

## **Anpassungen im Energiehaushalt von *Tubifex* sp. (*Oligochaeta*) an eine fakultativ anaerobe Lebensweise**

Klaus-Hubert Hoffmann, Johannes Seuß und Erich Hipp

Transition of *Tubifex* sp. from aerobic to anaerobic conditions causes a decrease in oxygen consumption when environmental oxygen tension falls to less than 2.5 ml O<sub>2</sub>/l. During this transition period the energy charge value decreases from 0.8 to 0.7, but then it remains constant during the first 12 h of a complete anaerobiosis. Concentrations of phosphagens, phospholombricine and phosphoarginine, decreased within this initial 12 h of an experimental anaerobiosis to values between 10 and 30% of the aerobic controls. Succinate fermentation plays the most important role in *Tubifex* anoxic ATP production not only during long-term anaerobiosis but already during the transition period and in short-term anoxia. Lactate fermentation is neglectable at any time of anaerobiosis. During recovery from anaerobiosis intact *Tubifex* take up succinate and propionate from the incubation medium, and a minor part of these products is incorporated into glycogen. The gluconeogenic processes seem not to be different from those occurring in vertebrate tissues.

*Anaerobiosis, benthic invertebrates, energy charge value, gluconeogenesis, phosphagens, succinate fermentation.*

### 1. Problemstellung

Der Süßwasseroligochaet *Tubifex* sp. lebt im Bodenschlamm stehender und langsam fließender Gewässer. In Gegenwart von ausreichend Sauerstoff verläuft die Energiegewinnung (ATP) der Tiere über den Embden-Meyerhof-Weg, den Citratcyklus und die Atmungskette. Tubificiden können aber auch längere Zeit in völliger Abwesenheit von Sauerstoff leben. Unter anaeroben Bedingungen werden bei herabgesetzter Gesamtstoffwechselrate die Glykogenreserven zur Energiegewinnung herangezogen. Als Endprodukte entstehen bei mehrtägiger, biotopbedingter Anaerobiose hauptsächlich die flüchtigen Fettsäuren Propionat und Acetat (SCHÖTTLER, SCHROFF 1976). Sie werden nach Erreichen bestimmter Konzentrationen im Körper in das umgebende Wasser ausgeschieden, wodurch eine zu starke Ansäuerung des inneren Milieus verhindert wird.

Bei Tubificiden stellt sich das Existenzproblem aber weniger in Form einer langanhaltenden Anoxie, sondern vielmehr in kurzfristigen und stark variablen hypoxischen Bedingungen (HOFFMANN 1978; HOFFMANN, SEUSS 1979). Im folgenden soll gezeigt werden, welche 'energiereichen' Verbindungen während des Übergangs von Aerobiose zu Anaerobiose und bei kurzfristiger Anaerobiose zur Aufrechterhaltung der Lebensprozesse metabolisiert werden.

Da die Tiere unter anaeroben Lebensbedingungen größere Mengen noch relativ energiereicher Endprodukte bilden und z.T. ins Wasser ausscheiden, sollte nach Wiedereintritt normoxischer Bedingungen die Möglichkeit bestehen, diese Verbindungen wiederaufzunehmen und in den katabolen Stoffwechsel einzuschleusen oder als Reservestoffe (Glykogen) zu speichern. Zur Beantwortung dieser Frage wurde die Fähigkeit von *Tubifex* sp. zu Aufnahme und Einbau anaerober Intermediär- und Endprodukte in Glykogen (Glukoneogenese) untersucht.

### 2. Material und Methoden

Die Versuchstiere (*Tubifex* sp. - *Annelida, Oligochaeta: Tubificidae*) waren entweder Freifänge aus einem natürlichen Standort im Donautal bei Ulm oder wurden von der Fa. Honka, München, bezogen. Bis zur Verwendung wurden die Tiere mehrere Tage ohne Nahrung bei 10-12 °C unter fließendem Wasser und bei zusätzlicher Belüftung gehalten. Die Sauerstoffverbrauchsmessungen wurden mit Clark-elektroden der Fa. Radiometer bzw. Yellow Springs durchgeführt.

Die Bestimmung der Metabolitkonzentrationen (Glykogen, Adeninnukleotide, Phosphagene, D- und L-Lactat, Succinat, Malat, L-Alanin, L-Aspartat und L-Glutamat) erfolgte während des Übergangs der Tiere vom aeroben zum anaeroben Zustand (Dauer ca. 4 Std.) und während Kurzzeitanerobiose (bis zu 24 Std.) in einem Zeitraster von ein bis zwei Stunden mittels enzymatischer Methoden, wie sie in SCHÖTTLER & SCHROFF (1976), HIPP (1981), SEUSS (1981) und HOFFMANN (1981) ausführlich beschrieben sind.

Zur Bestimmung der Aufnahme von Substraten aus dem Inkubationsmedium und ihrer Metabolisierung zu Glykogen wurden Tiere in Leitungswasser mit jeweils 1  $\mu\text{Ci}$  (1 mM) an  $^{14}\text{C}$ (U)-Glukose, L- $^{14}\text{C}$ (U)-Lactat, L- $^{14}\text{C}$ (U)-Malat, L- $^{14}\text{C}$ (U)-Aspartat,  $^{14}\text{C}$ (U)-Succinat oder  $^{14}\text{C}$ (U)-Propionat aerob inkubiert und nach 24 Std. die in Glykogen eingebaute Radioaktivität bestimmt (SEUSS 1981). Die Bestimmung der Aktivitäten glukoneogenetischer Enzyme erfolgte nach SEUSS (1981).

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt des Wassers

Unter aeroben Bedingungen (17 °C;  $p\text{O}_2 = 155 \text{ mm Hg}$  entsprechend 7 ml  $\text{O}_2/1 \text{ H}_2\text{O}$ ) liegt der Sauerstoffverbrauch der Tiere bei etwa 450  $\mu\text{l O}_2/\text{h} \cdot \text{g TGW}$  (Abb. 1) und sinkt bei abnehmender Sauerstoffkonzentration im Medium bis zu 2.5 ml  $\text{O}_2/1 \text{ H}_2\text{O}$  nur wenig ab (Oxyregulator). Das hochmolekulare Hämoglobin der Tiere dient in beschränktem Maße als Sauerstoffspeicher (PALMER, CHAPMAN 1970).

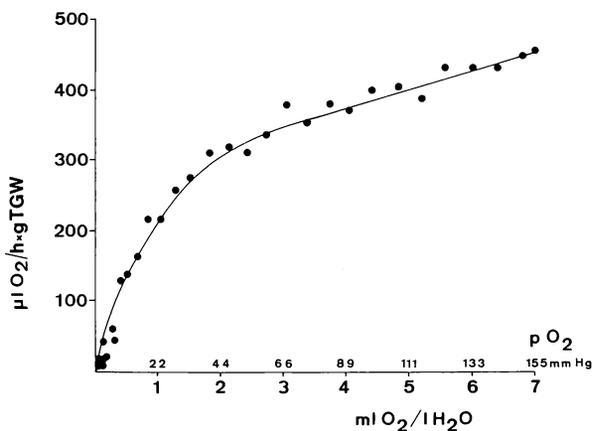


Abb. 1: Sauerstoffverbrauch ( $\mu\text{l O}_2/\text{h} \cdot \text{g TGW}$ ) von *Tubifex* sp. in Abhängigkeit von der Sauerstoffkonzentration des Inkubationswassers. (ET = 17 °C).

#### 3.2 Metabolitkonzentrationen während des Übergangs von Aerobiose zu Anaerobiose und in den ersten Stunden einer Anoxie

Ein Maß für den physiologischen Energiegehalt eines Gewebes oder eines Tieres stellt der adenylate energy charge (AEC)-Wert dar, der sich aus den Konzentrationen der drei Adenosinphosphate ATP, ADP und AMP errechnet (ATKINSON, WALTON 1967). Bereits in der Übergangsphase (0 bis AO in Abb. 2) vom aeroben zum anaeroben Zustand treten beträchtliche Veränderungen in den Konzentrationen an ATP, ADP und AMP auf (Abb. 2). Der AEC-Wert sinkt infolge abnehmender ATP- und zunehmender ADP- bzw. AMP-Konzentrationen in diesem Zeitraum vom Ausgangswert 0.8 auf 0.7 ab. Einer kurzfristigen Stabilisierung des Nukleotidspiegels in den ersten 3 bis 12 Std. nach Erreichen der Anoxie im Inkubationsmedium folgt ein weiteres Absinken des AEC-Wertes bis auf 0.6 etwa 36 Std. nach Anaerobiosebeginn. Während Langzeitanerobiose (bis 72 Std.) bleibt der AEC konstant.

In vergleichbaren Untersuchungen anderer Autoren wurden die Versuchstiere ohne Berücksichtigung der Übergangsphase stets direkt in vollständig anaerobes Medium umgesetzt (z.B. SCHÖTTLER, SCHROFF 1976; KLUYTMANS et al. 1977; SURHOLT 1977). Die vorliegenden Ergebnisse zeigen aber, daß die Tiere bereits in dem bisher vernachlässigten Zeitraum des Übergangs von Aerobiose zu Anaerobiose deutlich auf die Veränderungen im Umweltmilieu reagieren. Die Strategie der Tiere, den AEC-Wert bei Sauerstoffmangel zunächst absinken zu lassen, bietet mehrere Vorteile: Zum einen wäre eine außerordentlich rasche Leerung der Reservestoffspeicher nötig,

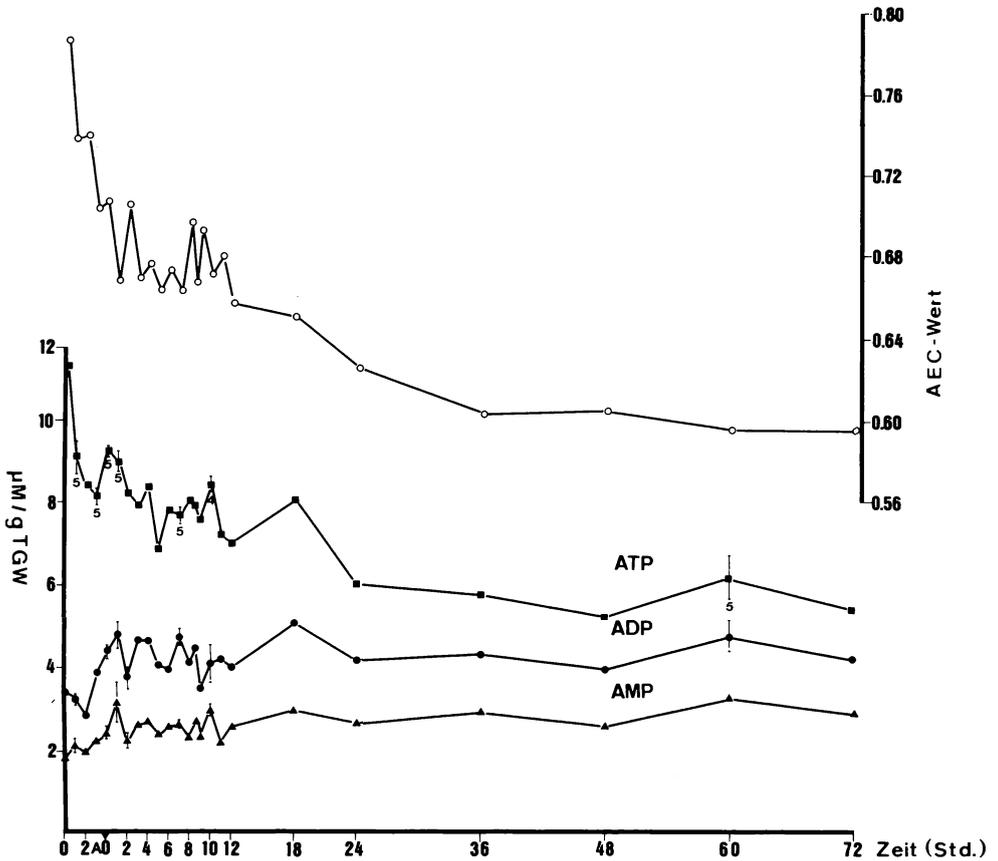


Abb. 2: Änderungen des AEC-Wertes und der Konzentration an ATP, ADP und AMP ( $\mu\text{Mol/g TGW}$ ) während der Übergangsphase O-AO und unter anaeroben Bedingungen (0-72 Std.).

um den AEC auf dem aeroben Wert zu halten. Zum anderen würde ein konstant hoher AEC-Wert, und damit auch ATP-Wert, inhibitorisch auf viele Glykolyseenzyme wirken. Im Zeitraum der AEC-Konstanz, 3 bis 12 Std. nach Eintritt der Anoxie, müssen vermehrt ATP-bildende Reaktionen ablaufen. In diesem Zeitraum werden die Phosphagenspeicher (Phospholombricin und Phosphoarginin, Abb. 3) unter Freisetzung von ATP entleert (HOFFMANN 1981). Unter Langzeitanerobiose wird der ATP-Spiegel ausschließlich durch Gärungsprozesse konstant gehalten, aus denen die flüchtigen Fettsäuren Propionat und Acetat als Endprodukte hervorgehen. Die Propionatbildung erreicht in diesem Zeitraum ihren Höhepunkt (SCHÖTTLER, SCHROFF 1976). Gegenüber der Lactatgärung, z.B. in der Skelettmuskulatur der Wirbeltiere, bietet die Propionatbildung einen 3-4fachen energetischen Vorteil.

Auch die Konzentrationen verschiedener Intermediär- und Endprodukte des anaeroben Energiestoffwechsels ändern sich bereits in der Übergangsphase zur Anoxie beträchtlich. So betragen die Konzentrationen an L-Alanin und Succinat zum Zeitpunkt AO (Abb. 4 B) schon etwa 50% des Maximalwertes, der 12 bis 18 Std. nach Verbrauch des Sauerstoffs im Medium erreicht wird. Die Bildung von L-Lactat spielt zu keinem Zeitpunkt der Anaerobiose eine entscheidende Rolle; D-Lactat konnte überhaupt nicht nachgewiesen werden. Parallel zum Anstieg von Succinat sinkt die Malatkonzentration bis zum Zeitpunkt AO auf 20% des aeroben Ausgangswertes ab (Abb. 4 A). Die ähnlichen Konzentrationsverläufe von Alanin und Glutamat (Abb. 4 A) lassen den Schluß zu, daß Alanin zum Teil durch Transaminierung von Glutamat entsteht. Eine Alaninbildung durch zwei gekoppelte Transaminierungsreaktionen aus Pyruvat und Aspartat, wie von FELBECK & GRIESHABER (1980) für den Wattwurm *Arenicola* beschrieben, ist bei *Tubifex* wegen der äußerst niedrigen Aspartatkonzentration unwahrscheinlich.

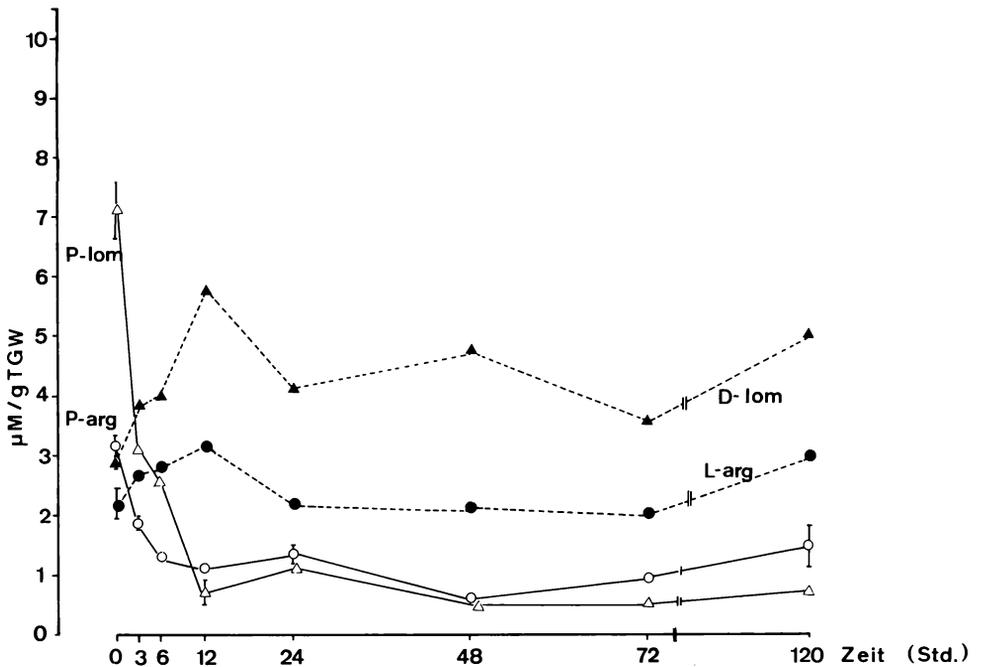


Abb. 3: Konzentrationsverlauf ( $\mu\text{Mol/g TGW}$ ) von Phosphagenen (P-lom = Phospholombricin, P-arg = Phosphoarginin) und den dephosphorylierten Verbindungen (D-lom = D-Lombricin, L-arg = L-Arginin) während 0-120 Std. anaerober Inkubation.

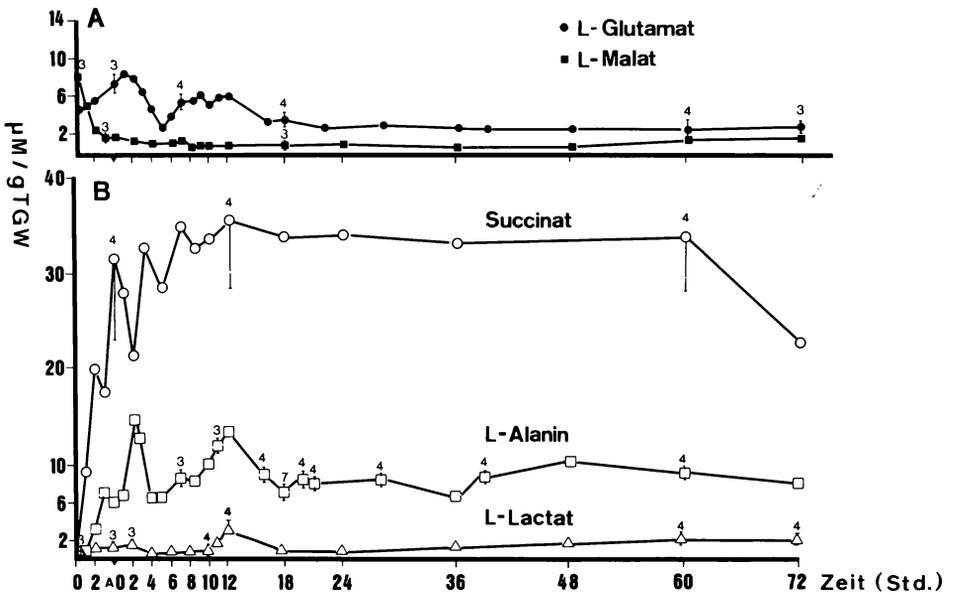


Abb. 4 A: Konzentrationsverlauf von Malat (-■-) und L-Glutamat (-●-) während der Übergangsphase 0-AO und unter anaeroben Bedingungen (0-72 Std.).

4 B: Konzentrationsverlauf von Succinat (-○-), L-Alanin (-□-) und L-Lactat (-△-) während der Übergangsphase 0-AO und unter anaeroben Bedingungen (0-72 Std.).

Tab. 1: Aktivitäten gluconeogenetischer Enzyme aus *Tubifex* sp.

Enzym	Aktivität
Phosphoenolpyruvat Carboxykinase	
Oxa $\longrightarrow$ PEP	1.63 $\mu$ M/min $\cdot$ ml Enzym
Pyruvat Carboxylase	
mit 0.1 mM Acetyl-CoA	28.4 $\times 10^{-9}$ Mol NaH <sup>14</sup> CO <sub>3</sub> Einlagerung/min $\cdot$ ml Enzym
mit 0.1 mM Propionyl-CoA	34.8 $\times 10^{-9}$ Mol NaH <sup>14</sup> CO <sub>3</sub> Einlagerung/min $\cdot$ ml Enzym

Oxa = Oxalacetat, PEP = Phosphoenolpyruvat

### 3.3 Erholungsstoffwechsel (Glukoneogenese)

Nach Wiedereintritt normoxischer Verhältnisse sind Tubificiden auf eine rasche Glykogensynthese zur Auffüllung der Reservestoff- und Energiespeicher angewiesen. Alle wichtigen Enzyme des Erholungsstoffwechsels (Pyruvat Carboxylase, Phosphoenolpyruvat Carboxykinase, Fructose-1.6-bisphosphatase) konnten mit hoher katalytischer Aktivität nachgewiesen werden (Tab. 1; SEUSS 1981; MUSTAFA, pers. Mitteilung). Als Substrate für die Glykogensynthese nehmen intakte Tubificiden verschiedene Metabolite, darunter auch Endprodukte des anaeroben Stoffwechsels, aus dem Inkubationswasser auf und bauen sie zum Teil in Glykogen ein (Tab. 2). Der Hauptteil (bis 95%) wird allerdings direkt in den katabolen Stoffwechsel eingeschleust. Der Erholungsstoffwechsel von *Tubifex* wird Schwerpunkt unserer zukünftigen Untersuchungen sein.

Tab. 2: Einbau verschiedener radioaktiv markierter Substanzen in Glykogen durch intakte Tubificiden.

Substanz im Inkubationsmedium	Einbau in Glykogen $\mu$ M/g $\cdot$ 24 h
<sup>14</sup> C(U)-Glucose	0.161
L- <sup>14</sup> C(U)-Lactat	0.149
L- <sup>14</sup> C(U)-Malat	0.076
L- <sup>14</sup> C(U)-Aspartat	0.094
<sup>14</sup> C(U)-Succinat	0.084
<sup>14</sup> C(U)-Propionat	0.296

### 4. Schlußfolgerungen

Durch Berücksichtigung der Übergangsphase vom aeroben Zustand zur Anoxie (O-AO) werden die fakultativ anaeroben Süßwasseroligochaeten nicht dem 'Stress' eines abrupten Milieuwechsels ausgesetzt. Sie sind damit in der Lage, Gesamtstoffwechselrate und Energiehaushalt langsam anzupassen und in der Kurzzeit-anaerobiose auf die von anderen Autoren gefundene, möglicherweise funktionsbedingte Lactatgärung weitgehend zu verzichten. Stattdessen wird bereits in diesem Zeitraum der Energiebedarf neben der Leerung der Phosphagenspeicher durch die bei fakultativ anaeroben Wirbellosen weitverbreitete Succinatgärung gedeckt.

Die hohe glukoneogenetische Potenz sollte es *Tubifex* ermöglichen, auch bei stark variablen Sauerstoffkonzentrationsbedingungen seine Energiespeicher rasch aufzufüllen. Die glukoneogenetischen Prozesse unterscheiden sich bei *Tubifex* nicht von den Reaktionsfolgen in Wirbeltiergeweben, völlig verschieden ist aber die Art der Substrate.

Die Arbeiten wurden durch Sachbeihilfen (Ho 631/8 und Ho 631/9-7) von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

## Literatur

- ATKINSON D.E., WALTON G.M., 1967: Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation. J. Biol. Chem. 242: 3239-3241.
- FELBECK H., GRIESHABER M.K., 1980: Investigations on some enzymes involved in the anaerobic metabolism of amino acids of *Arenicola marina*. Comp. Biochem. Physiol. 66B: 205-213.
- HIPP E., 1981: Nukleotid- und Metabolitenkonzentrationen in *Tubifex spec.* während Kurzzeit-anaerobiose, Staatsexamensarbeit Univ. Ulm.
- HOFFMANN K.H., 1978: Anpassungen im Energiestoffwechsel von *Tubifex tubifex* an eine fakultativ anaerobe Lebensweise. Verh. Ges. Ökol. (Kiel 1977): 185-189.
- HOFFMANN K.H., SEUSS J., 1979: Zum Energiestoffwechsel von *Tubifex sp.* (Annelida: Oligochaeta): Umsatz von Phosphoenolpyruvat unter aeroben und anaeroben Bedingungen. Verh. Dt. Zool. Ges. 1979: 281.
- HOFFMANN K.H., 1981: Phosphagens and phosphokinases in *Tubifex sp.* J. Comp. Physiol. 143: 237-243.
- KLUYTMANNS J.H., BONT A.M.T. de, JANUS J., WIJSMAN T.C.M., 1977: Timedependent changes and tissue specificities in the accumulation of anaerobic fermentation products in the sea mussel *Mytilus edulis*. Comp. Biochem. Physiol. 58B: 81-87.
- PALMER M.F., CHAPMAN G., 1970: The state of oxygenation of haemoglobin in the blood of living *Tubifex* (Annelida). J. Zool. 161: 203-209.
- SCHÖTTLER U., SCHROFF G., 1976: Untersuchungen zum anaeroben Glykogenabbau bei *Tubifex tubifex*. J. Comp. Physiol. 108: 243-254.
- SEUSS J., 1981: Anaerobiosestoffwechsel und Gluconeogenese bei *Tubifex sp.* (Annelida, Oligochaeta). Diss. Univ. Ulm.
- SURHOLT B., 1977: Production of volatile fatty acids in the anaerobic carbohydrate catabolism of *Arenicola marina*. Comp. Biochem. Physiol. 58B: 147-150.

## Adresse

Prof. Dr. K.H. Hoffmann  
Dr. Johannes Seuß, Erich Hipp  
Allgemeine Zoologie Univ.  
Oberer Eselsberg  
D-7900 Ulm

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1983

Band/Volume: [10\\_1983](#)

Autor(en)/Author(s): Hoffmann Klaus-Hubert, Seuß Johannes, Hipp Erich

Artikel/Article: [Anpassungen im Energiehaushalt von Tubifex sp. \(Oligochaeta\) an eine fakultativ anaerobe Lebensweise 557-562](#)