	23,7	26,40	207	148	97,5	85,99
140	6	27,3	26,40	203	149	96	85,99
144	6	27	26,40	208	150	91	85,99
145	6	27,2	26,40	209	192	97	86,00
152	6	23	26,40				
155	6	22,8	26,40				
156	6	22,5	26,40				
159	6	21,5	26,40				
160	6	21,9	26,40				
161	6	22	26,40				
163	6	19	26,40				
164	6	20,3	26,40				
165	6	20,7	26,40				
167	6	21,8	26,40				
168	6	21,8	26,40				
174	6	22,9	26,40				
175	6	23,5	26,40				

6-2: Citratsynthase (CS)-Aktivität von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K), EA = Enzymaktivität, ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere

Nr.	Alter (Jahre)	EA			EA		
		(U*g <sup>-1</sup> Fg)	MW	STABW	(U*mg <sup>-1</sup> P)	MW	STABW
27 MA	6	7,125	7,101	0,034	0,140	0,139	0,001
		7,076			0,139		
92 MA	7	3,761	3,774	0,019	0,100	0,100	0,001
		3,788			0,100		
22MA	9	5,575	5,605	0,042	0,098	0,099	0,001
		5,634			0,099		
35 Ma	9	5,991	5,991	0,029	0,082	0,082	0,000
		6,020			0,082		
		5,962			0,082		
90 MA	9	6,207	6,195	0,017	0,093	0,093	0,000
		6,184			0,093		
91 MA	9	4,967	5,011	0,106	0,095	0,096	0,002
		5,132			0,098		
		4,934			0,094		
24 MA	10	5,015	5,012	0,005	0,068	0,068	0,000
		5,008			0,068		
8 MA	10	6,733	6,515	0,206	0,113	0,109	0,003
		6,491			0,109		
		6,322			0,106		
36 MA	15	6,524	6,418	0,150	0,197	0,194	0,005
		6,311			0,191		
84 MA	19	3,274	3,314	0,056	0,047	0,048	0,001
		3,354			0,048		
40 MA	21	4,562	4,554	0,010	0,059	0,059	0,000
		4,547			0,059		
41 MA	26	12,079	9,086	4,232	0,148	0,111	0,052
		6,093			0,075		
43 MA	26	3,834	3,925	0,129	0,050	0,051	0,002
		4,016			0,052		
17 MA	27	9,341	9,354	0,018	0,084	0,084	0,000
		9,366			0,084		
33 MA	28	6,131	6,157	0,068	0,074	0,074	0,001
		6,106			0,074		
		6,234			0,075		
93 MA	28	3,669	3,683	0,020	0,051	0,052	0,000
		3,698			0,052		
39 MA	30	2,974	2,998	0,243	0,029	0,029	0,008
		2,997			0,029		
		3,024			0,029		
42 MA	31	2,985	2,968	0,025	0,048	0,047	0,000
		2,940			0,047		
		2,979			0,048		
18 MA	32	2,472	2,461	0,015	0,037	0,037	0,000
		2,450			0,037		
30 MA	63	4,308	4,333	0,036	0,045	0,045	0,000
		4,358			0,045		
94 MA	63	3,867	3,815	0,074	0,041	0,041	0,001
		3,762			0,040		

76 MA	69	2,085	2,076	0,011	0,071	0,070	0,000
		2,068			0,070		
75 MA	70	3,429	3,241	0,180	0,058	0,055	0,003
		3,222			0,055		
		3,071			0,052		
38 MA	71	2,517	2,519	0,041	0,040	0,040	0,001
		2,562			0,041		
		2,479			0,040		
37 MA	74	5,364	5,346	0,025	0,101	0,101	0,000
		5,328			0,100		
96 MA	74	3,165	2,985	0,163	0,041	0,038	0,002
		2,945			0,038		
		2,846			0,036		
29 MA	75	6,979	6,929	0,071	0,114	0,114	0,001
		6,878			0,113		
77 MA	77	3,235	3,229	0,008	0,035	0,035	0,000
		3,224			0,035		
95 MA	77	5,494	5,510	0,023	0,056	0,057	0,000
		5,526			0,057		
58 MA	144	12,309	12,351	0,059	0,223	0,224	0,001
		12,392			0,225		
162 MA	6	8,018	7,966	0,074	0,150	0,149	0,001
		7,913			0,148		
166 MA	6	8,968	8,877	0,080	0,178	0,176	0,002
		8,821			0,175		
		8,842			0,175		
150 MA	6,3	7,013	7,110	0,248	0,147	0,149	0,005
		6,925			0,145		
		7,391			0,155		
177 MA	6,3	10,124	10,074	0,071	0,188	0,187	0,001
		10,023			0,186		
173 MA	7	3,386	3,372	0,020	0,088	0,088	0,001
		3,357			0,087		
206 MA	110	5,166	5,179	0,018	0,039	0,039	0,000
		5,192			0,040		
205 MA	122	3,982	3,950	0,045	0,036	0,035	0,000
		3,919			0,035		
204 MA	128	4,301	4,291	0,014	0,071	0,071	0,000
		4,281			0,071		
194 MA	134	11,463	11,492	0,041	0,141	0,141	0,001
		11,521			0,142		
207 MA	148	10,419	10,491	0,102	0,134	0,135	0,001
		10,563			0,136		
203 MA	149	5,051	5,086	0,050	0,055	0,055	0,001
		5,121			0,055		
208 MA	150	3,381	3,257	0,120	0,033	0,032	0,001
		3,249			0,032		
		3,141			0,031		
209 MA	192	2,358	2,388	0,042	0,027	0,028	0,000
		2,418			0,028		
89 K	6	5,408	5,421	0,019	0,294	0,295	0,001
		5,435			0,296		
10 K	7	2,104	2,102	0,004	0,151	0,151	0,000



		2,099			0,151		
45 K	7	3,935	3,956	0,029	0,187	0,188	0,001
		3,977			0,189		
7 K	8	1,910	1,910	0,000	0,142	0,142	0,000
		1,910			0,142		
35 K	9	1,775	1,778	0,004	0,110	0,110	0,000
		1,780			0,110		
90 K	9	3,285	3,217	0,097	0,183	0,179	0,005
		3,148			0,176		
91 K	9	2,909	2,896	0,019	0,127	0,127	0,001
		2,882			0,126		
8 K	10	2,227	2,191	0,051	0,113	0,111	0,003
		2,155			0,109		
84 K	19	2,779	2,797	0,024	0,222	0,223	0,002
		2,814			0,224		
40 K	21	2,828	2,828	0,000	0,130	0,130	0,000
		2,828			0,130		
41 K	26	3,838	3,803	0,050	0,224	0,222	0,003
		3,768			0,220		
93 K	28	2,882	2,876	0,009	0,193	0,193	0,001
		2,869			0,192		
78 K	30	4,727	4,688	0,056	0,363	0,360	0,004
		4,648			0,357		
83 K	33	2,797	2,744	0,075	0,217	0,213	0,006
		2,691			0,209		
13 K	51	3,231	3,223	0,011	0,238	0,237	0,001
		3,215			0,236		
94 K	63	1,150	1,146	0,006	0,078	0,077	0,000
		1,141			0,077		
76 K	69	2,657	2,670	0,018	0,146	0,146	0,001
		2,682			0,147		
38 K	71	1,766	1,776	0,014	0,167	0,168	0,001
		1,786			0,169		
37 K	74	2,029	2,027	0,003	0,124	0,124	0,000
		2,025			0,123		
96 K	74	2,247	2,243	0,005	0,123	0,123	0,000
		2,239			0,122		
95 K	77	5,028	5,088	0,057	0,201	0,203	0,002
		5,141			0,205		
		5,094			0,203		
77 K	77	4,009	4,011	0,003	0,112	0,112	0,000
		4,013			0,112		
58 K	144	3,319	3,304	0,022	0,187	0,186	0,001
		3,289			0,185		
146 K	5,7	2,864	2,819	0,043	0,171	0,168	0,003
		2,779			0,166		
		2,814			0,168		
158 K	5,7	5,152	5,166	0,019	0,273	0,273	0,001
		5,179			0,274		
154 K	6	4,841	4,896	0,079	0,236	0,238	0,004
		4,952			0,241		
162 K	6	5,226	5,238	0,018	0,272	0,272	0,001
		5,251			0,273		

138 K	6,3	3,197	3,162	0,050	0,168	0,166	0,003
		3,127			0,164		
150 K	6,3	3,474	3,474	0,000	0,161	0,161	0,000
		3,474			0,161		
206 K	110	1,689	1,676	0,018	0,079	0,079	0,001
		1,663			0,078		
205 K	122	1,251	1,273	0,027	0,102	0,104	0,002
		1,266			0,104		
		1,303			0,107		
204 K	128	2,920	2,896	0,034	0,178	0,176	0,002
		2,871			0,175		
194 K	134	0,959	0,970	0,012	0,055	0,056	0,001
		0,983			0,056		
		0,968			0,056		
207 K	148	0,997	0,991	0,009	0,062	0,062	0,001
		0,985			0,061		
203 K	149	1,575	1,575	0,000	0,106	0,106	0,000
		1,575			0,106		
208 K	150	1,748	1,746	0,023	0,159	0,159	0,002
		1,768			0,161		
		1,723			0,157		
209 K	192	1,138	1,143	0,008	0,105	0,105	0,001
		1,148			0,106		

6-3: Katalase (KAT)-Aktivität von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K), EA = Enzymaktivität, ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere

ID-Nr	Alter (Jahre)	EA			EA		
		(U*g <sup>-1</sup> Fg)	MW	STABW	(U*mg <sup>-1</sup> P)	MW	STABW
89 MA	6	3952,25	3952,25	0,00	67,70	67,70	0,00
		3952,25			67,70		
		3952,25			67,70		
34 MA	8	3425,29	3506,84	141,26	45,65	46,74	1,88
		3669,95			48,91		
		3425,29			45,65		
90 MA	9	3425,29	3425,29	0,00	50,39	50,39	0,00
		3425,29			50,39		
		3425,29			50,39		
35 MA	9	1976,13	1927,33	42,26	20,19	19,69	0,43
		1902,94			19,44		
		1902,94			19,44		
91 MA	9	2854,40	2804,33	86,74	50,08	49,20	1,52
		2854,40			50,08		
		2704,17			47,44		
8 MA	10	2335,42	2267,73	58,62	45,70	44,38	1,15
		2233,88			43,72		
		2233,88			43,72		
24 MA	10	3211,21	3211,21	0,00	45,09	45,09	0,00
		3211,21			45,09		
		3211,21			45,09		
36 MA	15	3211,21	3211,21	0,00	62,95	62,95	0,00
		3211,21			62,95		
		3211,21			62,95		
84 MA	19	2568,96	2614,03	78,06	19,95	20,30	0,61
		2568,96			19,95		
		2704,17			21,00		
32 MA	20	2446,63	2372,49	64,21	27,41	26,58	0,72
		2335,42			26,17		
		2335,42			26,17		
40 MA	21	1902,94	1927,33	42,26	15,50	15,69	0,34
		1902,94			15,50		
		1976,13			16,09		
41 MA	26	3952,25	4171,82	190,15	43,08	45,48	2,07
		4281,61			46,67		
		4281,61			46,67		
33 MA	28	2854,40	2910,37	96,94	39,01	39,77	1,32
		3022,31			41,30		
		2854,40			39,01		
78 MA	30	3425,29	3588,39	141,26	24,82	26,00	1,02
		3669,95			26,59		
		3669,95			26,59		
39 MA	30	2446,63	2446,63	0,00	18,98	18,98	0,00
		2446,63			18,98		
		2446,63			18,98		
42 MA	31	3669,95	3669,95	0,00	39,51	39,51	0,00
		3669,95			39,51		
		3669,95			39,51		

83 MA	33	2233,88	2301,58	58,62	22,37	23,05	0,59
		2335,42			23,38		
		2335,42			23,38		
30 MA	63	2854,40	2350,13	438,81	25,30	20,83	3,89
		2055,17			18,21		
		2140,80			18,97		
		2233,88			19,80		
		2233,88			19,80		
94 MA	63	3425,29	3425,29	0,00	36,05	36,05	0,00
		3425,29			36,05		
		3425,29			36,05		
76 MA	69	2568,96	2487,41	70,63	50,84	49,22	1,40
		2446,63			48,42		
		2446,63			48,42		
38 MA	71	2055,17	2114,74	103,18	19,98	20,56	1,00
		2055,17			19,98		
		2233,88			21,72		
		2140,80			20,81		
37 MA	74	2854,40	2854,40	0,00	48,72	48,72	0,00
		2854,40			48,72		
		2854,40			48,72		
77 MA	77	2233,88	2171,83	53,74	17,72	17,22	0,43
		2140,80			16,98		
		2140,80			16,98		
95 MA	77	3211,21	3353,93	123,60	22,10	23,08	0,85
		3425,29			23,57		
		3425,29			23,57		
28 MA	78	3022,31	3022,31	0,00	58,64	58,64	0,00
		3022,31			58,64		
		3022,31			58,64		
166 MA	6	3952,25	3886,38	431,94	80,87	79,52	8,84
		3425,29			70,09		
		4281,61			87,61		
		3952,25			80,87		
		3952,25			80,87		
118 MA	6	4281,61	4281,61	0,00	66,19	66,19	0,00
		4281,61			66,19		
		4281,61			66,19		
150 MA	6,3	4281,61	4171,82	190,15	85,52	83,33	3,80
		4281,61			85,52		
		3952,25			78,94		
177 MA	6,3	4281,61	4171,82	190,15	55,10	40,07	26,04
		4281,61			55,10		
138 MA	6,3	3952,25	3858,15	162,99	82,26	80,30	3,39
		3952,25			82,26		
		3669,95			76,38		
134 MA	7	6422,41	5994,25	741,60	123,10	109,49	23,58
		6422,41			123,10		
173 MA	7	5137,93	5137,93	0,00	124,39	124,39	0,00
		5137,93			124,39		
		5137,93			124,39		
142 MA	7,3	4281,61	4757,34	824,00	108,47	120,52	20,87
		4281,61			108,47		

		5708,81			144,62		
		4670,84			118,33		
206 MA	110	3952,25	3952,25	0,00	29,79	29,79	0,00
		3952,25			29,79		
		3952,25			29,79		
205 MA	122	2233,88	2345,58	193,46	16,11	20,67	7,89
		2233,88			16,11		
204 MA	128	2568,96	2568,96	0,00	30,00	30,00	0,00
		2568,96			30,00		
		2568,96			30,00		
194 MA	134	3952,25	3776,60	304,24	55,37	52,91	4,26
		3425,29			47,98		
		3952,25			55,37		
		3669,95			51,41		
207 MA	148	1834,97	1834,97	0,00	22,14	22,14	0,00
		1834,97			22,14		
		1834,97			22,14		
203 MA	149	4281,61	4062,04	190,15	38,72	36,73	1,72
		3952,25			35,74		
		3952,25			35,74		
208 MA	150	1317,42	1317,42	0,00	10,00	10,00	0,00
		1317,42			10,00		
		1317,42			10,00		
209 MA	192	3211,21	3282,57	123,60	37,58	38,41	1,45
		3211,21			37,58		
		3425,29			40,08		
89 K	6	5708,81	5708,81	0,00	188,69	188,69	0,00
		5708,81			188,69		
		5708,81			188,69		
92 K	7	6422,41	6065,61	412,00	191,95	181,29	12,31
		5708,81			170,62		
		5708,81			170,62		
		6422,41			191,95		
34 K	8	5137,93	4797,60	537,43	150,23	140,28	15,71
		3952,25			115,56		
		4281,61			125,19		
		5137,93			150,23		
		5137,93			150,23		
		5137,93			150,23		
9 K	9	4281,61	4411,35	224,73	109,56	112,88	5,75
		4281,61			109,56		
		4670,84			119,52		
36 K	9	6422,41	6728,24	529,71	158,53	166,08	13,08
		6422,41			158,53		
		7339,90			181,18		
91 K	9	5137,93	5137,93	0,00	119,75	119,75	0,00
		5137,93			119,75		
		5137,93			119,75		
90 K	9	5137,93	4982,23	269,67	120,22	116,58	6,31
		4670,84			109,29		
		5137,93			120,22		
8 K	10	5137,93	5137,93	0,00	155,03	155,03	0,00
		5137,93			155,03		

		5137,93			155,03		
84 K	19	3952,25	3952,25	0,00	142,81	142,81	0,00
		3952,25			142,81		
		3952,25			142,81		
40 K	21	4670,84	5021,16	233,54	134,69	144,79	6,73
		5137,93			148,16		
		5137,93			148,16		
		5137,93			148,16		
41 K	26	6422,41	6422,41	0,00	142,79	142,79	0,00
		6422,41			142,79		
		6422,41			142,79		
93 K	28	4281,61	4281,61	0,00	113,89	113,89	0,00
		4281,61			113,89		
		4281,61			113,89		
33 K	28	4670,84	4670,84	0,00	134,08	134,08	0,00
		4670,84			134,08		
		4670,84			134,08		
39 K	30	5137,93	4826,54	269,67	139,62	131,16	7,33
		4670,84			126,93		
		4670,84			126,93		
78 K	30	6422,41	6422,41	0,00	158,95	158,95	0,00
		6422,41			158,95		
		6422,41			158,95		
83 K	33	5708,81	6932,13	815,54	123,75	150,27	17,68
		7339,90			159,11		
		7339,90			159,11		
		7339,90			159,11		
13 K	51	3425,29	3425,29	0,00	109,11	109,11	0,00
		3425,29			109,11		
		3425,29			109,11		
94 K	63	5708,81	5566,09	285,44	155,63	151,74	7,78
		5137,93			140,07		
		5708,81			155,63		
		5708,81			155,63		
15 K	69	5137,93	5137,93	0,00	156,96	156,96	0,00
		5137,93			156,96		
		5137,93			156,96		
76 K	69	7339,90	7339,90	0,00	166,75	166,75	0,00
		7339,90			166,75		
		7339,90			166,75		
75 K	70	4670,84	4541,10	224,73	138,41	134,57	6,66
		4670,84			138,41		
		4281,61			126,88		
38 K	71	6422,41	6101,29	642,24	160,21	152,20	16,02
		5137,93			128,17		
		6422,41			160,21		
		6422,41			160,21		
37 K	74	6422,41	6101,29	642,24	159,47	151,50	15,95
		5137,93			127,58		
		6422,41			159,47		
		6422,41			159,47		
96 K	74	5137,93	4904,39	269,67	126,62	120,87	6,65
		4670,84			115,11		

		4670,84			115,11		
		5137,93			126,62		
95 K	77	5708,81	6065,61	412,00	112,85	119,91	8,14
		6422,41			126,96		
		6422,41			126,96		
		5708,81			112,85		
158 K	5,7	5708,81	5518,52	329,60	361,95	349,89	20,90
		5708,81			361,95		
		5137,93			325,76		
146 K	5,7	4670,84	4826,54	269,67	415,34	429,19	23,98
		5137,93			456,88		
		4670,84			415,34		
154 K	6	5708,81	5708,81	0,00	350,94	350,94	0,00
		5708,81			350,94		
		5708,81			350,94		
162 K	6	6422,41	6422,41	0,00	337,56	337,56	0,00
		6422,41			337,56		
		6422,41			337,56		
108 K	6	6422,41	6422,41	0,00	307,21	307,21	0,00
		6422,41			307,21		
		6422,41			307,21		
118 K	6	6422,41	6422,41	0,00	415,07	415,07	0,00
		6422,41			415,07		
138 K	6,33	6422,41	6728,24	529,71	431,03	451,56	35,55
		7339,90			492,61		
		6422,41			431,03		
150 K	6,33	7339,90	7034,07	529,71	389,65	373,41	28,12
		7339,90			389,65		
		6422,41			340,94		
206 K	110	3022,31	3148,24	109,06	214,37	223,30	7,74
		3211,21			227,77		
		3211,21			227,77		
205 K	122	4670,84	4670,84	0,00	362,86	362,86	0,00
		4670,84			362,86		
		4670,84			362,86		
204 K	128	4281,61	4062,04	190,15	351,27	333,26	15,60
		3952,25			324,25		
		3952,25			324,25		
194 K	134	5137,93	5225,51	827,76	342,72	348,56	55,21
		6422,41			428,40		
		4670,84			311,56		
		4670,84			311,56		
207 K	148	2704,17	2659,10	78,06	227,58	223,79	6,57
		2704,17			227,58		
		2568,96			216,20		
203 K	149	5137,93	5328,22	329,60	361,51	374,90	23,19
		5708,81			401,68		
		5137,93			361,51		
208 K	150	2854,40	2854,40	0,00	298,21	298,21	0,00
		2854,40			298,21		
209 K	192	5137,93	5137,93	0,00	302,05	302,05	0,00
		5137,93			302,05		
		5137,93			302,05		

6-4: Superoxiddismuase (SOD)-Aktivität von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K),  
EA = Enzymaktivität, ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere

ID-Nr	Alter (Jahre)	EA			EA		
		(U*g <sup>-1</sup> Fg)	MW	STABW	(U*mg <sup>-1</sup> P)	MW	STABW
89 K	6	2320,71	2222,76	88,41	183,67	175,91	7,00
		2347,08			185,75		
		2083,36			164,88		
		2215,22			175,32		
		2215,22			175,32		
		2188,85			173,23		
		2188,85			173,23		
89 MA	6	702,83	736,80	29,18	19,83	20,80	0,83
		693,46			19,56		
		730,94			20,64		
		777,80			21,98		
		749,69			21,17		
		768,43			21,71		
		740,31			20,90		
		730,94			20,64		
92 MA	7	862,05	873,50	11,44	21,38	21,68	0,29
		873,50			21,68		
		884,94			21,97		
34 MA	8	582,63	561,93	17,53	14,25	13,76	0,42
		582,63			14,25		
		563,53			13,80		
		544,42			13,35		
		553,97			13,58		
		544,42			13,35		
90 MA	9	794,18	768,68	41,86	12,54	12,15	0,63
		706,75			11,22		
		794,18			12,54		
		779,61			12,32		
91 MA	9	693,46	702,83	7,65	17,88	18,14	0,21
		702,83			18,14		
		702,83			18,14		
		712,20			18,40		
36 MA	15	668,59	661,43	9,14	29,99	29,67	0,40
		649,49			29,15		
		668,59			29,99		
		659,04			29,57		
84 MA	19	673,77	645,43	18,89	14,89	14,28	0,41
		664,32			14,69		
		635,99			14,08		
		635,99			14,08		
		626,54			13,87		
		635,99			14,08		
32 MA	20	639,31	641,60	4,58	7,00	7,02	0,05
		639,31			7,00		
		639,31			7,00		
		648,47			7,10		
20 MA	26	660,63	675,90	32,77	8,24	8,43	0,40
		651,09			8,12		



		651,09			8,12		
		727,41			9,06		
		689,25			8,59		
31 MA	27	784,65	791,80	9,13	19,01	19,18	0,22
		803,73			19,47		
		784,65			19,01		
		794,19			19,24		
33 MA	28	746,22	743,78	24,42	9,98	9,95	0,32
		716,92			9,60		
		736,45			9,85		
		775,52			10,37		
93 MA	28	759,06	742,66	26,92	15,36	15,02	0,55
		702,83			14,20		
		759,06			15,36		
		749,69			15,16		
42 MA	31	795,12	801,24	19,80	17,31	17,44	0,45
		813,46			17,72		
		776,79			16,89		
		831,79			18,14		
		785,96			17,10		
		804,29			17,51		
94 MA	63	770,51	770,51	0,00	10,89	10,89	0,00
		770,51			10,89		
		770,51			10,89		
76 MA	69	751,58	761,16	7,82	9,78	9,91	0,11
		761,16			9,91		
		761,16			9,91		
		770,73			10,04		
75 MA	70	713,29	705,63	20,76	7,57	7,48	0,23
		674,99			7,13		
		722,86			7,67		
		694,14			7,35		
		722,86			7,67		
38 MA	71	801,70	813,42	39,23	8,57	8,69	0,41
		848,58			9,05		
		801,70			8,57		
		766,54			8,20		
		872,02			9,30		
		789,98			8,44		
96 MA	74	777,80	773,11	9,37	7,21	7,17	0,09
		777,80			7,21		
		777,80			7,21		
		759,06			7,03		
77 MA	77	569,87	579,31	25,58	8,15	8,28	0,36
		617,09			8,81		
		569,87			8,15		
		560,42			8,02		
95 MA	77	658,66	691,30	54,31	7,18	7,52	0,57
		681,98			7,42		
		623,69			6,82		
		751,92			8,15		
		740,26			8,03		
58 MA	144	594,67	576,00	21,55	9,76	9,45	0,36

		557,33			9,14		
		557,33			9,14		
		594,67			9,76		
173 MA	3	548,58	545,09	16,60	11,89	11,82	0,36
		555,55			12,04		
		520,69			11,28		
		555,55			12,04		
181 MA	5	604,29	539,45	70,50	13,70	12,19	1,64
		592,65			13,43		
		546,10			12,34		
		604,29			13,70		
		522,83			11,80		
		412,27			9,22		
		493,73			11,12		
158 MA	5,67	604,24	626,21	38,08	18,61	19,24	1,08
		640,86			19,65		
		628,65			19,30		
		665,27			20,34		
		585,93			18,10		
		567,62			17,58		
		585,93			18,10		
		659,17			20,17		
		677,48			20,68		
		646,96			19,82		
129 MA	6	625,40	586,49	36,60	14,19	13,34	0,80
		567,76			12,93		
		625,40			14,19		
		546,14			12,46		
		567,76			12,93		
166 MA	6	607,41	620,44	12,85	10,64	10,87	0,23
		625,19			10,96		
		637,04			11,17		
		607,41			10,64		
		625,19			10,96		
154 MA	6	683,04	599,46	60,84	17,98	15,85	1,55
		524,53			13,94		
		625,40			16,51		
		603,78			15,96		
		560,55			14,86		
150 MA	6,33	528,58	601,39	54,38	14,35	16,29	1,45
		658,03			17,80		
		620,27			16,79		
		598,70			16,22		
177 MA	6,33	755,11	716,59	27,32	14,59	13,86	0,52
		708,88			13,72		
		693,47			13,42		
		670,36			12,99		
		716,59			13,86		
		716,59			13,86		
		724,29			14,01		
		747,41			14,44		
205 MA	110	487,63	485,56	9,47	4,35	4,33	0,09
		493,83			4,40		

		475,23			4,24		
207 MA	122	474,21	481,70	45,70	6,92	7,02	0,66
		438,29			6,40		
		468,23			6,83		
		546,06			7,95		
204 MA	128	594,31	596,87	11,76	10,48	10,53	0,21
		609,70			10,75		
		586,61			10,35		
203 MA	134	739,95	769,10	32,23	7,95	8,27	0,35
		748,92			8,04		
		811,71			8,73		
		775,83			8,34		
208 MA	148	521,36	547,81	27,80	5,17	5,44	0,28
		535,60			5,31		
		571,21			5,67		
		535,60			5,31		
		599,70			5,95		
		542,72			5,38		
		528,48			5,24		
206 MA	149	820,68	783,31	30,77	6,40	6,11	0,24
		739,95			5,76		
		757,89			5,90		
		802,74			6,26		
		802,74			6,26		
		775,83			6,05		
194 MA	150	628,65	540,59	44,69	10,01	8,72	0,65
		537,10			8,67		
		567,62			9,12		
		506,58			8,22		
		500,48			8,13		
		518,79			8,40		
		524,90			8,49		
209 MA	192	564,09	553,41	22,14	9,37	9,20	0,37
		521,36			8,66		
		556,97			9,26		
		571,21			9,49		
92 K	7	1166,70	1229,95	46,62	110,04	116,01	4,40
		1279,15			120,65		
		1236,98			116,67		
		1236,98			116,67		
90 K	9	995,01	999,71	8,15	60,78	61,06	0,50
		995,01			60,78		
		1009,12			61,64		
35 K	9	1197,66	1183,51	14,15	126,83	125,33	1,50
		1169,37			123,83		
		1183,51			125,33		
91 K	9	1543,21	1516,61	22,90	162,56	159,76	2,41
		1525,48			160,70		
		1507,74			158,83		
		1490,00			156,96		
9 K	9	1140,67	884,81	361,84	92,75	92,75	0,00
		628,95			92,75		
84 K	19	750,33	786,19	30,39	67,68	70,91	2,74

		772,40			69,67		
		805,50			72,65		
		816,54			73,65		
3 K	20	1085,43	1070,63	38,22	81,35	80,24	2,86
		1115,03			83,57		
		1026,23			76,92		
		1055,83			79,13		
23 K	23	1112,78	1112,78	36,89	72,10	72,10	2,39
		1126,93			73,02		
		1056,20			68,43		
		1169,37			75,77		
		1098,64			71,18		
		1112,78			72,10		
41 K	26	1076,69	1074,37	26,96	78,46	78,29	1,96
		1021,12			74,41		
		1090,58			79,47		
		1090,58			79,47		
		1090,58			79,47		
		1076,69			78,46		
93 K	28	1738,33	1707,29	22,32	124,40	122,17	1,60
		1702,86			121,86		
		1702,86			121,86		
		1685,12			120,59		
78 K	30	1529,56	1516,37	26,37	127,78	126,68	2,20
		1494,40			124,84		
		1547,14			129,25		
		1494,40			124,84		
83 K	33	1182,32	1165,73	43,07	100,58	99,17	3,66
		1209,98			102,94		
		1113,18			94,70		
		1196,15			101,76		
		1127,01			95,88		
94 K	63	798,47	877,41	118,13	85,44	93,89	12,64
		844,10			90,32		
		741,44			79,34		
		684,40			73,24		
		752,84			80,56		
		775,66			83,00		
		950,14			101,67		
		978,94			104,75		
		921,35			98,59		
		921,35			98,59		
		978,94			104,75		
		1065,31			114,00		
		993,33			106,29		
12 K	66	802,04	794,67	6,39	74,88	74,19	0,60
		790,98			73,85		
		790,98			73,85		
76 K	69	1441,82	1530,65	71,89	95,60	101,49	4,77
		1460,85			96,86		
		1594,09			105,69		
		1594,09			105,69		
		1594,09			105,69		

		1498,92			99,38		
75 K	70	981,44	963,59	27,02	122,63	120,40	3,38
		924,34			115,50		
		981,44			122,63		
		967,16			120,85		
95 K	77	703,09	790,93	59,48	76,41	75,89	1,04
		805,50			74,33		
		827,57			76,41		
		827,57			76,41		
58 K	144	1706,22	1565,40	227,49	114,22	104,79	15,23
		1687,02			112,93		
		1302,95			87,22		

6-5: extrahierbares Protein von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K), KAT = Katalase, SOD = Superoxiddismutase, CS = Citratsynthase, PG = Gehalt an extrahierbarem Protein, VF = Gehalt an extrahierbarem Protein verrechnet mit Verdünnungsfaktor, ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere

KAT			VF	KAT			VF
ID-Nr	Alter	PG	PG	ID-Nr	Alter	PG	PG
	(Jahre)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)		(Jahre)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)
89 MA	6	1,96	58,77	89 K	6	1,02	30,46
34 MA	8	2,52	75,53	92 K	7	1,12	33,68
90 MA	9	2,28	68,43	34 K	8	1,15	34,43
35 MA	9	3,28	98,54	9 K	9	1,31	39,34
91 MA	9	1,91	57,38	36 K	9	1,36	40,78
8 MA	10	1,71	51,44	91 K	9	1,44	43,19
24 MA	10	2,39	71,69	90 K	9	1,43	43,02
36 MA	15	1,71	51,35	8 K	10	1,11	33,36
84 MA	19	4,32	129,61	84 K	19	0,93	27,86
32 MA	20	2,99	89,85	40 K	21	1,16	34,91
40 MA	21	4,12	123,63	41 K	26	1,51	45,28
41 MA	26	3,08	92,35	93 K	28	1,26	37,85
33 MA	28	2,46	73,67	33 K	28	1,17	35,07
78 MA	30	4,63	138,95	39 K	30	1,23	37,05
39 MA	30	4,33	129,78	78 K	30	1,36	40,68
42 MA	31	3,12	93,51	83 K	33	1,55	46,44
83 MA	33	3,35	100,54	13 K	51	1,05	31,60
30 MA	63	3,79	113,59	94 K	63	1,23	36,93
94 MA	63	3,19	95,66	15 K	69	1,10	32,95
76 MA	69	1,70	50,87	76 K	69	1,48	44,31
38 MA	71	3,45	103,56	75 K	70	1,13	33,97
37 MA	74	1,97	58,98	38 K	71	1,35	40,36
77 MA	77	4,23	126,94	37 K	74	1,35	40,54
95 MA	77	4,88	146,28	96 K	74	1,36	40,85
28 MA	78	1,73	51,89	95 K	77	1,70	50,93
118 MA	6	2,17	65,12	108 K	6	0,70	21,05
134 MA	7	1,75	52,52	118 K	6	0,52	15,58
138 MA	6,33	1,61	48,37	138 K	6,33	0,50	15,00
142 MA	7,33	1,32	39,74	146 K	5,67	0,38	11,32
150 MA	6,33	1,68	50,40	150 K	6,33	0,63	18,96
166 MA	6	1,64	49,20	154 K	6	0,55	16,38
173 MA	7	1,39	41,58	158 K	5,67	0,53	15,88
177 MA	6,33	2,61	78,23	162 K	6	0,64	19,15
203 MA	149	3,71	111,32	194 K	134	0,50	15,09
204 MA	128	2,87	86,22	203 K	149	0,48	14,31
205 MA	122	4,65	139,56	204 K	128	0,41	12,27
206 MA	110	4,45	133,58	205 K	122	0,43	12,96
207 MA	148	2,78	83,45	206 K	110	0,47	14,19
208 MA	150	4,42	132,65	207 K	148	0,40	11,96
209 MA	197	2,87	86,03	208 K	150	0,32	9,64
194 MA	134	2,40	71,86	209 K	197	0,57	17,12

SOD			VF	SOD			VF
ID-Nr	Alter	PG	PG	ID-Nr	Alter	PG	PG
	(Jahre)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)		(Jahre)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)
89 MA	6	1,17	35,20	89 K	6	0,42	12,72
92 MA	7	1,31	39,33	92 K	7	0,36	10,67
34 MA	8	1,42	42,50	35 K	9	0,32	9,51
91 MA	9	1,21	36,40	91 K	9	0,32	9,56
90 MA	9	2,22	66,70	90 K	9	0,54	16,22
36 MA	15	0,77	23,09	9 K	9	0,41	12,21
84 MA	19	1,55	46,61	23 K	13	0,52	15,54
32 MA	20	2,90	87,05	84 K	19	0,38	11,54
20 MA	26	2,72	81,60	3 K	20	0,45	13,43
31 MA	27	1,40	41,94	41 K	26	0,46	13,81
33 MA	28	2,56	76,84	93 K	28	0,47	14,07
93 MA	28	1,64	49,15	78 K	30	0,40	12,05
42 MA	31	1,48	44,26	83 K	33	0,39	11,83
94 MA	63	2,29	68,74	94 K	63	0,31	9,41
76 MA	69	2,43	72,96	12 K	66	0,36	10,78
75 MA	70	2,97	89,17	76 K	69	0,51	15,18
38 MA	71	3,21	96,43	75 K	70	0,27	8,06
96 MA	74	3,40	102,03	77 K	77	1,47	43,99
77 MA	77	2,41	72,32	95 K	77	0,31	9,26
95 MA	77	3,21	96,43	58 K	144	0,15	4,56
58 MA	144	2,02	60,52				
129 MA	6	1,53	46,00				
150 MA	6,33	1,26	37,83				
154 MA	6	1,32	39,54				
158 MA	5,67	1,19	35,65				
166 MA	6	1,89	56,63				
173 MA	3	1,53	46,04				
177 MA	6,33	1,77	53,16				
181 MA	5	1,44	43,20				
203 MA	149	2,63	78,89				
206 MA	122	4,23	126,93				
204 MA	122	1,92	57,67				
207 MA	110	2,32	69,73				
205 MA	148	3,73	111,93				
208 MA	150	3,37	101,20				
209 MA	150	2,01	60,43				
194 MA	134	2,29	68,73				

CS			VF	CS			VF
ID-Nr	Alter	PG	PG	ID-Nr	Alter	PG	PG
	(Jahre)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)		(Jahre)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)	(mg*g <sup>-1</sup> Fg)
27 MA	6	5,21	52,06	89 K	6	1,875	18,75
92 MA	7	3,85	38,49	10 K	7	1,418	14,18
35 MA	9	7,45	74,46	45 K	7	2,144	21,44
90 MA	9	6,80	67,98	7 K	8	1,370	13,70
91 MA	9	5,34	53,35	35 K	9	1,649	16,49
22MA	9	5,80	58,01	90 K	9	1,829	18,29
24 MA	10	7,57	75,69	91 K	9	2,335	23,35
8 MA	10	6,10	61,03	8 K	10	2,011	20,11
36 MA	15	3,37	33,72	84 K	19	1,280	12,80
84 MA	19	7,09	70,88	40 K	21	2,215	22,15
40 MA	21	7,84	78,40	41 K	26	1,745	17,45
43 MA	26	7,89	78,91	93 K	28	1,523	15,23
41 MA	26	8,34	83,38	78 K	30	1,328	13,28
17 MA	27	11,37	113,66	83 K	33	1,314	13,14
33 MA	28	8,45	84,49	13 K	51	1,388	13,88
93 MA	28	7,29	72,93	94 K	63	1,511	15,11
39 MA	30	10,47	104,74	76 K	69	1,863	18,63
42 MA	31	6,38	63,82	38 K	71	1,077	10,77
18 MA	32	6,83	68,31	37 K	74	1,674	16,74
94 MA	63	9,54	95,38	96 K	74	1,867	18,67
30 MA	63	9,78	97,82	77 K	77	3,658	36,58
76 MA	69	3,02	30,15	95 K	77	2,557	25,57
75 MA	70	6,00	60,00	58 K	144	1,814	18,14
38 MA	71	6,39	63,94	146 K	5,67	1,713	17,13
96 MA	74	7,97	79,70	158 K	5,67	1,927	19,27
37 MA	74	5,42	54,15	154 K	6	2,095	20,95
29 MA	75	6,22	62,22	162 K	6	1,962	19,62
95 MA	77	9,93	99,30	138 K	6,33	1,944	19,44
77 MA	77	9,30	92,99	150 K	6,33	2,207	22,07
58 MA	144	5,63	56,31	206 K	110	2,168	21,68
150 MA	6,33	4,88	48,76	204 K	122	1,675	16,75
162 MA	6	5,45	54,47	205 K	122	1,246	12,46
166 MA	6	5,15	51,54	194 K	134	1,778	17,78
173 MA	7	3,93	39,27	207 K	148	1,640	16,40
177 MA	6,33	5,50	55,05	203 K	149	1,520	15,20
203 MA	149	9,45	94,46	208 K	150	1,121	11,21
204 MA	122	6,18	61,85	209 K	150	1,110	11,10
206 MA	122	13,41	134,05				
207 MA	110	7,94	79,45				
205 MA	148	11,41	114,08				
209 MA	150	8,86	88,58				
208 MA	150	10,34	103,44				
194 MA	134	8,30	83,02				



**Tab. 6-6: Parameter des Glutathionstoffwechsels von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K), GSH = oxidiertes Glutathion, GSSG = reduziertes Glutathion, GSH<sub>ges</sub> = Gesamtglutathion, ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere**

ID-Nr	Alter (Jahre)	GSH			GSSG			GSH <sub>ges</sub>		
		(nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	MW	STABW	(nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	MW	STABW	(nmol*g <sup>-1</sup> Fg)	MW	STABW
62 MA	8	166,73	167,50	1,09	69,92	61,75	11,55	306,57	291,01	22,00
		168,27			53,59			275,45		
63 MA	8	177,91	187,62	13,72	39,90	27,50	17,54	257,71	242,61	21,35
		197,32			15,10			227,52		
73 MA	8	297,60	390,92	131,96	61,46	52,35	12,89	420,53	495,61	106,19
		484,23			43,23			570,70		
49 MA	9	209,50	179,33	42,67	17,19	33,28	22,75	243,89	245,88	2,83
		149,16			49,36			247,88		
71 MA	9	352,97	346,99	8,45	57,56	70,59	18,43	468,09	488,18	28,41
		341,02			83,63			508,27		
46 MA	10	239,59			85,95			411,49		
84 MA	19	149,32	156,41	10,02	14,17	38,69	34,68	177,66	233,79	79,38
		163,49			63,22			289,92		
57 MA	24	353,05	358,85	8,21	15,02	23,11	11,43	383,09	405,07	31,08
		364,66			31,19			427,04		
78 MA	30	146,12	145,75	0,51	39,75	42,49	3,88	225,62	230,74	7,24
		145,39			45,23			235,86		
83 MA	33	196,42	211,70	21,61	28,37	50,57	31,39	253,17	312,84	84,39
		226,98			72,77			372,51		
87 MA	35	218,36	147,37	100,39	26,89	35,27	11,85	272,15	217,92	76,69
		76,39			43,65			163,68		
54 MA	54	284,09	293,70	13,59	17,02	19,23	3,12	318,14	332,16	19,83
		303,32			21,44			346,19		
69 MA	64	177,49	175,88	2,27	23,52	27,26	5,29	224,53	230,41	8,32
		174,28			31,01			236,29		
60 MA	66	337,05	319,83	24,35	83,20	75,94	10,27	503,44	471,70	44,88
		302,61			68,68			439,97		
76 MA	69	317,71	329,35	16,46	58,16	54,89	4,61	434,02	439,14	7,24
		340,99			51,63			444,26		
75 MA	70	188,52			31,42			251,36		
77 MA	77	165,77	185,03	27,23	24,92	19,49	7,69	215,61	224,00	11,86
		204,28			14,05			232,39		
185 MA	5,25	398,91	383,27	22,12	190,92	185,49	7,68	780,76	754,25	37,48
		367,62			180,06			727,75		
146 MA	5,67	500,70			201,34	186,43		903,38		
158 MAa	5,67	386,45			298,67			983,79		
154 MA	6	313,10	304,54	12,11	191,63	186,28	7,56	696,37	677,11	27,23
		295,98			180,94			657,85		
169 MA	6	522,22	502,99	27,20	145,42	162,95	24,79	813,05	828,88	22,39
		483,76			180,48			844,71		
101 MA	6,5	391,16	392,33	1,65	156,88	175,50	26,32	704,92	743,32	54,30
		393,49			194,11			781,71		
138 MA	6,33	312,08	314,29	3,13	90,20	107,78	24,85	492,48	529,84	52,84
		316,51			125,35			567,20		
142 MA	7,33	459,19	501,55	59,91	100,32	152,79	74,21	659,82	807,14	208,34
		543,92			205,27			954,46		

206 MA	110	317,29	337,71	28,88	147,65	137,18	14,81	612,59	612,07	0,74
		358,13			126,71			611,55		
205 MA	122	153,11	152,48	0,89	0,00	0,00	0,00	153,11	152,48	0,89
		151,85			0,00			151,85		
204 MA	128	274,72	259,36	21,73	113,86	117,14	4,64	502,44	493,64	12,45
		243,99			120,42			484,84		
194 MA	134	208,11	201,27	9,67	0,00	0,00	0,00	208,11	201,27	9,67
		194,43			0,00			194,43		
207 MA	148	148,33	144,48	5,45	22,98	46,11	32,71	194,29	236,70	59,98
		140,62			69,25			279,11		
203 MA	149	229,13	230,42	1,82	41,47	52,71	15,90	312,08	335,85	33,62
		231,71			63,96			359,62		
208 MA	150	147,34	152,79	7,71	4,12	4,70	0,82	155,58	162,18	9,34
		158,24			5,27			168,79		
209 MA	192	229,12	234,25	7,25	33,35	35,00	2,34	295,81	304,26	11,94
		239,38			36,66			312,70		
44 K	8	274,45	272,06	3,38	326,78	329,92	4,44	928,01	931,90	5,50
		269,67			333,06			935,79		
63 K	8	198,52	191,77	9,55	162,04	168,69	9,40	522,59	529,14	9,26
		185,02			175,34			535,69		
47 K	9	285,82	379,20	132,06	155,22	163,68	11,96	596,27	706,57	155,99
		472,59			172,14			816,87		
71 K	9	341,15	302,77	54,28	270,30	270,08	0,32	881,76	842,93	54,91
		264,39			269,85			804,10		
50 K	10	597,30	603,83	9,23	446,91	458,04	15,74	1491,12	1519,91	40,72
		610,36			469,17			1548,70		
84 K	19	422,17	406,63	21,99	218,63	209,77	12,53	859,43	826,16	47,04
		391,08			200,91			792,90		
88 K	22	196,72	315,96	168,64	238,87	386,98	209,46	674,46	1089,92	587,55
		435,20			535,09			1505,38		
67 K	29	306,44	284,83	30,56	231,96	232,55	0,84	770,35	749,93	28,88
		263,22			233,14			729,51		
78 K	30	148,62	158,01	13,28	73,77	82,49	12,33	296,17	323,00	37,94
		167,40			91,21			349,83		
83 K	33	380,49	383,56	4,35	362,27	345,91	23,13	1105,02	1075,38	41,91
		386,63			329,55			1045,74		
55 K	65	342,20			239,95			822,10		134,41
60 K	66	441,86	438,22	5,15	285,17	291,81	9,39	1012,19	1021,83	13,62
		434,57			298,44			1031,46		
59 K	68	300,84	306,06	7,39	240,25	244,95	6,65	781,34	795,97	20,68
		311,28			249,65			810,59		
76 K	69	458,82	469,82	15,57	385,41	363,20	31,41	1229,63	1196,22	47,25
		480,83			340,99			1162,81		
75 K	70	263,10	249,34	19,46	211,34	196,57	20,90	685,78	642,47	61,25
		235,57			181,79			599,15		
77 K	77	878,88	904,91	36,81	130,13	142,64	17,70	1139,14	1190,20	72,21
		930,94			155,16			1241,26		
79 K	80	375,69	373,89	2,55	267,73	240,79	38,11	911,16	855,46	78,77
		372,08			213,84			799,76		
58 K	144	204,45	240,10	50,41	191,87	190,82	1,48	588,19	621,74	47,45
		275,75			189,77			655,29		
166 K	5,5	841,60	836,18	7,66	702,04	713,48	16,18	2245,68	2263,14	24,70
		830,77			724,92			2280,60		

119 K	6	602,00	618,55	23,41	475,38	455,27	28,44	1552,76	1529,10	33,46
		635,10			435,16			1505,43		
169 K	6	720,36			545,02			1810,40		
113 K	6,333	807,42	824,47	24,10	403,18	402,35	1,16	1613,78	1629,18	21,77
		841,51			401,53			1644,57		
125 K	6,333	461,80	553,55	129,76	280,64	388,19	152,10	1023,08	1329,94	433,96
		645,30			495,74			1636,79		
177 K	6,33	791,12	762,08	41,08	704,51	658,57	64,98	2200,15	2079,21	171,03
		733,03			612,62			1958,27		
173 K	7	840,86	848,74	11,14	635,10	681,14	65,10	2111,07	2211,02	141,35
		856,61			727,18			2310,96		
142 K	7,33	747,53	734,28	18,74	452,79	469,58	23,75	1653,12	1673,44	28,75
		721,03			486,37			1693,77		
206 K	110	426,09	404,10	31,10	333,01	350,74	25,07	1092,12	1105,58	19,04
		382,11			368,47			1119,04		
205 K	122	426,66	428,17	2,15	231,50	229,37	3,01	889,65	886,91	3,87
		429,69			227,24			884,17		
204 K	128	565,46	520,38	63,75	395,40	410,01	20,65	1356,26	1340,39	22,44
		475,31			424,61			1324,52		
194 K	134	366,44	381,20	20,87	224,79	231,18	9,04	816,01	843,56	38,95
		395,95			237,57			871,10		
207 K	148	367,94	498,15	184,14	358,59	360,27	2,37	1085,13	1218,69	188,89
		628,36			361,95			1352,25		
203 K	149	447,50	408,41	55,28	457,90	448,04	13,95	1363,30	1304,49	83,17
		369,32			438,18			1245,68		
208 K	150	314,98			154,44			623,86		
209 K	192	409,91	429,13	27,18	277,48	256,89	29,11	964,87	942,92	31,04
		448,35			236,31			920,97		

**Tab. 6-7: interner Standard (pH<sub>i</sub>) von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K), ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere**

ID-Nr	Alter	pH <sub>i</sub>	MW
	(Jahre)		
107 MA	6,5	6,89	
		6,95	
117 MA	6,5	6,91	
		6,92	6,92
203 MA	149	6,65	
		6,69	
204 MA	128	6,72	
		6,72	
206 MA	110	6,68	
		6,69	6,69
111 K	5,6	6,92	
		6,88	
133 K	7	6,89	
203 K	149	6,90	6,90
		6,78	
203 K	128	6,82	
		6,74	
206 K	110	6,83	
		6,69	6,77

**Tab. 6-8: Redoxverhältnis GSSG:GSH und Redoxpotential (RP) von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K), ID-Nr: Identifikationsnummer der Versuchstiere**

ID-Nr	Alter	GSSG:GSH	MW	STABW	RP
	(Jahre)				(mV)
62 MA	8	0,42	0,37	0,07	
		0,32			
63 MA	8	0,22	0,15	0,10	
		0,08			
73 MA	8	0,21	0,15	0,08	
		0,09			
49 MA	9	0,08	0,21	0,18	
		0,33			
71 MA	9	0,16	0,20	0,06	
		0,25			
46 MA	10	0,36	0,36		
84 MA	19	0,09	0,24	0,21	
		0,39			
57 MA	24	0,04	0,06	0,03	
		0,09			
78 MA	30	0,27	0,29	0,03	
		0,31			
83 MA	33	0,14	0,23	0,12	
		0,32			
87 MA	35	0,12	0,35	0,32	
		0,57			
54 MA	54	0,06	0,07	0,01	

		0,07			
69 MA	64	0,13	0,16	0,03	
		0,18			
60 MA	66	0,25	0,24	0,01	
		0,23			
76 MA	69	0,18	0,17	0,02	
		0,15			
75 MA	70	0,17	0,17		
77 MA	77	0,15	0,11	0,06	
		0,07			
185 MA	5,25	0,48	0,48	0,01	-314,72
		0,49			
146 MA	5,67	0,40	0,40		-320,11
158 MA	5,67	0,77	0,77		-309,26
154 MA	6	0,61	0,61	0,00	-309,21
		0,61			
169 MA	6	0,28	0,33	0,07	-322,79
		0,37			
101 MA	6,5	0,40	0,45	0,07	-316,01
		0,49			
138 MA	6,33	0,29	0,34	0,08	-316,63
		0,40			
142 MA	7,33	0,22	0,30	0,11	-324,10
		0,38			
206 MA	110	0,47	0,41	0,08	-303,12
		0,35			
205 MA	122	0,00	0,00	0,00	
		0,00			
204 MA	128	0,41	0,45	0,06	-298,69
		0,49			
194 MA	134	0,00	0,00	0,00	
		0,00			
207 MA	148	0,15	0,32	0,24	-297,62
		0,49			
203 MA	149	0,18	0,23	0,07	-305,69
		0,28			
208 MA	150	0,03	0,03	0,00	-324,47
		0,03			-310,68
209 MA	192	0,15	0,15	0,01	
		0,15			
44 K	8	1,19	1,21	0,03	
		1,24			
63 K	8	0,82	0,88	0,09	
		0,95			
47 K	9	0,54	0,45	0,13	
		0,36			
71 K	9	0,79	0,91	0,16	
		1,02			
50 K	10	0,75	0,76	0,01	
		0,77			
84 K	19	0,52	0,52	0,00	
		0,51			
88 K	22	1,21	1,22	0,01	

		1,23			
67 K	29	0,76	0,82	0,09	
		0,89			
78 K	30	0,50	0,52	0,03	
		0,54			
83 K	33	0,95	0,90	0,07	
		0,85			
55 K	65	0,70	0,00	0,04	
60 K	66	0,65	0,67	0,03	
		0,69			
59 K	68	0,80	0,80	0,00	
		0,80			
76 K	69	0,84	0,77	0,09	
		0,71			
75 K	70	0,80	0,79	0,02	
		0,77			
77 K	77	0,15	0,16	0,01	
		0,17			
79 K	80	0,71	0,64	0,10	
		0,57			
58 K	144	0,94	0,81	0,18	
		0,69			
166 K	5,5	0,83	0,85	0,03	-316,34
		0,87			
119 K	6	0,79	0,74	0,07	-314,51
		0,69			
169 K	6	0,76	0,00		-315,99
113 K	6,333	0,50	0,49	0,02	-322,81
		0,48			
125 K	6,333	0,61	0,69	0,11	-313,91
		0,77			
177 K	6,33	0,89	0,86	0,04	-315,09
		0,84			
173 K	7	0,76	0,80	0,07	-317,27
		0,85			
142 K	7,33	0,61	0,64	0,05	-318,22
		0,67			
206 K	110	0,78	0,87	0,13	-300,59
		0,96			
205 K	122	0,54	0,54	0,01	-307,04
		0,53			
204 K	128	0,70	0,80	0,14	-304,69
		0,89			
194 K	134	0,61	0,61	0,01	-304,17
		0,60			
207 K	148	0,97	0,78	0,28	-304,43
		0,58			
203 K	149	1,02	1,10	0,12	-297,85
		1,19			
208 K	150	0,49	0,00		-304,44
209 K	192	0,68	0,60	0,11	-305,76
		0,53			

Tab. 6-9: Carbonylgruppengehalt von *A. islandica* in Mantel (MA) und Kieme (K), Abs = Probe bei 360 nm, PG = Gehalt an extrahierbarem Protein, G<sub>CG</sub> = Carbonylgruppengehalt, PR = Probe, BL = Blank, ID-Nr = Identifikationsnummer der Versuchstiere

ID-Nr	Alter (Jahre)	Abs (360 nm)		PG ( $\mu\text{g} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ )		G <sub>CG</sub>		G <sub>CG</sub>		G <sub>CG</sub>
		PR	BL	PR	BL	PR	MW	BL	MW	
118 MA	5,7	0,071	0,031	2,027	2,041	0,955	0,877	0,414	0,410	0,467
		0,060	0,031	2,047	2,082	0,799		0,406		
126 MA	6	0,039	0,036	1,532	1,528	0,694	0,811	0,642	0,531	0,279
		0,052	0,022	1,530	1,427	0,927		0,420		
130 MA	6	0,061	0,036	1,825	1,693	0,912	0,893	0,580	0,466	0,427
		0,055	0,022	1,716	1,708	0,874		0,351		
116 MA	6	0,017	0,022	0,360	1,735	1,287	0,630	0,346	0,320	0,310
		0,043	0,021	1,822	1,777	0,644		0,322		
150 MA	6,33	0,038	0,036	1,143	1,169	0,907	0,998	0,840	0,725	0,273
		0,044	0,025	1,101	1,117	1,090		0,610		
108 MA	6,5	0,054	0,014	2,056	2,034	0,716	0,771	0,188	0,234	0,537
		0,064	0,022	2,113	2,136	0,826		0,281		
112 MA	6,5	0,074	0,016	1,634	1,981	1,235	1,100	0,220	0,229	0,871
		0,062	0,015	1,753	1,719	0,965		0,238		
142 MA	6,5	0,085	0,040	1,525	1,843	1,520	1,296	0,592	0,636	0,660
		0,073	0,045	1,855	1,803	1,073		0,681		
162 MA	6,5	0,059	0,021	1,920	1,927	0,838	0,910	0,297	0,267	0,643
		0,070	0,017	1,942	1,951	0,983		0,238		
103 MA	6,8	0,052	0,029	1,467	1,663	0,967	0,970	0,476	0,509	0,461
		0,060	0,034	1,682	1,713	0,973		0,541		
206 MA	110	0,267	0,106	13,115	11,563	0,555	0,543	0,250	0,301	0,242
		0,226	0,110	11,596	8,525	0,532		0,352		
205 MA	122	0,148	0,068	5,205	6,114	0,775	0,772	0,303	0,330	0,442
		0,161	0,076	5,710	5,804	0,769		0,357		
204 MA	128	0,061	0,034	2,333	2,388	0,713	0,733	0,388	0,410	0,323
		0,068	0,038	2,464	2,401	0,753		0,432		
194 MA	134	0,179	0,060	5,100	4,557	0,957	1,101	0,359	0,366	0,735
		0,168	0,056	3,682	4,089	1,244		0,374		
207 MA	148	0,088	0,050	2,783	4,684	0,862	0,699	0,291	0,319	0,380
		0,090	0,039	4,589	3,069	0,535		0,347		
203 MA	149	0,123	0,060	4,153	3,856	0,808	0,772	0,424	0,414	0,358
		0,103	0,061	3,820	4,129	0,735		0,403		
208 MA	150	0,143	0,055	3,984	3,678	0,979	0,949	0,408	0,416	0,533
		0,124	0,059	3,678	3,787	0,919		0,425		
209 MA	192	0,134	0,074	0,977	1,455	3,740	2,908	1,388	1,259	1,649
		0,109	0,065	1,432	1,568	2,076		1,130		
124 K	5,3	0,039	0,017	0,436	0,445	2,438	2,438	1,041	1,041	1,397
103 K	6	0,048	0,032	1,378	1,299	0,950	0,959	0,672	0,596	0,364
		0,051	0,028	1,436	1,470	0,969		0,520		
112 K	6	0,054	0,030	1,181	1,232	1,247	1,129	0,664	0,630	0,499
		0,044	0,027	1,186	1,234	1,012		0,597		
121 K	6	0,019	0,017	0,922	0,852	0,562	1,240	0,544	0,600	0,640
		0,040	0,019	0,880	0,865	1,240		0,599		
108 K	6,3	0,070	0,034	0,657	0,748	2,906	2,910	1,239	1,240	1,670
		0,028	0,005	0,612	0,788	1,248		0,173		
115 K	7	0,044	0,011	0,581	0,565	2,067	1,781	0,531	0,546	1,235

		0,035	0,009	0,639	0,438	1,495		0,561		
138 K	7	0,032	0,010	0,757	0,609	1,153	1,352	0,448	0,430	0,923
		0,032	0,011	0,563	0,728	1,552		0,412		
206 K	110	0,108	0,029	1,123	1,568	2,623	2,101	0,504	0,568	1,533
		0,092	0,023	1,589	0,993	1,579		0,631		
205 K	122	0,060	0,020	0,910	0,875	1,798	2,211	0,624	0,625	1,586
		0,058	0,022	0,603	0,959	2,623		0,626		
204 K	128	0,077	0,034	1,314	1,195	1,598	1,628	0,776	0,595	1,033
		0,084	0,012	1,382	0,789	1,658		0,415		
194 K	134	0,062	0,070	1,005	1,023	1,683	1,546	1,867	1,190	0,356
		0,050	0,020	0,968	1,064	1,408		0,513		
207 K	148	0,045	0,025	1,058	0,976	1,160	1,678	0,698	0,574	1,104
		0,090	0,016	1,118	0,970	2,196		0,450		
203 K	149	0,102	0,016	1,416	0,781	1,964	1,640	0,559	0,453	1,187
		0,069	0,013	1,431	1,022	1,315		0,347		
208 K	150	0,053	0,058	0,861	0,841	1,678	1,613	1,881	1,183	0,429
		0,049	0,015	0,864	0,842	1,547		0,486		
209 K	192	0,065	0,000	0,935	0,915	1,897	1,902	0,000	0,000	1,902
		0,063	0,000	0,901	0,906	1,906		0,000		



## Danksagung

### Vielen Dank an...

- **Privatdozentin Dr. Doris Abele** für das Thema meiner Diplomarbeit, die gute Betreuung und die Begutachtung meiner Diplomarbeit
- **Professor Hagen** für die Begutachtung meiner Diplomarbeit
- **Dr. Eva Philipp** für die geduldige Betreuung und Unterstützung meiner Diplomarbeit
- **Dr. habil. Thomas Brey** für die gute Betreuung meiner Diplomarbeit
- alle Mitglieder der **AG Abele** für das anregende und herzliche Arbeitsklima, insbesondere **Stefanie Meyer** für die stetige Hilfe im Labor und **Ellen Weihe** für die „Büro-Nachbarschaft“ und die kulinarische Beköstigung
- **Kerstin Beyer** für ihre zuverlässige Hilfe beim Einbetten, Schneiden, Schleifen, Färben...all meiner Muschelschalen
- **Ralf Bätzel** für die Möglichkeit, im Fachbereich Geologie an der Universität Bremen meine Schalen zu schneiden
- **Professor Angela Köhler-Günther** für die Möglichkeit, in ihrer AG zu arbeiten und insbesondere **Katja Broeg** und **Sieglinde Bahns** für die herzliche und gute Hilfe
- den isländischen Kollegen **Thorstein Thorbergsson** und **Marino** für die Tierbeschaffung, **Gudmundur Vidir Helgasson**, **Gudrun Thorarinsdottir** und insbesondere **Halldür** für die Hilfe in Island und die Lösung vieler Probleme
- **Nadja Neubert** für ihren großen Einsatz in Island!
- **Lars Gutow** für die Hilfe bei der Statistik
- **Albert Benthien** für die erfrischenden Kaffeepausen
- **Juliane Metzner** für mein Zuhause in Bremen
- **Silke Laakmann** für Freundschaft und ihre Rettungseinsätze und **Maike Schmidt** für ihre große Hilfsbereitschaft und den Spaß am AWI
- **Stella, Citlali, Anna, Kevin, Marian, Wiebke, Faris, Regina, Verena, Tabea, dem Trainer und Schrübbi**, für die Helgoland-Exkursion ;) und eine gute Zeit in Bremen und **Indra, Wolfgang, Paul, Conny, Irina, Bene, Nadi, Julia** für die Versüßung meiner Studienjahre in Mainz und Bremen
- **Christa Fischer, Volker Hase** und **Heike Hase** für ein stets offenes Haus und offenes Ohr

Mein größter Dank gilt **meiner Familie** und insbesondere meinen **Eltern**, für den Rückhalt, für mein Studium und die schönen Studienjahre, die Ihr mir ermöglicht habt.

Eidesstattliche Erklärung

Eidesstattliche Erklärung

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Bremen, 01.Februar 2006

---

(Julia Strahl)