

# Mechanismen zur Erzeugung von Flüssigkeitsstrahlen im Tierreich am Beispiel von Pistolenkrebsen und Speikobras

Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von  
ALEXANDER SEBASTIAN BALMERT  
aus  
Koblenz

Bonn 2013

---

Angefertigt mit Genehmigung  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

**Mitglieder der Promotionskommission:**

1. Gutachter: Professor Dr. Horst Bleckmann
2. Gutachter: Professor Dr. Christoph Brücker

Tag der Promotion: 31.07.2013

Erscheinungsjahr: 2014

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1. Flüssigkeitsstrahlen im Tierreich . . . . .	1
1.2. Der Speivorgang bei Speikobras . . . . .	2
1.3. Das Knallen der Pistolenkrebse . . . . .	4
1.4. Wasserstrahlen in Anwendungsprozessen . . . . .	6
1.4.1. Wasserstrahlschneiden als industrielle Trenntechnik . . . . .	7
1.4.2. Wasserstrahlschneiden als chirurgisches Instrument . . . . .	8
1.5. Behandelte Fragestellungen . . . . .	8
1.6. Beschreibung der untersuchten Tierarten . . . . .	8
1.6.1. Pistolenkrebse . . . . .	8
1.6.2. Kobras . . . . .	9
<b>I. Pistolenkrebse</b>	<b>11</b>
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>13</b>
2.1. Versuchstiere und Haltung . . . . .	13
2.2. Lichtmikroskopie der Knallscheren . . . . .	14
2.3. Rasterelektronenmikroskopie (REM) . . . . .	14
2.4. Energiedispersive Röntgenanalyse (EDX) . . . . .	15
2.5. Computertomografie ( $\mu$ CT) . . . . .	16
2.6. Messung der Haftkraft der Haftscheiben . . . . .	17
2.6.1. Vorversuche . . . . .	17
2.6.2. Hauptversuche . . . . .	18
2.6.3. Auswertung der Kraftmessung . . . . .	20

<b>3. Ergebnisse</b>	<b>23</b>
3.1. Morphologie der Scherenglieder und der Druckkammer der Knallscheren . . . . .	23
3.1.1. EDX-Analyse der Scherenglieder . . . . .	30
3.2. Anordnung der Apodeme und Muskeln innerhalb der Knallscheren . . . . .	32
3.3. Aufbau und Funktion der Haftscheiben der Knallscheren . . . . .	34
3.3.1. Ergebnisse der Vorversuche zur Funktion der Haftscheiben . . . . .	34
3.3.2. Morphologie und Ultrastruktur der Haftscheiben . . . . .	35
3.3.3. Vorkommen und relative Konzentration der Elemente in den Haftscheiben von <i>A. randalli</i> . . . . .	43
3.3.4. Haftkraft der Haftscheiben . . . . .	49
<b>4. Diskussion</b>	<b>51</b>
4.1. Funktionelle Topographie der Knallscheren . . . . .	51
4.2. Interne Apodeme und Muskuläres System der Knallscheren . . . . .	53
4.3. Haftmechanismus der Knallscheren . . . . .	55
4.3.1. Morphologie der Haftscheiben . . . . .	55
4.3.2. Materialzusammensetzung und Materialeigenschaften der Haftscheiben . . . . .	56
4.3.3. Zu Grunde liegender Haftmechanismus . . . . .	57
<b>II. Speikobras</b>	<b>63</b>
<b>5. Material und Methoden</b>	<b>65</b>
5.1. Untersuchte Kobra-Arten und deren Haltung . . . . .	65
5.2. Morphologie der Giftzähne . . . . .	66
5.2.1. Computertomografie ( $\mu$ CT) . . . . .	66
5.2.2. Rasterelektronenmikroskopie (REM) . . . . .	66
5.3. Eigenschaften des Giftes . . . . .	67
5.3.1. Giftentnahme . . . . .	67
5.3.2. Physikalische Grundlagen . . . . .	68
5.3.3. Viskositätsmessung . . . . .	69
5.3.4. Tensiometrie . . . . .	70
5.3.5. Dichtemessung . . . . .	71

<b>6. Ergebnisse</b>	<b>73</b>
6.1. Morphologie der Giftzähne und des Giftkanals der Speikobras . . . . .	73
6.2. Chemisch-physikalische Eigenschaften der Giftflüssigkeit der Kobras .	80
6.2.1. Viskosität der Giftflüssigkeit . . . . .	80
6.2.2. Giftmenge . . . . .	82
6.2.3. Dichte der Giftflüssigkeit . . . . .	82
6.2.4. Oberflächenspannung der Giftflüssigkeit . . . . .	84
<b>7. Diskussion</b>	<b>87</b>
7.1. Eigenschaften des Schlangengiftes . . . . .	87
7.2. Morphologie des Giftkanals . . . . .	91
<b>III. Ausblick und Zusammenfassung</b>	<b>95</b>
<b>8. Ausblick</b>	<b>97</b>
<b>9. Zusammenfassung</b>	<b>99</b>
<b>10. Summary</b>	<b>103</b>
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>105</b>
<b>Anhang</b>	<b>119</b>
Publikation „3D Flow in the Venom Channel of a Spitting Cobra“ . . . . .	121
Danksagung . . . . .	133
Ehrenwörtliche Erklärung . . . . .	135



# Einleitung

---



## 1.1. Flüssigkeitsstrahlen im Tierreich

Flüssigkeitsstrahlen werden von diversen Tierarten zur Nahrungsbeschaffung, Feindabwehr oder Kommunikation genutzt. Flüssigkeitsstrahlen dienen dem Beutefang indem sie die Beute verletzen oder bewegungsunfähig machen. Pistolenkrebse können mit einer speziell umgeformten Knallschere einen Wasserstrahl erzeugen, der ihre Beute paralisieren oder sogar töten kann (Volz, 1938; Duffy, 1996; Schmitz u. Herberholz, 1998; Schultz u. a., 1998; Versluis u. a., 2000; Anker u. a., 2006). Schützenfische schießen aus dem Wasser heraus auf Insekten, die sich außerhalb des Wassers aufhalten (Smith, 1936; Lüling, 1963; Schuster u. a., 2004, 2006). Durch dieses Abschießen fallen die Insekten auf die Wasseroberfläche und werden so für die Fische leicht erreichbar. Häufig haben Gifttiere die Fähigkeit entwickelt ihr Gift nicht nur in die Beute zu injizieren, sondern dieses über unterschiedliche Mechanismen in Richtung von Angreifern oder Beute zu spritzen. Genannt sei hier das Giftspritzen der Skorpione (Newlands, 1974), einiger Faltenwespen (Jeanne u. Keeping, 1995) und der Speikobras (das im übrigen kein Speivorgang, sondern ein Spritzvorgang ist) (Bogert, 1943; Freyvogel u. Honegger, 1965; Greene, 1988; Wüster u. Thorpe, 1992). Kompliziert wird es im Falle des Bombardierkäfers: In mehreren Drüsen am Hinterleibsende des Käfers entsteht ein chemisches Gemisch, das explosionsartig den Hinterleib verlässt und Angreifer nicht nur durch den Knall, sondern auch durch seine chemische Wirkung effektiv in die Flucht schlägt (Beheshti u. McIntosh, 2007). Bei manchen Tierarten dient der Flüssigkeitsstrahl auch kommunikativen Zwecken: Die Wasserstrahlen der Pistolenkrebse werden über Sinneshaare auf den Scheren von Artgenossen wahrgenommen. Sie können Artgenossen Informationen über Stärke, Absichten und Geschlecht des Absenders geben (Herberholz u. Schmitz, 1998, 1999).

Die Zusammensetzung der von den Tieren verwendeten Flüssigkeiten ist ebenso divers wie ihre Funktion: Im einfachsten Fall besteht der Strahl aus Wasser, welches die Tiere ihrer Umgebung entnehmen. Schützenfische „spucken“ das Wasser (Salz- oder Brackwasser), in dem sie leben. Die marinen Knallkrebse nutzen das salzige Meerwasser (Smith, 1936; Volz, 1938). Gifftiere wie die Speikobras nutzen dagegen die teilweise sehr komplexen chemikalische Gemische ihrer Gifte als Strahlflüssigkeit (Bogert, 1943). Speispinnen fangen ihre Beute, indem Sie aus kurzer Distanz aus ihren Giftdrüsen eine Mischung aus Spinnseide, Gift und Klebstoff schleudern, welche die Beute bewegungsunfähig macht (Dabelow, 1958; MacAlister, 1960; Nentwig, 1985; Foelix, 1996).

So vielfältig die Zwecke der Strahlerzeugung sind und so unterschiedlich die Organismen sind, die sich der Flüssigkeitsstrahlen bedienen, so ähnlich ist dennoch das grundlegende Prinzip der Strahlerzeugung. Zusammenfassend besteht das Prinzip im Wesentlichen aus zwei Komponenten: In einer Druckkammer wird ein Druck auf eine Flüssigkeit erzeugt. Über eine Düse wird der Druck in Bewegungsenergie umgewandelt. Die Vielfalt der strahlerzeugenden Systeme liegt in den unterschiedlichen Methoden der Druckerzeugung, der Morphologie der Druckkammer, der verwendeten Flüssigkeit sowie der Form der Düse. In der vorliegenden Arbeit wurden diese Komponenten der strahlerzeugenden Systeme bei zwei Tiergruppen eingehend untersucht, den Speikobras und den Pistolenkrebse.

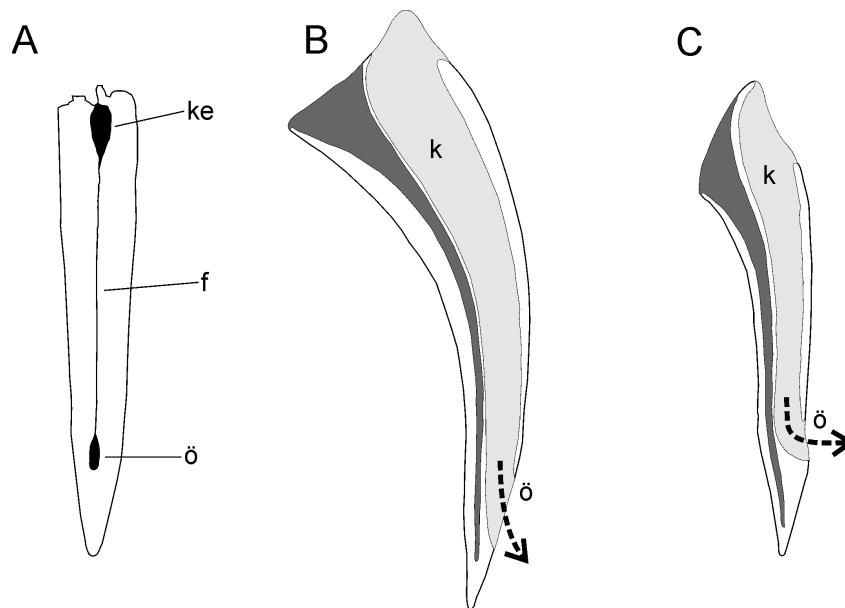
## 1.2. Der Speivorgang bei Speikobras

Mehrere Arten der asiatischen und afrikanischen Kobras der Gattungen *Naja* und *Hemachatus* können ihre Gifflüssigkeit als kompakten, schnellen Flüssigkeitsstrahl verspritzen (Bogert, 1943; Greene, 1988). Dieser Vorgang wird in der Literatur meist als „speien“ oder „spucken“ bezeichnet. Beide Begriffe sind irreführend oder zumindest unpräzise, da an dem Vorgang keinerlei Speichel oder Verdauungssäfte beteiligt sind. Es wird ausschließlich Gifflüssigkeit verspritzt (Koch u. Sachs, 1927; Rasmussen u. a., 1995)<sup>1</sup>. In den überwiegenden Fällen wird das Gift von der Kobra in das Gesicht eines Angreifers gespritzt (Barbour, 1922; Berthé, 2011). Gelangt es in die Augen, so kann es dort starke Schmerzen und Schädigungen des Auges bis hin zur

---

<sup>1</sup>Aufgrund der allgemeinen Gebräuchlichkeit der Begriffe speiend und nicht-speiend in Bezug auf Kobraarten werden diese Begriffe auch in der folgenden Arbeit dennoch verwendet





**Abbildung 1.1.:** A. Schematische Darstellung eines Speikobrazahnes (*N. pallida*), gesehen von vorne. Am proximalen Ende des Zahnes ist die Eintrittsöffnung des Giftkanals (ke) sichtbar. Von der Eintrittsöffnung bis zur zur distal gelegenen Austrittsöffnung des Giftkanals (ö) streckt sich die Naht bzw. Furche (f) des proteroglyphen Zahns. B. Schema eines aufgeschnittenen Giftzahns einer nicht-speienden Kobraart (z.B. *Naja naja*). Der Giftkanal (k) ist hellgrau markiert. Durch die langgestreckte Form der Austrittsöffnung des Kanals (ö) verlässt das Gift den Zahn relativ zum Kopf der Schlange nach unten hin (Giftstrahl durch Pfeil dargestellt). C. Schema eines aufgeschnittenen Giftzahns einer speienden Kobraart (z.B. *Naja pallida*). Der Giftkanal (k) ist hellgrau markiert. Durch die kurze, eher ovale bis kreisförmige Form der Austrittsöffnung des Kanals (ö) verlässt das Gift den Zahn relativ zum Kopf der Schlange nach vorne. Der Giftkanal verläuft vor der Austrittsöffnung fast orthogonal zur Längsachse des Zahnes (Giftstrahl durch Pfeil dargestellt). (Abb. B und C verändert nach Bogert, 1943 und Berthé, 2011)

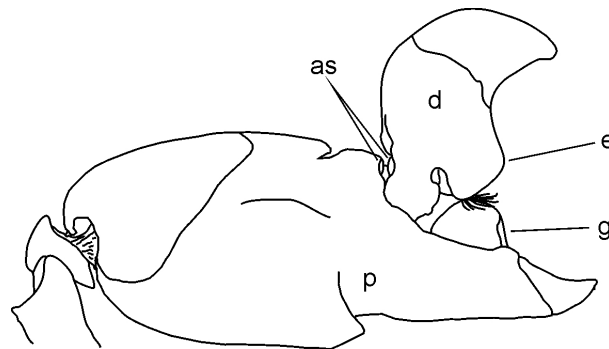
Erbblindung verursachen (Warrell u. David Omerod, 1976; Grüntzig u. a., 1985; Ismail u. a., 1993a,b).

Das Giftspritzen ist somit eine Verteidigungsstrategie der Kobras. In der Evolution ist das Giftspritzen mehrere Male unabhängig voneinander entstanden, zwei Mal innerhalb der echten Kobras (Gattung *Naja*) und einmal innerhalb der Gattung *Hemachatus* (monotypische Gattung, nur *Hemachatus haemachatus*, Wüster u. a. 2007). Der Vorgang des Giftspritzens beginnt in der Giftblase. Durch Kontraktion des *musculus adductor mandibulae externus superficialis* wird die Giftblase kontrahiert. Der Druckanstieg presst die Giftflüssigkeit durch den Ausführungsgang zur Basis des Giftzahnes, wo sich die Eingangsöffnung des Giftkanals befindet (Freyvogel u. Honegger, 1965; Rasmussen u. a., 1995; Young u. a., 2004). Der Giftkanal verläuft durch den Giftzahn bis zur Austrittsöffnung an der Zahnspitze (Bogert, 1943; de Pury, 2006). Kobras be-

sitzen am vorderen Ende des Oberkieferknochens zwei feststehende Giftzähne mit einer Längsfurche und einem ausgebildetem Innenkanal (Giftkanal), durch den das Gift fließt (siehe Abb. 1.1 A-C). Kobras gehören damit zu den Vorder-Furchenzähnern (Proteroglyphe, [Slowinski u. a. 1997](#)). Der Giftkanal eines Speikobrazahnes besitzt einige morphologische Anpassungen, die ihn von Giftzähnen der nicht-speienden Kobraarten unterscheiden ([Bogert, 1943](#); [Wüster u. Thorpe, 1992](#)). Entscheidend für das Giftspritzen ist vor allem die Umlenkung des Giftflusses um  $70-90^\circ$  zur Mittelachse des Kanals bis hin zur Austrittsöffnung des Kanals (siehe Abb. 1.1 B, C). Dies ermöglicht bei waagerechter Kopfhaltung der Kobra das Giftspritzen nach vorne. In einem Giftzahn nicht-speiender Kobras würde das Gift bei waagerechter Kopfhaltung der Schlange den Giftkanal nach unten, also zum Boden hin verlassen. Bei Speikobras verlässt das Gift den Giftkanal meist als kompakter Strahl. Die Strahldauer eines einzelnen Strahles beträgt ca. 40 ms ([Young u. a., 2004, 2008](#)). Die Reichweite des Strahles kann bis zu mehreren Metern betragen ([Rasmussen u. a., 1995](#); [Wüster u. a., 2007](#)).

### 1.3. Das Knallen der Pistolenkrebse

Pistolenkrebse (Familie Alpheidae), auch Knallkrebse genannt, sind die wohl diverseste Familie innerhalb der Decapoda, der Zehnfußkrebse (siehe beispielhaft [Anker u. a. 2006](#); [Kaestner 1993](#)). Namensgebend ist das im Laufe der Evolution stark umgeformte 1. Laufbeinpaar. Während eines dieser Laufbeine wie bei den meisten anderen Decapodenarten für das Greifen/Schneiden verwendet wird, ist das andere Laufbein zu einer großen Knallschere umgeformt (siehe Abb. 1.2). Der bewegliche Finger der Schere (Dactylus) besitzt auf der Innenseite eine mehr oder weniger ausgeprägte zahnförmige Erhebung, die beim schnellen Schließen der Schere in eine Vertiefung auf dem unbeweglichen Scherenteil (Propodus) gedrückt wird ([Mariappan u. a., 2000](#)). Dadurch wird aus der Vertiefung ein sehr schneller Wasserstrahl herausgedrückt, der die Schere schräg nach vorne verlässt ([Volz, 1938](#); [Ritzmann, 1973](#); [Schmitz, 2001](#)). Beim dem Schließen der Schere ist deutlich ein knackendes oder knallendes Geräusch vernehmbar. Lange Zeit wurde über die genaue Ursache des Geräusches spekuliert (z.B. [Coutière 1899](#); [Volz 1938](#); [Ritzmann 1974](#)): entsteht es beim Aufeinandertreffen der Scherenglieder oder gar beim Aufreißen der Schere? [Versluis u. a. \(2000\)](#) beschrieben eine andere Ursache für das laute Knallen: Durch das schnelle Ineinanderschlagen der zahnförmigen Erhebung auf dem Dactylus in



**Abbildung 1.2.:** Schematische Darstellung einer typischen Knallschere der Gattung *Alpheus*. Auf dem Dactylus (d) befindet sich eine warzenförmige Erhebung (e), die sich beim Schließen der Schere in eine Grube (g) auf dem Propodus (p) bewegt. Auf dem Propodus und Dactylus befinden sich Adhäsionsstrukturen (as), die bei vollständig geöffneter Schere aufeinanderliegen (Schema verändert nach Anker, 2006).

die Vertiefung des Propodus verlässt ein Wasserstrahl mit hoher Geschwindigkeit die Schere. Dabei erzeugt der Wasserstrahl eine Kavitationsblase in unmittelbarer Nähe der Scherenspitze.

Diese Kavitationsblase kollabiert rasch, wodurch ein lauter Knall sowie eine starke Temperaturerhöhung entstehen (Lohse u. a., 2001). Das Geräusch entsteht also kurz nach dem Zusammenschlagen der Schere. Die Erzeugung eines dermaßen schnellen Wasserstrahles erfordert eine sehr hohe Beschleunigung und folglich Bewegungsgeschwindigkeit des Dactylus beim Schließen der Knallschere. Wie kann eine solch hohe Beschleunigung erreicht werden, wenn die Bewegungsgeschwindigkeit durch die langsame Kontraktionsgeschwindigkeit des Muskelgewebes (Ritzmann, 1974) limitiert ist? Zahlreiche Arthropodenarten überwinden diese Limitierung durch spezielle Klick/Feder oder Katapultmechanismen, bei denen durch energiespeichernde oder blockierende Strukturen zunächst vor der Durchführung der Bewegung eine Spannung aufgebaut wird, die plötzlich abgebaut wird und in einer starken Beschleunigung resultiert (Gronenberg, 1996). Auch Knallkrebse besitzen solch einen Mechanismus, der die hohe Beschleunigung des Scherenfingers ermöglicht (Ritzmann, 1973, 1974): Der Knallkrebs *Alpheus heterochaelis* besitzt einen Muskelstrang zur Öffnung des Scherenfingers und zwei Muskelstränge für die Schließbewegung. Zunächst wird die Schere geöffnet. Nun kontrahiert der erste der Schließermuskeln. Bei geöffneter Schere liegt der Ansatz des Muskels am Apodem<sup>2</sup> dermaßen, dass die Schere durch dessen Kontraktion zunächst in der geöffneten Position gehalten wird. Kontrahiert

<sup>2</sup>Apodeme werden innerhalb der Krebstiere die Einstülpungen der Kutikula genannt, an denen die Muskelstränge ansetzen um die Gliedmaßen zu bewegen.

nun der zweite Schließermuskel, baut sich eine Spannung auf bis sich der Ansatzpunkt des ersten Muskels unterhalb des Drehpunktes des Scherenfingers bewegt hat. Ab diesem Moment wirken beide Muskeln am Schließvorgang des Scherenfingers mit, wodurch die Spannung schlagartig freigegeben wird und der Scherenfinger stark beschleunigt wird. Einige Knallkrebarten wie *Alpheus californiensis* besitzen noch einen weiteren Mechanismus zum Spannungsaufbau (Ritzmann, 1973, 1974): diese Arten besitzen kleine scheibenförmige Strukturen auf Propodus und Dactylus (siehe Abb. 1.2). Ist die Schere geöffnet, so liegen diese Strukturen unmittelbar aufeinander. In dieser Position entwickeln sie eine Haftwirkung, die beim Schließen der Schere zunächst überwunden werden muss. Dadurch ermöglichen diese Haftstrukturen eine höhere Beschleunigung der Schere, ähnlich dem muskulären Mechanismus. Unklar ist bislang zum einen die genaue Funktion dieser Haftstrukturen, zum anderen auch ob der muskuläre und der adhäsive Mechanismus zur Spannungserzeugung zugleich verwendet werden oder ob hier eine konvergente Evolution stattgefunden hat.

### 1.4. Wasserstrahlen in Anwendungsprozessen

Der Großteil der vorliegenden Arbeit beschreibt am Beispiel der Speikobras und Pistolenkrebse die funktionelle Morphologie der Druckkammern und die Eigenschaften der Strahlflüssigkeit sowie deren Einfluss auf die Erzeugung von Flüssigkeitsstrahlen. Ziel war es, dieses Wissen über die Natur dieser Vorgänge in der Entwicklung neuer, effizienterer Wasserstrahltechniken zu nutzen. Im Folgenden möchte ich daher die Grundlagen der Wasserstrahltechniken zusammenfassen, da diese Grundlagen für das Verständnis dieser Arbeit unabdingbar sind. Sofern nicht anders gekennzeichnet stammen die Angaben aus den angegebenen Standardwerken (Klocke u. König, 2007; Ilschner u. Singer, 2005).

Wasserstrahltechnologien werden je nach Anwendungsbereich zu unterschiedlichen Zwecken genutzt. Neben Reinigungs- und Injektionsanwendungen hat sich vor allem das Wasserstrahlschneiden in den vergangenen hundert Jahren als eigene Technik etabliert. Das Wasserstrahlschneiden wird zum einen als Trenntechnik in der Werkstoffverarbeitungstechnologie genutzt, zum anderen wird es zunehmend als chirurgisches Instrument im medizinischen Bereich eingesetzt. Bislang wird überwiegend mit kontinuierlichen Wasserstrahlen gearbeitet, wenig erforscht ist die Verwendung gepulster Strahlen (siehe Fletcher u. Palanker 2001). Gepulste Strahlen bieten

durch den sogenannten Druckstoß- oder Wasserhammer-Effekt (Joukowsky, 1900) jedoch einen Vorteil, der vor allem für den industriellen Anwendungsmaßstab entscheidend wäre: Während der Impuls bei kontinuierlichen Strahlen proportional zum Quadrat des Druckes auf die zu schneidende Oberfläche (Werkstück) ist, so gilt für den Druck beim Auftreffen eines gepulsten Strahles vereinfachend die Joukowsky-Gleichung 1.1:

$$\Delta p = \rho \cdot c \cdot \Delta v \quad (1.1)$$

Dabei ist  $\Delta p$  die Druckänderung,  $c$  ist die Wellenfortpflanzungsgeschwindigkeit,  $\Delta v$  ist der Geschwindigkeitsunterschied und  $\rho$  ist die Dichte.

Der Wirkungsgrad eines gepulsten Strahles im Medium Wasser ist bei gleichem Ausgangsdruck also um den Faktor 10 höher als bei einem kontinuierlichen Strahl. Insbesondere in der industriellen Fertigungstechnik könnte dies ein finanziell lohnenswerter Vorteil sein.

### 1.4.1. Wasserstrahlschneiden als industrielle Trenntechnik

Das Wasserstrahlschneiden bzw. Wasserstrahltrennen ist ein spanendes Fertigungsverfahren nach DIN 8580 und gehört in den Bereich der Trenntechnik. Mit dem Wasserstrahl lassen sich eine Vielzahl von Werkstoffen schneiden, von Biomaterialien wie Holz über Glas, Stein, Keramik bis hin zu Metallen und Metallegierungen. Da es sich um einen Kaltschneideprozess handelt, treten keine thermisch bedingten Verformungen der Werkstoffe während des Schneidens auf. Zudem ist kein Anpressdruck erforderlich. Diese beiden Eigenschaften führen zu einer hohen Schnittpräzision ohne Ausfransung und Grate. Die Präzision der Schnitte wird zusätzlich durch einen sehr dünnen Wasserstrahl erhöht. Es gibt zwei Verfahrensvarianten: Beim Wasserstrahlschneiden mit ausschließlich Wasser wird das Wasser auf 4000 bar verdichtet und durch Düsen von 0,1-0,4 mm gepresst. Der Wasserstrahl erreicht auf diese Weise Geschwindigkeiten bis zum dreifachen der Schallgeschwindigkeit. Das Wasserstrahlabrasivschneiden gleicht dem Wasserstrahlschneiden mit dem Unterschied, dass dem Wasserstrahl nach Verlassen der Wasserdüse in einer Mischkammer ein feinkörniges Abrasivmedium hinzugefügt wird. Durch diese Beimischung erhöht sich die Abtragwirkung des Wasserstrahls.

## 1.4.2. Wasserstrahlschneiden als chirurgisches Instrument

Die Wasserstrahlschneidetechnik wird seit Beginn der achtziger Jahre des vorigen Jahrhunderts vor allem in der Leber- und Nierenchirurgie eingesetzt (Papachristou u. Barthers, 1982). Die Wasserstrahlen bieten eine Reihe von Vorteilen gegenüber herkömmlichen Skalpellklingen und der Laserablation: Die Wasserstrahlen sind biokompatibel und steril. Es tritt keine thermische Belastung des Gewebes auf und das Gewebe kann über die Impulssteuerung selektiv geschnitten werden. Die selektive Schneidwirkung ermöglichte erst die Operation von Lebertumoren, da während der Tumorentfernung die stabileren Blutgefäße nicht durchtrennt werden (Une u. a., 1989; Izumi u. a., 1993; Baer u. a., 1993). Die verwendeten Drücke sind im chirurgischen Bereich mit durchschnittlich 20 bar deutlich niedriger als bei industriellen Anwendungen.

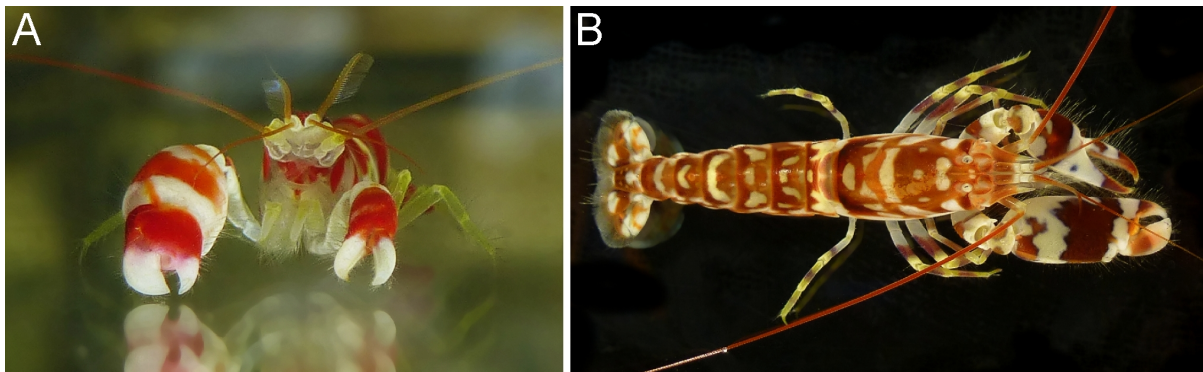
## 1.5. Behandelte Fragestellungen

Die Druckkammern, in denen die Strahlerzeugung erfolgt, sowie die Spritzkanäle sollten morphologisch charakterisiert werden. Eine dreidimensionale Rekonstruktion war erforderlich, um daraus Modelle zu erstellen, anhand derer die kooperierenden Ingenieure weiterführende fluiddynamische Untersuchungen durchführen konnten. Die physikalisch-chemischen Eigenschaften wie Viskosität, Dichte und Oberflächenspannung der Strahlflüssigkeit mussten ermittelt werden. Bei den Pistolenkrebsen sollten zudem weitere Mechanismen zur Erzeugung der enorm hohen Schließgeschwindigkeit der Knallscheren (Voraussetzung für die Strahlerzeugung) auf ihre Funktionsweise untersucht werden. Insbesondere die Morphologie und Funktion des Adhäsionsmechanismus, welcher die geöffnete Schere arretiert und dadurch eine Vorspannung vor der Schließbewegung erzeugt, sollte näher charakterisiert werden.

## 1.6. Beschreibung der untersuchten Tierarten

### 1.6.1. Pistolenkrebse

Beide in der Arbeit untersuchte Arten stammen aus der größten Gattung der Alpheidae, der Gattung *Alpheus*. *Alpheus randalli* Banner & Banner, 1980 ist mit 15-30 mm Körperlänge eine relativ kleine Knallkrebse (Abb. 1.3 A). Die Art lebt zum einen



**Abbildung 1.3.:** A. *Alpheus randalli*, eine relativ kleinwüchsige Knallkrebart. Das rechte 1. Laufbein des Tieres ist die Knallschere. B. *Alpheus bellulus*, eine mittelgroße Knallkrebart. Auch bei diesem Tier ist das rechte 1. Laufbein die Knallschere.

im Indo-Pazifik, zum anderen kommt sie auf den Marquesa Inseln im südlichen Pazifik vor (Banner u. Banner, 1980). Die Krebse leben oft gemeinsam mit Grundeln (Gobiidae) aus der Unterfamilie der Goobiinae (Banner u. Banner, 1980). *Alpheus bellulus* Miya & Miyake 1969, der „Schöne Knallkrebs“ wie seine deutsche Bezeichnung lautet, ist in den Küstengewässern des tropischen und subtropischen Indopazifik sowie in den pazifischen Küstenbereichen Japans verbreitet (Miya u. Miyake, 1969). Mit einer Gesamtlänge von ca. 30-80 mm zählt er zu den größeren Knallkrebarten (Abb. 1.3 B). Wie auch viele seiner verwandten Arten bewohnt er häufig selbstgegrabene Höhlen gemeinsam mit Grundeln, vorzugsweise aus der Unterfamilie Gobiinae (Banner u. Banner, 1980; Miya u. Miyake, 1969).

### 1.6.2. Kobras

Kobras gehören zur Familie der Elapidae (Giftnattern) zu der auch weitere bekannte Giftschlangen wie Taipane, Mambas und Tigerottern gehören (Slowinski u. a., 1997). Die echten Kobras werden in der Gattung *Naja* zusammengefasst (Wüster u. a., 2007). Nicht alle Arten der Kobras sind in der Lage Gift zu spritzen. Auch wenn von etwa 15 der 28 *Naja*-Arten über ein „Speiverhalten“ berichtet wurde, hat sich das Giftspritzen nur bei einigen wenigen Arten als echte und funktionelle Verteidigungsstrategie entwickelt, bei der das Gift in Richtung Kopf/Gesicht eines Angreifers gespritzt wird. In dieser Arbeit wurden insgesamt fünf Kobrarten untersucht, darunter drei Arten, bei denen das Giftspritzen deutlich ausgeprägt und regelmäßig beobachtbar ist (*N. pallida*, *N. siamensis*, *N. nigricollis*, Abb. 1.4) und zwei Arten, die kein Spritzverhalten zeigen (*N. naja*, *N. kaouthia*) (Wüster u. Thorpe, 1992; Slowinski u. Wüster, 2000; Wüs-



**Abbildung 1.4.:** A. Die rote Speikobra *N. pallida*. B. Die Schwarzhalskobra *N. nigricollis*. C. Die Indochinesische Kobra *N. siamensis* beim Giftspritzen (Fotos von G. Westhoff).

ter u. a., 2007). Die afrikanischen Arten *Naja pallida* Boulenger, 1896 und *Naja nigricollis* Reinhardt, 1843 bevorzugen weitgehend trockene Habitate wie Savannen oder Busch/Strauch/Halbwüsten in Nord-Ost-Afrika und Zentral-Afrika. Die Schlangen werden auch häufig in Kulturlandschaften (Plantagen, Acker- und Weideland) angetroffen (Broadley, 1968; Trutnau, 1998; Luiselli u. Angelici, 2000; Spawls u. a., 2001).

Die asiatischen Arten *Naja siamensis* Laurenti, 1768, *Naja kaouthia* Lesson, 1831 und *Naja naja* (Linnaeus), 1758 leben in feuchteren Habitaten häufig in unmittelbarer Nähe von Gewässern. *N. siamensis* bevorzugt waldreiche Habitate, während *N. kaouthia* und *N. naja* auch weniger bewaldete Habitate bewohnen. *N. siamensis* lebt in Süd-Ost-Asien (Thailand, Kambodscha, Vietnam und Laos), *N. naja* vor allem auf dem indischen Subkontinent und *N. kaouthia* in Ost-Indien und West-China (Wüster u. Thorpe, 1994; Wüster, 1996; Trutnau, 1998; Chanard u. a., 2000).



Teil I.

Pistolenkrebse



# Material und Methoden

---

# 2

## 2.1. Versuchstiere und Haltung

Die Pistolenkrebse der Arten *Alpheus bellulus* und *Alpheus randalli* wurden aus dem Tierhandel bezogen (Mrutzek Meeresaquaristik GmbH, Ritterhude, Deutschland). Vor der Verwendung der Tiere für die Untersuchungen wurden jeweils mindestens drei Häutungszyklen der Tiere abgewartet. Somit war gewährleistet, dass zur Untersuchung nur vollends ausgebildete Knallscheren verwendet wurden (Przibram, 1901; Wilson, 1903; Read u. a., 1991; Read u. Govind, 1997). Zur Kontrolle der Anzahl der Häutungen wurden die Aquarien regelmäßig auf Exuvien kontrolliert.

Die Krebse wurden in einem Salzwasser-Aquarium (150 x 50 x 50 cm) bei 25 °C Wassertemperatur und einem Salzgehalt von 3 % gehalten. Als Salz wurde die Mischung „Reef Salt“ (Aqua Medic GmbH, Bissingen, Deutschland) verwendet. Aufgrund der innerartlichen Aggression und zur besseren Kontrolle der Häutungen wurden die Tiere einzeln in wasserdurchlässigen Plastikboxen (20 x 12 x 8 cm) innerhalb des großen Beckens gehalten. Exuvien wurden täglich abgesammelt und entweder in Ethanol-Wasser-Mischung (70 %) oder im Gefrierfach für weitere Untersuchungen konserviert. Vollständige Knallscheren wurden folgendermaßen entnommen: Der Knallkrebs wurde in einem Becherglas auf Eis gestellt um die Wassertemperatur abzusenken. Bei ca. 10° C waren die Krebse so träge, das man recht einfach mit einer feinen Pinzette die Coxa der Knallschere andrücken konnte, wodurch sich die Schere durch den Autotomie-Mechanismus (Wilson, 1903; Read u. a., 1991; Read u. Govind, 1997) leicht an dieser Stelle abtrennen ließ. Die Krebse überlebten diese Prozedur bis auf den Verlust ihrer Schere schadlos. Für die morphologischen Untersuchungen wurden die Scheren vor der weiteren Konservierung bzw. Untersuchung mit destilliertem Wasser gründlich abgespült, um eventuelle Salzurückstände aus dem

Aquarienwasser zu entfernen.

## 2.2. Lichtmikroskopie der Knallscheren

Mit einem Binokular (Leica M651, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) konnten Aufsichtsaufnahmen der Knallscheren gemacht werden. Für die Darstellung des Verlaufs der Apodeme innerhalb der Knallscheren wurde der Propodus einiger Scheren teilweise mit einer Mikroschere aufgeschnitten, so dass die Lage der Apodeme sowie auch die Lage des Gelenks sichtbar wurde. Zudem wurde auch der komplette Dactylus mit einer Pinzette aus dem Propodus gelöst, um die Apodeme darzustellen. Die Scheren wurden auf einem Probenhalter befestigt und mit verschiedenen Vergrößerungen mit Hilfe einer Kamera (Leica DFC290 HD, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) aufgenommen. Für die Vermessung der Scherenglieder und Haftscheiben auf den Lupenaufnahmen wurde die Software ImageJ (Open source, public domain) verwendet.

Für ein räumliches Bild der Haftscheiben von *A. randalli* in Echtfarben wurden Aufnahmen mit Hilfe eines digitalen 3d-Mikroskops gemacht (VHX 1000, Keyence Deutschland GmbH, Neu-Isenburg, Deutschland). Hierbei handelt es sich um ein Aufsichtsmikroskop mit hoher Vergrößerung, mit dem auch dreidimensionale Aufnahmen einer reliefartigen Oberfläche mit hoher Tiefenschärfe erzeugt werden können. Pro Probe wurden hintereinander mehrere Aufnahmen in unterschiedlichen Fokussierungsebenen aufgenommen. Die einzelnen Aufnahmen einer Probe wurden mittels der geräteeigenen Software kombiniert und als dreidimensionales Gesamtbild ausgegeben. Der Vorteil gegenüber der Rasterelektronenmikroskopie ist die Möglichkeit der topografischen Darstellung der Oberfläche von frischen, hydrierten Proben (Standard-REM: nur dehydriert) und zudem die Darstellung in Echtfarben (REM: ausschließlich Graustufen).

## 2.3. Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Knallscheren wurden in einem CP-Trockner (CPD-020, Balzers Union GmbH, Deutschland) getrocknet und mittels klebender Kohletabs oder flüssiger Leitkohle (Leit-C, Plano GmbH, Deutschland) auf Probetellern befestigt. Für Übersichtsaufnahmen kompletter Scheren wurde eine selbstgebaute, becherförmige Probenhalte-

rung verwendet (beschrieben in [Wichard u. a. 1995](#)). Der Becher bestand aus Metall und funktionierte als Elektronenfänger. Diese Konstruktion verhinderte Aufladungen des Hintergrundes und erhöhte Schärfe sowie Kontrast der Aufnahmen. Anschließend wurden die Proben in einem Sputtergerät (SCD-040, Balzers Union GmbH, Aßlar, Deutschland) entweder mit einer dünnen Schicht Gold oder auch, für EDX-Untersuchungen, mit einer dünnen Schicht Silber beschichtet, um Aufladungen der Proben durch den Elektronenstrahl zu vermeiden. Untersucht wurden die Proben in einem Cambridge Stereoscan S200 SEM (Cambridge Instruments, Cambridge, Großbritannien) und einem Leo 1450 SEM (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) bei 3-25kV Beschleunigungsspannung.

## 2.4. Energiedispersive Röntgenanalyse (EDX)

Bestrahlt man ein Objekt mit hochenergetischer Elektronenstrahlung, wie es in einem REM der Fall ist, so emittiert das Objekt Röntgenstrahlung. Die Energie der dabei emittierten Röntgenstrahlung ist für jedes Element charakteristisch. Eine Detektion und Analyse der Röntgenstrahlung gibt folglich Aufschluss über die elementare Zusammensetzung der Probe. Zwar ist die EDX-Analyse vorrangig qualitativ, anhand der Stärke der Spektren lassen sich aber auch einfache quantitative Aussagen über das Vorkommen der Elemente in der Probe machen ([Goldstein, 1992](#)).

Die EDX-Analysen wurden in einem Leo 1450 SEM (Leica, Deutschland) durchgeführt. Dieses REM verfügte über einen zusätzlichen Detektor für Röntgenstrahlung (Model 7060, Oxford Microanalysis Group, England). Die Proben wurden wie für die Rasterelektronenmikroskopie (siehe Abschnitt 2.3) vorbereitet. Einige Proben wurden mit einer dünnen Schicht Silber beschichtet, um die durch das elementare Gold entstehenden Röntgenspektren weitestgehend zu vermeiden, da diese die Detektion der Spektren einiger anderer Elemente erschweren könnten ([Goldstein, 1992](#)). Für detaillierte Querschnittaufnahmen der Haftscheiben wurde eine 30 µm Goldschicht verwendet, da für diese Aufnahmen eine höhere Auflösung notwendig war und zusätzlich Aufladungen der Probe vermieden werden mussten. Die EDX-Analyse bietet zwei Funktionen, die für diese Untersuchungen genutzt wurden: Zum Einen können Verteilungskarten ausgewählter Elemente in Bereichen der untersuchten Probe erstellt werden. Verteilungskarten wurden für die Elemente Kohlenstoff (C), Calcium (Ca) sowie als Referenz für das jeweilige Sputtermaterial (Au) oder (Ag) erstellt. Da

die Sputtermaterialien als dünne Schicht auf sämtlichen Oberflächenbereichen der Probe liegen, kann man anhand der Darstellung und Verteilung der Sputtermaterialien eventuelle Abschattungen des Sensors ausmachen. Abschattungen entstehen in Probenbereichen, die bedingt durch das Relief und die Ausrichtung der Probe entweder vom Elektronenstrahl nicht erfasst werden oder deren Röntgenstrahlen nicht den EDX-Sensor erreichen. Abschattungen werden als dunkle Stellen auf den Verteilungskarten des Sputtermaterials sichtbar. Des Weiteren wurden für ausgewählte Punkte auf der Probe detaillierte Röntgenspektren der dort vorkommenden Elemente erstellt. In diesen Spektren werden die detektierten Impulse abhängig von der Energie (in der Einheit keV) der Röntgenquanten dargestellt, die aus der bestrahlten Probe emittiert werden. Anhand der Energien konnten mittels der Gerätesoftware die Peaks der Impulse die jeweiligen Elemente zugeordnet werden. Aufgrund der Verteilung der Elektronen auf die Elektronenschalen der Elemente ist bei Elementen mit höherer Ordnungszahl zum Teil mehr als ein Peak sichtbar, so beispielsweise bei Kalzium. Die Spektren wurden punktuell in allen untersuchten Bereichen gemessen.

### 2.5. Computertomografie ( $\mu$ CT)

Knallscheren von *A. randalli* und *A. bellulus* wurden von lebenden Tieren entnommen (siehe Abschnitt 2.1). Die basalen Bereiche der Scheren sowie die Muskulatur wurden zum Teil entfernt, um Auflösung und Kontrast der Aufnahmen zu erhöhen. Die Scheren wurden mit der Kritisch-Punkt-Methode (Goldstein, 1992) in einem Kritisch-Punkt-Trockner (CP 020, Balzers Union GmbH, Aßlar, Deutschland) getrocknet. Die getrockneten Proben wurden einzeln in mit Watte gefüllte Eppendorfgläser gegeben. Die Eppendorfgläser wurden in die Probenkammer des  $\mu$ CT-Gerätes ( $\mu$ CT 20, Scanco Medical AG, Bassersdorf, Deutschland) gestellt und fixiert. Die Scheren wurden zunächst im geschlossenen Zustand aufgenommen. Anschließend wurden die Scheren in eine Ethanol/Wassermischung gegeben, um die Beweglichkeit des Dactylus wieder herzustellen. Die Scheren konnten nun wieder in den geöffneten Zustand überführt, erneut getrocknet und erneut aufgenommen werden. Aus den Röntgenbildern des Computertomografen wurden mit der Software des Gerätes Schnittbilder entlang der drei Hauptachsen (x-y, y-z, z-x) der Knallscheren erstellt. Auf diesen Schnittbildern wurden mit der Software Amira® (Amirasoft GmbH, Deutschland) die Bereiche des Dactylus, des Propodus und der Druckkammer einzeln von Hand bzw. zum Teil

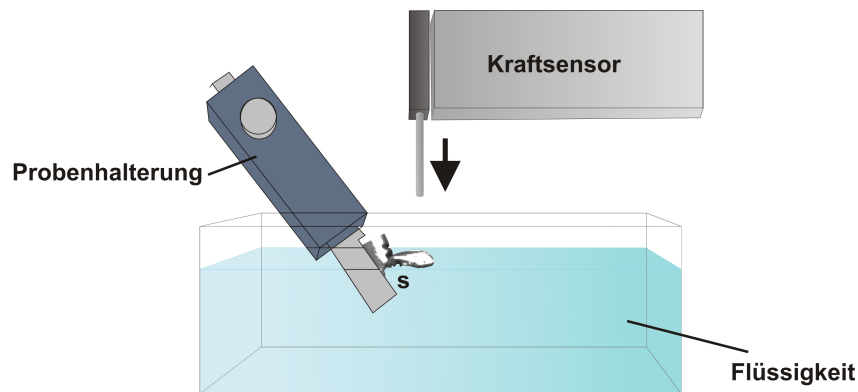
durch Unterstützung der Software markiert. Aus diesen Markierungen wurden mit der Software dreidimensionale Darstellungen von Dactylus, Propodus, der Druckkammer sowie der Haftscheiben errechnet. Mittels der Funktion *surfacegen* und *surfaceview* können in der Darstellung die markierten Bereiche einzeln, kombiniert oder auch transparent eingeblendet werden. Die Bereiche konnten mit der Software Amira vermessen werden. Für die Druckkammer wurden über die Funktion *tissuestats* die Volumina im geschlossenen und geöffneten Zustand der Schere errechnet werden. Da das Programm die Dimensionen Volumen, Oberfläche und Strecke in Voxel ausgibt, mussten über die bekannte Kantenlänge eines Voxels die ausgegebenen Werte in die Einheiten Meter, Quadratmeter und Kubikmeter umgerechnet werden.

## 2.6. Messung der Haftkraft der Haftscheiben

### 2.6.1. Vorversuche

Von *A. bellulus* und *A. randalli* wurden Scheren frisch abgenommen (siehe Abschnitt 2.1) und in 3 %-iges Salzwasser gelegt. Der Dactylus (beweglicher Scherenfinger) wurde leicht mit einer Nadel angehoben, so dass die Haftscheiben von Propodus und Dactylus zueinander in Kontakt standen. Die Nadel wurde sofort beiseite genommen. Blieb die Schere ohne Zutun geöffnet, konnte diese durch stärkeren Druck auf den Scherenfinger wieder geschlossen werden. Anschließend wurden bei einigen Scheren die Haftscheiben entweder auf dem Propodus oder auf dem Dactylus unter der Lupe mit der Spitze einer Kanüle mit geringem Druck angekratzt, so dass sichtbare Kratzer und Materialablösungen auf der Oberfläche entstanden. Die Beschädigungen wurden im REM dokumentiert. Nun wurde die Schere erneut mit der Nadel geöffnet und beobachtet, ob der Scherenfinger weiterhin wie zuvor im geöffneten Zustand verblieb oder die Schere sich wieder schloss.

Einige lebende Exemplare wurden zunächst mit einer Pipettenspitze durch leichte Berührung an den Scheren gereizt, um die Krebse zum Knallen anzuregen. Bei den Exemplaren, die bereitwillig knallten wurden nun die Haftscheiben auf Propodus oder Dactylus vorsichtig mit einer der Spitze einer Kanüle angekratzt. Anschließend wurde untersucht, ob die Knallkrebse noch zum Knallen in der Lage waren, in dem sie erneut zum Knallen animiert wurden. Die Beobachtungen wurden festgehalten.

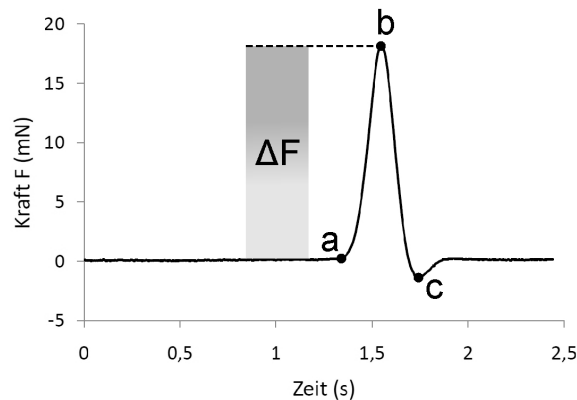


**Abbildung 2.1.:** Schema des Versuchsaufbaus zur Messung der Haftkraft. Die geöffnete Schere (s) ist auf der Spitze der Probenhalterung fixiert und befindet sich in der Flüssigkeit des kleinen Aquariums. Die Probenhalterung kann in beliebiger Richtung nachjustiert werden, um die Schere in die richtige Position zur Sensorspitze auszurichten. Der Kraftsensor kann über einen Motorbetriebenen Mikrovortrieb abgesenkt und wieder angehoben werden. Die Messdatenaufnahme erfolgt am Computer mittels der Software Cassylab.

### 2.6.2. Hauptversuche

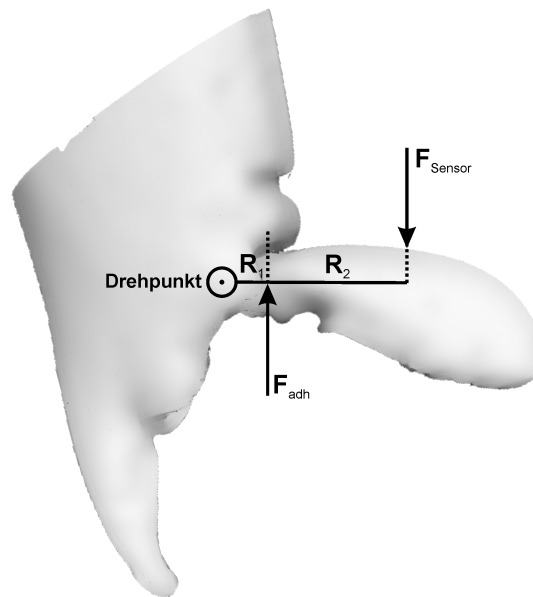
Die maximale Haftkraft der Haftpads von *A. randalli* und *A. bellulus* wurde mit einem Kraftsensor (Kraftsensor S, LD Didactic, Hürth, Deutschland, Messbereich  $\pm 1$  N) gemessen. Der Versuchsaufbau ist in Abb. 2.1 dargestellt. Die Aufnahme der Messwerte erfolgte digital über die Software CASSY Lab 1 (LD Didactic, LD Didactic, Hürth, Deutschland). Kurz vor Beginn der Messungen wurde zunächst einem lebenden Individuum eine Knallschere abgenommen (siehe Abschnitt 2.1). Die Knallschere wurde in eine speziell angefertigte Probenhalterung aus Epoxydharz (Epoxydharz „L“, Toolcraft®, Conrad Electronics, Deutschland) gesetzt. Die Halterung besaß eine Einenkung, in welche die Knallschere eingepasst war. Die Spitze des Propodus konnte so nicht nach vorne aus der Halterung heraus gedrückt werden. Die Scheren wurden nun mit Dental-Abformpaste (President Light Body R Gel, Coltene Whaledent, Hamburg, Deutschland) zusätzlich fixiert, damit sie nicht nach oben aus der Halterung springen konnten. Die Abformpaste härtet auch unter Wasser rückstandsfrei ohne Abgabe von Lösemitteln innerhalb kürzester Zeit aus, so dass die Schere während der gesamten Präparation unter Wasser bleiben konnte und somit stets hydriert war. Die Probenhalterung mit der Schere wurde nun so befestigt, das die Schere in ein kleines Aquarium abgesenkt werden konnte. Das Aquarium war zunächst mit 3 %igem Salzwasser gefüllt. Der bewegliche Finger der Knallschere wurde nun mit einer feinen Nadel angehoben, so dass die Haftscheiben aneinander hafteten. Der Kraft-





**Abbildung 2.2.:** Dargestellt ist der Kurvenverlauf der gemessenen Kraft bei einer Einzelmessung. Zunächst bleibt die gemessene Kraft auf der 0-Linie, während die Sensorspitze sich der geöffneten Schere nähert. Bei (a) trifft die Sensorspitze auf den Dactylus der Schere. Die gemessene Kraft steigt an, da die Haftkraft zunächst den Dactylus am Propodus festhält und die Sensorspitze dadurch einen Widerstand erfährt. Im Punkt (b) ist der Wendepunkt (Extrempunkt) der Kraftkurve erreicht. Die Druckkraft der Sensorspitze übersteigt die Haftkraft, die den Dactylus festhält, der Dactylus löst sich, die Schere schließt sich. In Punkt (c) federt die Sensorspitze kurzzeitig in die entgegengesetzte Richtung, da der Widerstand durch den Dactylus abrupt wegfällt. Hier wird kurzzeitig eine Kraft mit negativem Vorzeichen gemessen.  $\Delta F$  entspricht der maximalen Haftkraft.

sensor war an einem Mikrovortrieb befestigt und konnte mittels diesem exakt in Position über der geöffneten Knallschere platziert werden. Das Abwärts- und Aufwärtsbewegen des Sensors erfolgte über einen Elektromotor, der an den Mikrovortrieb angeschlossen war. Die Geschwindigkeit des Sensors konnte stufenlos über ein angeschlossenes Netzteil geregelt werden. Die Geschwindigkeit des Sensors wurde zuvor für verschiedene Spannungen ermittelt, indem für bestimmte Zeitintervalle vorher-nachher-Fotos der Sensorspitze aufgenommen wurden. Die Wegstrecken des Sensors wurden mit der Software ImageJ vermessen und durch das Zeitintervall dividiert, um die absolute Geschwindigkeit zu errechnen. Der Sensor wurde abgesenkt, bis die Sensorspitze auf die Schere traf und diese schloss. An dem Punkt des Schließens der Schere wurde die maximale Haftkraft gemessen. Um ein besseres Verständnis der Funktionsweise des Hafteffektes zu bekommen, wurde die Haftkraft nicht nur in Salzwasser sondern ebenso in verschiedenen anderen Flüssigkeiten bzw. Lösungen verschiedener Konzentrationen gemessen (siehe Tabelle 2.1). Die Flüssigkeiten bzw. Lösungen unterschieden sich in ihrer Viskosität sowie in ihrer Oberflächenspannung.



**Abbildung 2.3.:** Schematische Darstellung einer vollständig geöffneten Pistolenkrebsschere. Der Drehpunkt gibt die Lage der Achse an, um die sich der Dactylus im Gelenk dreht. Der Pfeil  $F_{\text{Sensor}}$  gibt die Ansatzstelle und Bewegungsrichtung der Sensorspitze an.  $F_{\text{adh}}$  gibt Angriffspunkt und Richtung der Adhäsionskraft an. Da die Sensorspitze nicht unmittelbar auf Höhe der Adhäsionsstrukturen ansetzt, müssen für die Berechnung der absoluten Haftkraft die beiden Hebelarme  $R_1$  und  $R_2$  bestimmt und verrechnet werden.

### 2.6.3. Auswertung der Kraftmessung

Der Vorgang einer einzelnen Kraftmessung lässt sich anhand von Abb. 2.2 beschreiben: Im Anfangsbereich der Messkurve wird die Sensorspitze an den geöffneten Dactylus mit der jeweiligen Geschwindigkeit angenähert. Trifft die Sensorspitze bei **a** auf den Dactylus, so steigt die gemessene Kraft an während die Sensorspitze weiterfährt. Ab einem bestimmten Kraftbetrag löst sich der Dactylus aus seiner Position vom Propodus, der gemessene Kraftbetrag fällt abrupt ab (**b**). Der Sensor schlägt minimal in die entgegengesetzte Richtung aus (**c**) und kehrt danach in die ursprüngliche Position zurück. Der maximale Kraftbetrag vor dem Ablösen des Dactylus wurde nun mit der maximalen Haftkraft der Haftscheibe gleichgesetzt.

Aufgrund der Anatomie der Knallschere konnte die Sensorspitze nicht auf gleicher Höhe mit den Haftscheiben ansetzen. Folglich waren bei der Auswertung Hebelkräfte zu berücksichtigen (siehe Abb. 2.3). Die Sensorspitze wurde stets so ausgerichtet, dass sie etwa in der Mitte des Dactylus ansetzte. Die genaue Ansatzstelle wurde mittels eines Fotos jeweils festgehalten. Die Vermessung der Hebelwege wurde anhand der

Fotos mit der Software ImageJ (Open source, public domain) durchgeführt. Aus den Hebelwegen wurde zunächst die absolute Haftkraft errechnet. Dazu wurde folgende Formel genutzt:

$$\frac{R_2 \times F_{\text{sensor}}}{R_1} = F_{\text{adh}} \quad (2.1)$$

$R_1$  und  $R_2$  entsprechen den beiden Hebelarmen,  $F_{\text{sensor}}$  ist die vom Sensor gemessene Kraft und  $F_{\text{adh}}$  die tatsächliche Haftkraft an der Stelle der Haftscheibe. Für eine Vergleichbarkeit der Haftkräfte verschiedener Scheren wurde die Haftkraft auf die Fläche der Haftscheiben umgerechnet. Dazu wurden fotografische Aufnahmen der Haftscheiben unter der Lupe aufgenommen (siehe Abschnitt 2.2). Die Kontaktfläche der Haftscheiben wurde anschließend bestimmt und die Kraft jeweils für jede Probe auf die Kontaktfläche der Haftscheiben umgerechnet und in der Einheit  $\text{mN}/\text{mm}^{-1}$  angegeben.

**Tabelle 2.1.:** Auflistung der im Versuch zur Messung der Haftkraft verwendeten Flüssigkeiten bzw. Lösungen sowie deren Viskosität, Oberflächenspannung und Konzentration in wässriger Lösung. Die Viskosität und Oberflächenspannung gelten für Ethanol und Glycerin als Reinstoff.

Medium	Viskosität (mPas)	Oberflächenspannung ( $\text{N} \cdot \text{m}^{-3}$ )	Konzentration (%)
Salzwasser	ca. 1,0	ca. 72,8	3
Ethanol	1,19	22,55	1-100
Glycerin	1412	63,4	10-100
Sucroselösung	4/180	<72,8	<10/30/70



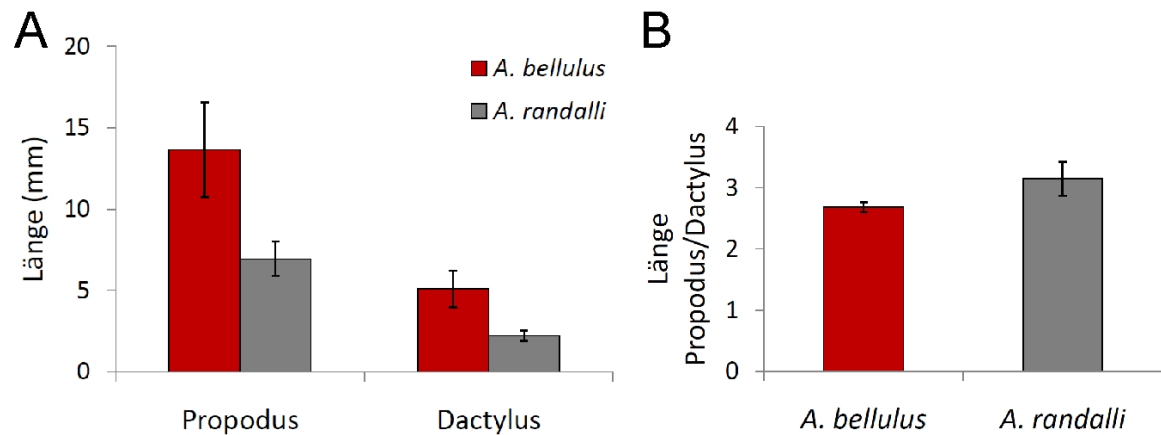
# Ergebnisse

---

## 3.1. Morphologie der Scherenglieder und der Druckkammer der Knallscheren

Die Scherenglieder Propodus und Dactylus der Knallscheren wurden anhand von Lupenbildern vermessen. Der Propodus von *A. randalli* besaß eine Länge von durchschnittlich  $6,94 \text{ mm} \pm 1,07$  und der Dactylus eine Länge von  $2,21 \text{ mm} \pm 0,31$  (Abb. 3.1 A). Der Propodus von *A. bellulus* besaß eine Länge von  $13,65 \text{ mm} \pm 2,91$  und der Dactylus eine Länge von  $5,1 \text{ mm} \pm 1,12$ . Die Scherenglieder von *A. bellulus* waren damit jeweils signifikant größer als die Scherenglieder von *A. randalli* (t-test,  $P < 0,001$ ). Das Verhältnis der Scherenglieder zueinander betrug bei *A. randalli* 3,15:1 (Propodus zu Dactylus) und bei *A. bellulus* 2,68:1 (Abb. 3.1 B). Der Propodus von *A. randalli* war damit im Verhältnis zum Dactylus signifikant größer als bei *A. bellulus* (t-test,  $P < 0,001$ ).

Von den Innenseiten (= den einander zugewandten Seiten) des Dactylus und Propodus der Knallscheren von *A. randalli* und *A. bellulus* wurden im REM Übersichtsaufnahmen sowie Detailaufnahmen bei stärkerer Vergrößerung aufgenommen. Auf dem Dactylus der Knallscheren von *A. randalli* ist auf der Innenseite (= der dem Propodus zugewandten Seite) jeweils eine warzenförmige Erhebung sichtbar (Abb. 3.2 A, C). Diese befindet sich nahe des Scherengelenkes und erhebt sich ca. 100-200  $\mu\text{m}$  vom übrigen Dactylus. Zur Spitze des Dactylus fällt die Erhebung flach ab, zum Gelenk hin dagegen steil. Auf dem höchsten Punkt der Erhebung befinden sich zahlreiche (15-20) bis zu 350  $\mu\text{m}$  lange haarförmige Borsten, die auf ihrer oberen Hälfte bis zur Spitze hin mit 5-20  $\mu\text{m}$  langen haarförmigen Borsten gefiedert sind (Abb. 3.2 D). Die langen Borsten sind zur Spitze des Dactylus geneigt. Die Oberfläche der Kutikula im

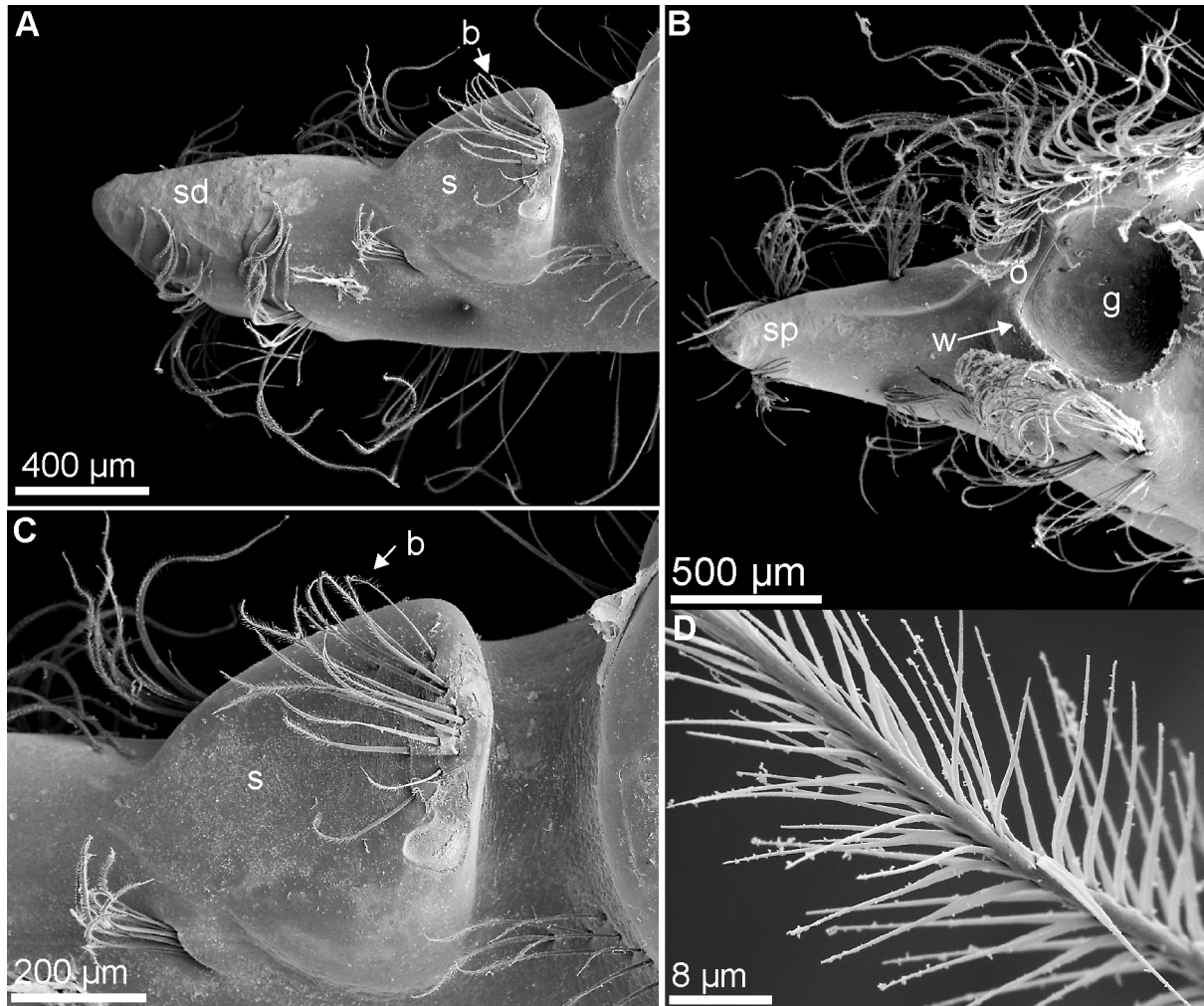


**Abbildung 3.1:** A. Gemessene Längen der Scherenglieder von *A. randalli* und *A. bellulus* und deren Standardabweichungen. B. Längenverhältnis von Propodus zu Dactylus, dargestellt als Quotient Propodus/Dactylus sowie die Standardabweichung (N = 9).

Spitzenbereich des Dactylus war auf allen Proben aufgeraut, als wären Teile der Kutikula abgeplatzt oder durch mechanische Beanspruchung abgerieben wurden. Der Dactylus war mit zahlreichen weiteren gefiederten und ungefederten und bis zu 1 mm langen Borsten bedeckt. Auf dem Propodus der Knallschere von *A. randalli* ist auf der Innenseite (= der dem Dactylus zugewandten Seite) eine runde, schüsselförmige Grube sichtbar (Abb. 3.2 B). Am Rand der Grube befindet sich eine ca. 30 µm breite Wulst, die sich wie ein Dichtungsring um die gesamte Grube erstreckt und sich morphologisch deutlich von der umgebenden Kutikula abhebt. Der Grubenrand senkt sich zur Spitze des Propodus hin ab, so dass die Grube eine ca. 150 µm breite Öffnung besitzt, die zur Längsachse des Propodus um ca. 20-30° seitlich versetzt ist. Der Propodus ist, vor allem lateral, mit mehreren Büscheln haarförmiger Borsten besetzt. Die Borsten sind von sehr unterschiedlicher Länge und Fiederung.

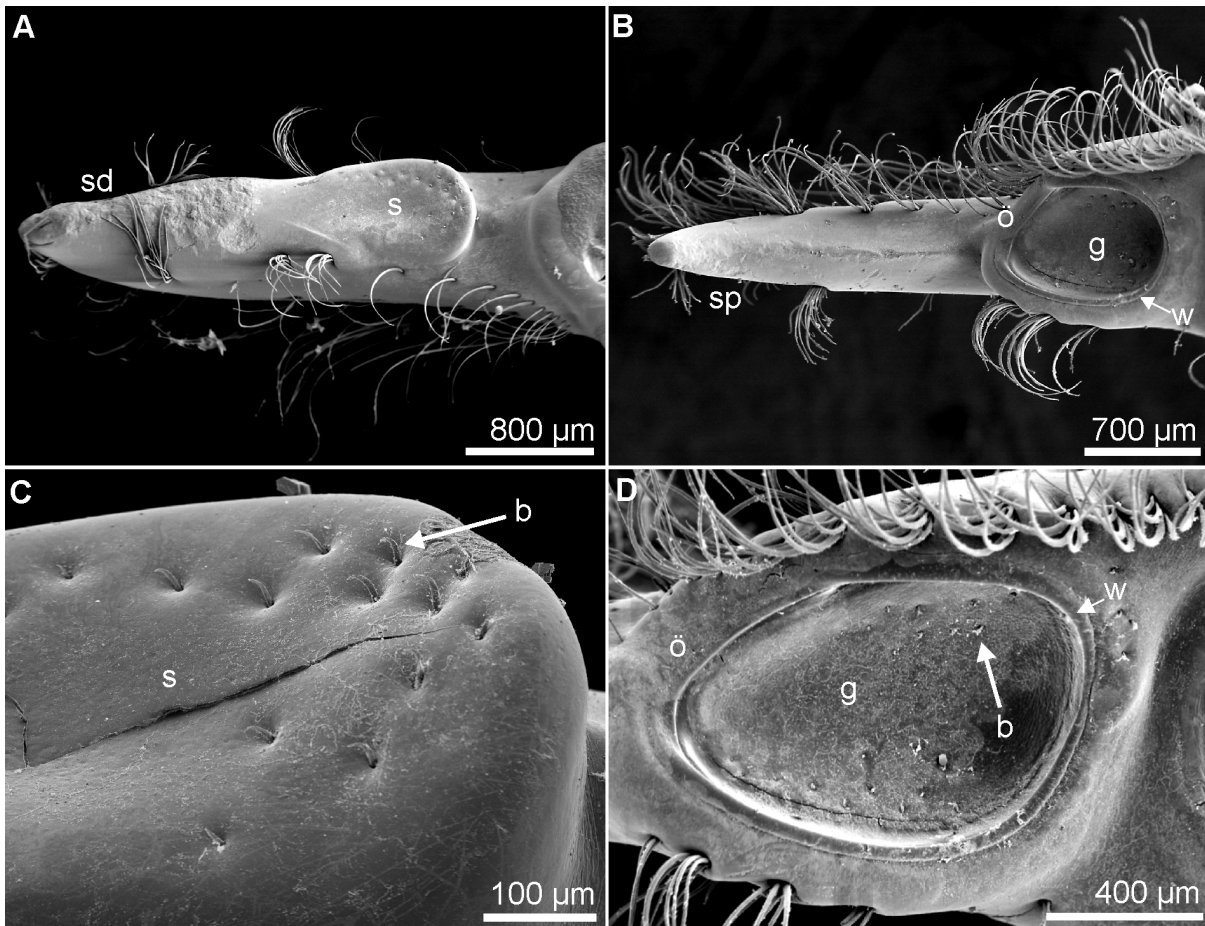
Auf dem Dactylus der Knallscheren von *A. bellulus* ist auf der Innenseite (= der dem Propodus zugewandten Seite) jeweils eine warzenförmige Erhebung sichtbar (Abb. 3.3 A). Diese befindet sich nahe des Scherengelenkes und erhebt sich bis ca. 100-300 µm vom übrigen Dactylus. Zur Spitze des Dactylus läuft die Erhebung sehr flach aus, zum Gelenk hin dagegen steil. Auf dem Sockel der Erhebung befinden sich einige (ca. 15) bis 20 µm lange ungefederte Borsten (Abb. 3.3 C). Die Spitzen der Borsten sind zum distalen Ende des Dactylus geneigt. Die Oberfläche der Kutikula im Spitzenbereich des Dactylus war auf allen Proben aufgeraut bzw. beschädigt, ähnlich dem Dactylus von *A. randalli*. Der Dactylus ist mit zahlreichen weiteren ge-

fiederten und ungefiederten und bis zu 1,5 mm langen Borsten bedeckt. Auf dem Propodus der Knallschere von *A. bellulus* ist auf der Innenseite (= der dem Dactylus zugewandten Seite) eine ovale Grube sichtbar (Abb. 3.3 B, D). Das Innere der Grube ist stets mit ca. 20 verstreut angeordneten Borsten besetzt, die Längen von 30  $\mu\text{m}$  erreichen. Am Rand der Grube befindet sich ein ca. 10-50  $\mu\text{m}$  breite Art Wulst, die sich wie ein Dichtungsring um die gesamte Grube erstreckt und sich morphologisch deutlich von der umgebenden Kutikula abhebt. Der Grubenrand senkt sich zur Spitze des Propodus hin ab, so dass die Grube eine ca. 200  $\mu\text{m}$  breite Öffnung besitzt, die zur Längsachse des Propodus um ca. 10-20° seitlich versetzt ist. Der Propodus ist, vor allem lateral, mit mehreren Bücheln haarförmiger Borsten besetzt. Die Borsten sind von sehr unterschiedlicher Länge und Fiederung. Aus den  $\mu\text{CT}$ -Aufnahmen konnten die Scheren im geöffneten und geschlossenen Zustand dreidimensional rekonstruiert werden. Verschiedene Ansichten der dreidimensionalen Rekonstruktion sind für *A. bellulus* in den Abb. 3.4 A-D dargestellt und für *A. randalli* in den Abb. 3.5 A-D. Die Auflösung der Aufnahmen betrug für die Scheren von *A. bellulus* 11,63  $\mu\text{m}$  Kantenlänge eines Voxels. Für *A. randalli* war die Auflösung mit 6,85  $\mu\text{m}$  Kantenlänge eines Voxels durch die geringere Gesamtgröße der Schere etwas höher. Die zahlreichen Borsten und Haare auf den Scheren konnten in den  $\mu\text{CT}$ -Aufnahmen nicht detailliert dargestellt werden. Aus den Rekonstruktionen konnte das Volumen der Grube auf dem Propodus im geöffneten und geschlossenen Zustand der Schere ermittelt werden. Die Werte für das Volumen sind in Tabelle 3.1 angegeben. Die Differenz aus den Volumina im geöffneten und geschlossenen Zustand gibt das ungefähre Spritzvolumen bei einem Knallvorgang an. Das absolute Volumen der Grube bei *A. bellulus* ( $V_{\text{offen}} = 0,12268 \text{ mm}^3$ ) im geöffneten Zustand betrug etwa das Doppelte des Volumens der Grube von *A. randalli* ( $V_{\text{offen}} = 0,06278 \text{ mm}^3$ ), wenn man die unterschiedlichen Dimensionen der gesamten Schere nicht berücksichtigt. Der Vergleich des relativen Verhältnisses des Volumens der Grube im geöffneten/geschlossenen Zustand zeigt, dass *A. randalli* bei einem Knallvorgang in etwa das 3,5-fache des Volumens der Grube verdrängt ( $V_{\text{offen}}/V_{\text{geschlossen}} = 5,64$ ) im Vergleich mit *A. bellulus* ( $V_{\text{offen}}/V_{\text{geschlossen}} = 1,54$ ).

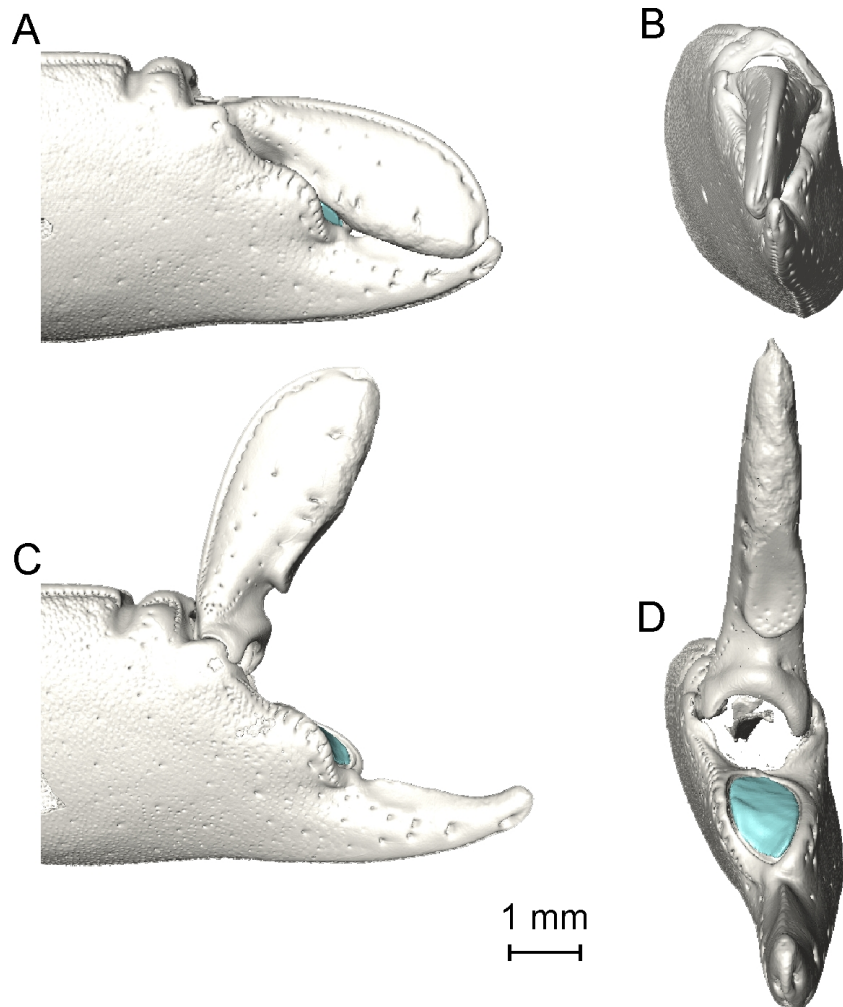


**Abbildung 3.2.:** REM-Aufnahmen der Knallschere von *A. randalli*. **A.** Der Dactylus besitzt eine sockelartige Erhebung (s), auf der sich zahlreiche borstenartige Haare befinden (b). Auf der Spitze des Dactylus (sd) ist die Kutikula stets aufgerissen und abgeplatzt. **B.** Der Propodus besitzt eine rundliche Grube (g), in die der Sockel auf dem Dactylus bei der geschlossenen Schere der Schere hineinpasst. Der Rand der Grube ist von einem Wulst überzogen (w), der sich morphologisch deutlich von der umgebenden Kutikula abhebt. Ist die Schere geschlossen, so befindet sich die einzige Öffnung (ö) der Grube schräg in Richtung der Spitze des Dactylus (sp). **C.** Die Borsten auf dem Sockel des Dactylus sind zur Spitze hin gefiedert. **D.** Im Spitzenbereich der Borsten auf dem Sockel sind zahlreiche feine Fiederhaare sichtbar, die zur Spitze der Borste gerichtet sind.

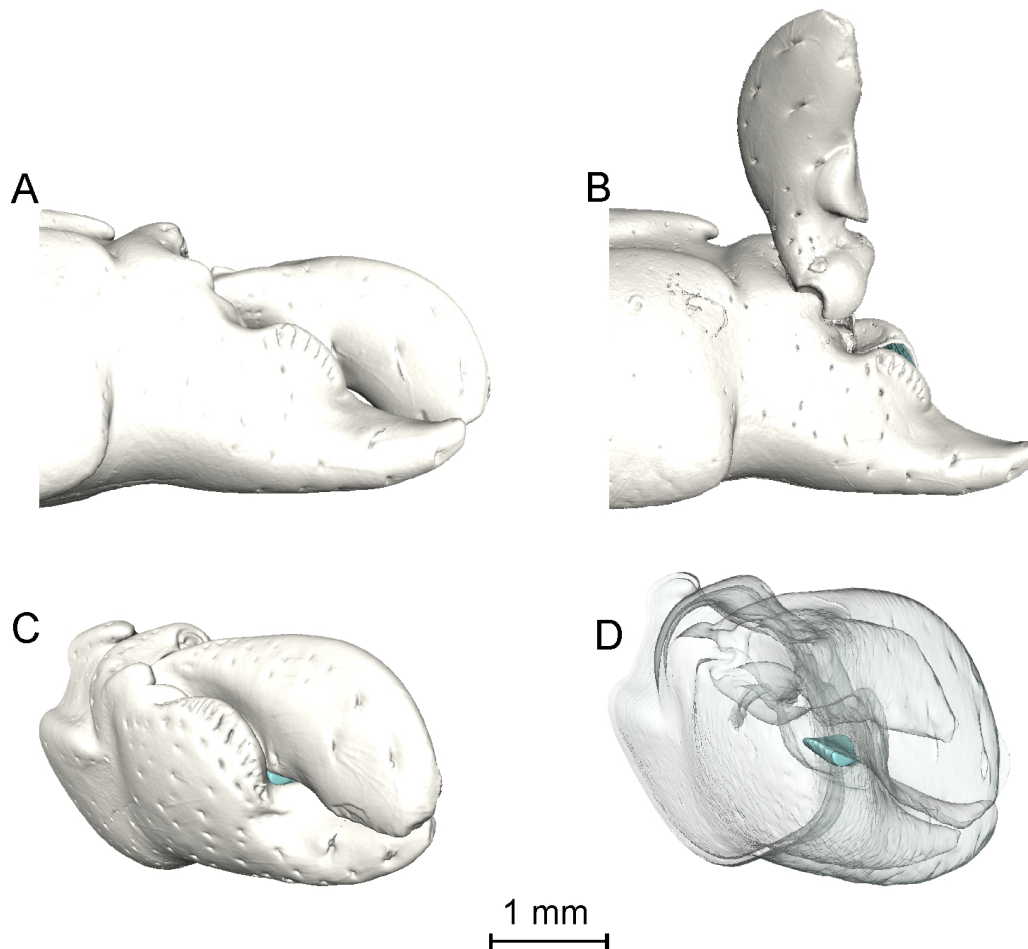




**Abbildung 3.3.:** REM-Aufnahmen der Knallschere von *A. bellulus*. **A.** Der Dactylus besitzt eine sockelförmige Erhebung (s), die auf der Oberseite abgeflacht ist. Die Kutikula auf der Spitze des Dactylus (sd) ist stets aufgeplatzt und rauh. **B.** Auf dem Propodus befindet sich eine ovale Grube (g). Ist die Schere geschlossen, so verschließt der Sockel des Dactylus die Grube bis auf eine zur Spitze des Propodus (sp) gerichtete Öffnung (ö). **C.** Der Sockel auf dem Dactylus (s) ist von kurzen, gebogenen Borsten (b) besetzt. **D.** Auch in der Grube (g) des Propodus sind kurze Borsten sichtbar. Der Rand der Grube ist von einem Wulst (w) ringartig umgeben.



**Abbildung 3.4.:** 3d-Rekonstruktion einer geschlossenen (A, B) und geöffneten (C, D) Knallschere von *A. bellulus* aus  $\mu$ CT-Aufnahmen. Das Volumen der Druckkammer, d.h. das Volumen der Grube im geöffneten bzw. geschlossenen Zustand der Schere, ist als Negativ dargestellt (Cyan). A und C sind seitliche Ansichten, B und D sind Frontalansichten.



**Abbildung 3.5.:** 3d-Rekonstruktion einer geschlossenen (**A**, **C**, **D**) und geöffneten (**B**) Knallschere von *A. randalli* aus  $\mu$ CT-Aufnahmen. Das Volumen der Druckkammer, d.h. das Volumen der Grube im geöffneten bzw. geschlossenen Zustand der Schere, ist als Negativ dargestellt (Cyan). **A** und **B** sind seitliche Ansichten, **C** und **D** sind von schräg vorne dargestellt. In **D** ist die Schere transparent dargestellt, um Lage und Form der Druckkammer in geschlossenem Zustand sichtbar zu machen.

### 3. Ergebnisse

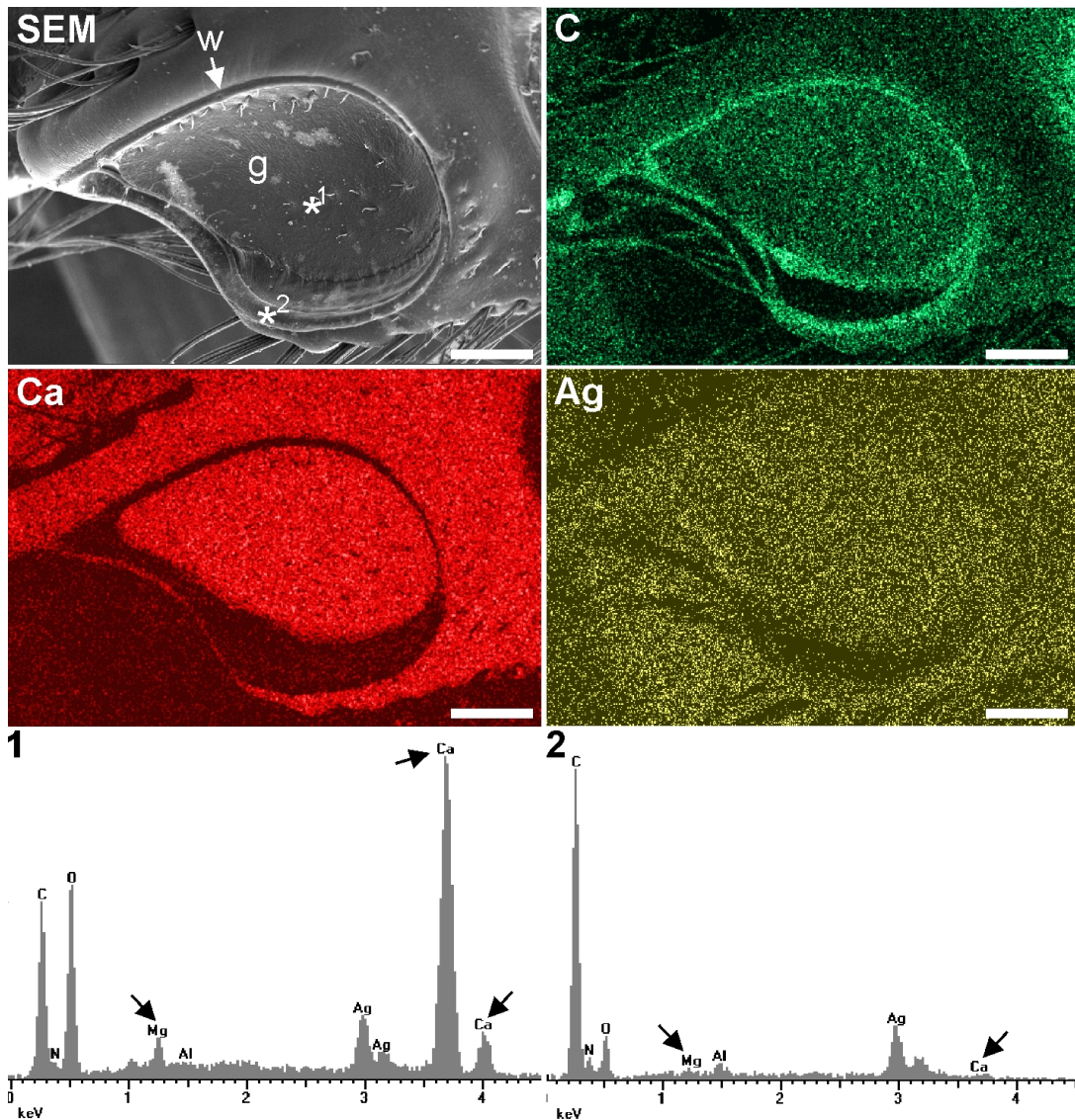
---

**Tabelle 3.1.:** Aus der Rekonstruktion der Knallscheren errechnetes Volumen der Grube auf dem Propodus im geöffneten ( $V_{\text{offen}}$ ) und geschlossenen ( $V_{\text{geschlossen}}$ ) Zustand der Schere, angegeben in  $\text{mm}^3$ . Zusätzlich ist das Verhältnis  $V_{\text{offen}}/V_{\text{geschlossen}}$  angegeben.

	$V_{\text{offen}}$	$V_{\text{geschlossen}}$	$V_{\text{offen}}/V_{\text{geschlossen}}$
<i>A. bellulus</i>	0,12268	0,07942	1,54
<i>A. randalli</i>	0,06278	0,01113	5,64

#### 3.1.1. EDX-Analyse der Scherenglieder

Mit der EDX-Analyse konnten die Zusammensetzung und Verteilung der Elemente in den für das Knallen funktionalen oberflächlichen Bereichen der Scheren ermittelt werden. Die Messungen wurden in Aufsicht der Proben durchgeführt. Zunächst wurden punktuell Röntgenspektren im Bereich der Grube auf dem Propodus und im Bereich des Sockels auf dem Dactylus aufgenommen. Im Bereich der Grube auf dem Propodus zeigten sich charakteristische Abweichungen von der elementaren Zusammensetzung der übrigen Kutikula des Propodus, die für *A. bellulus* und *A. randalli* identisch waren. Um die Grube herum verläuft ein auch morphologisch unterscheidbarer Wulst, der die gesamte Grube umgibt (siehe auch Abschnitt 3.1). Das Röntgenspektrum in diesem Bereich zeigte nur geringe Spuren der Elemente Kalzium und Magnesium (Abb. 3.6 2). Für Kohlenstoff, Sauerstoff sowie das als Referenz dienende Sputtermaterial Silber waren dagegen hohe Peaks sichtbar. Innerhalb des Grubenbereiches, sowie auch in den umgebenden Bereichen, zeigte das Röntgenspektrum zwei hohe Peaks für Kalzium und einen geringeren Peak für Magnesium. Ebenso waren deutliche Peaks für Kohlenstoff, Sauerstoff sowie Silber sichtbar (Abb. 3.6 1). Die Verteilungskarten für die Elemente Kohlenstoff und Kalzium verdeutlichen, dass der Wulst um die Grube keine mineralischen Einlagerungen in der oberflächlichen Kutikula besitzt, sondern nur die in organischen Stoffen vorkommenden Elemente Kohlenstoff und Sauerstoff, sowie in geringen Spuren Stickstoff aufweist (Abb. 3.6 C, Ca). Die Verteilungskarte für Silber zeigt als Referenz, dass in den Bereichen der Wulst keine Abschattungen des Sensors vorkommen. Nur im unteren Bereich der Grube kam es zu einer geringfügigen Abschattung (Abb. 3.6 Ag). Die EDX-Analyse des Sockels auf dem Dactylus zeigte keinerlei Besonderheiten in Vorkommen und Verteilung der Elemente im Vergleich mit den umliegenden Bereichen der Kutikula. Die Kutikula im Sockelbereich zeigt gleichermaßen hohe Peaks für Kalzium wie die umgebenden Bereiche.



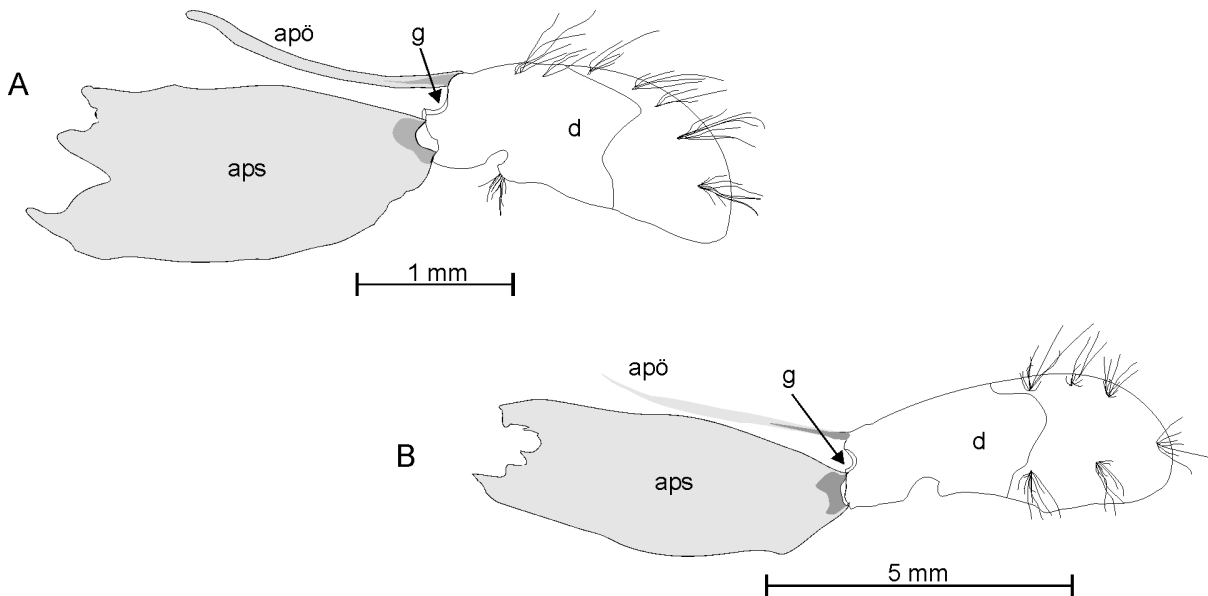
**Abbildung 3.6.:** Ergebnisse der EDX-Analyse des Grubenbereichs auf dem Propodus von *A. bellulus*. **SEM.** Sekundärelektronen-Aufnahme des Grubenbereichs. Ein punktuellles Spektrum wurde jeweils innerhalb der Grube (g, Position 1) und im Wulst (w, Position 2) aufgenommen. **C.** Verteilungskarte für das Element Kohlenstoff. Die Konzentration von Kohlenstoff ist im Wulstbereich relativ höher als im Grubenbereich und in der umgebenden Kutikula. Im unteren Bereich der Grube befindet sich ein aufgrund seiner Lage vom Sensor abgeschatteter Bereich, der auf allen Verteilungskarten keine Messwerte liefert. **Ca.** Verteilungskarte für das Element Kalzium. Die umgebende Kutikula sowie die Grube besitzen einen etwa gleichermaßen hohen Anteil an Kalzium. Der Wulstbereich erscheint weitgehend frei von Kalzium. **Ag.** Die Referenzaufnahme des Sputtermaterials Silber zeigt ein gutes Signal im gesamten Messbereich ausgenommen eines tief liegenden Bereiches in der Grube, der vom EDX-Sensor abgeschattet ist. **1.** Punktuellle Spektromaufnahme innerhalb der Grube. **2.** Punktuellle Spektromaufnahme im Wulstbereich. Vergleicht man **1** und **2** wird die unterschiedliche Elementzusammensetzung deutlich. Im Grubenbereich zeigen sich zwei hohe Peaks für Kalzium (Ca) sowie ein niedriger Peak für Magnesium (Mg). Der Wulstbereich zeigt nur Spuren von Kalzium und Magnesium, aber erhöhte Peaks für Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O) und Stickstoff (N). Maßstabsbalken: 200  $\mu$ m.

## 3.2. Anordnung der Apodeme und Muskeln innerhalb der Knallscheren

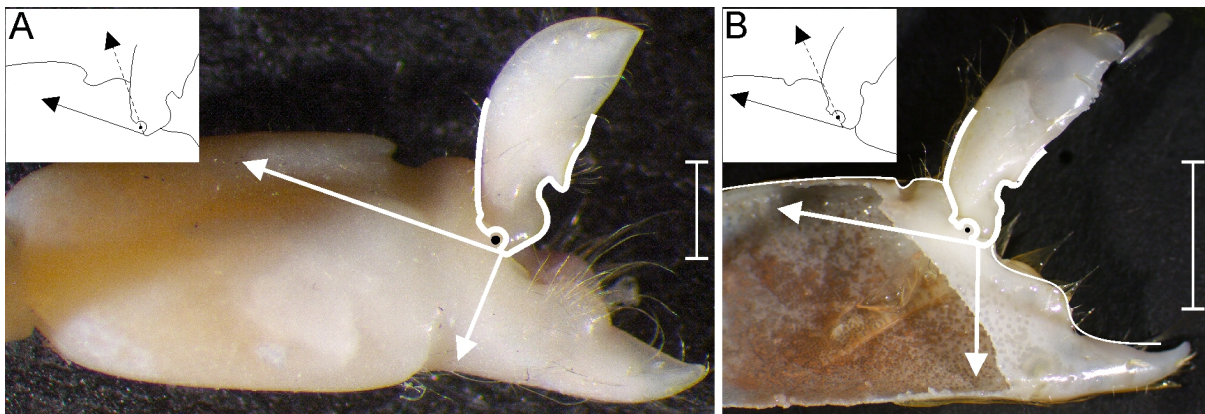
Die Bewegung des Dactylus relativ zum Propodus erfolgt über ein Scharniergelenk. Das Scharnier ist nicht durchgängig, sondern besitzt lateral des Dactylus zwei Auflageflächen, um die der Dactylus sich dreht. Dazwischen befindet sich ein Freiraum, sodass die Apodeme sich zumindest theoretisch innerhalb der Drehachse des Scharniergelenks bewegen können. Vom Dactylus von *A. randalli* erstrecken sich zwei Apodeme in den Propodus hinein (3.7 A). Ein schmales Apodem erstreckt sich dorsal des Scharniergelenkes, um welches der Dactylus bewegt wird, in den dorsalen Bereich des Propodus. Dieses schmale Apodem ist mit dem Abduktormuskel verbunden, der den Scherenfinger anhebt und somit die Schere öffnet. Ein um ein Vielfaches größeres Apodem erstreckt sich von ventral unterhalb des Scharniergelenkes und füllt nahezu den gesamten restlichen Raum des Propodus aus. Die Ansatzstelle des Apodems am Dactylus ist leicht gedreht. Das Apodem liegt innerhalb des Adduktor-Muskels, der die Schere schließt. Der Aufbau und Verlauf der Apodeme am Dactylus von *A. bellulus* gleicht dem am Dactylus von *A. randalli*, jedoch sind der Dactylus und die Apodeme insgesamt deutlich größer (3.7 B).

In Abb. 3.8 ist die Geometrie des Gelenk- und Muskelsystems von Propodus und Dactylus im Zustand der maximal geöffneten Schere dargestellt. Anhand der Abbildung wird deutlich, dass weder bei *A. randalli* (Abb. 3.8 A) noch bei *A. bellulus* (Abb. 3.8 B) das Apodem des Schließermuskels oberhalb der Drehachse des Gelenkes ansetzen kann, was notwendig wäre um über den Schließermuskel eine Vorspannung der Schere zu erreichen. Dies wäre nur möglich, wenn der Dactylus in einem noch größeren Winkel geöffnet wäre.

### 3.2. Anordnung der Apodeme und Muskeln innerhalb der Knallscheren



**Abbildung 3.7.:** Schemazeichnung der Dactyli (d) und deren Apodeme von *A. randalli* (A) und *A. bellulus* (B). Die Apodeme sind weitgehend transparent und pergamentartig, die Ansatzstelle ist flexibel. Die basalen Bereiche sind etwas dicker und intransparent. Das Apodem des Scherenöffnermuskels (apö) ist um ein vielfaches kleiner als das Apodem des Scherenschließermuskels (aps). Der Ansatz des Apodems des Schließermuskels verläuft lateral leicht schräg bzw. gedreht, d.h. während das Apodem im Propodus in einer Ebene von ventral nach dorsal liegt, befindet sich der Ansatz in einer schrägen, lateralen Ebene unterhalb des Scharniergelenkes (g).



**Abbildung 3.8.:** Maximal geöffnete Knallscheren von *A. randalli* (A) und *A. bellulus* (B). Die Pfeile auf dem größeren Bild geben die ungefähre Bandbreite der Zugrichtung am Apodemansatz unterhalb des Gelenkes an, wenn der Schließermuskel kontrahiert. Die Skizzen rechts oben geben mit dem gestrichelten Pfeil die Zugrichtung an, bei der die Schere durch eine Kontraktion des Schließermuskels in geöffneter Position gehalten würde. Bei dem vorliegenden maximalen Öffnungswinkel der Schere ist eine Vorspannung durch den Schließermuskel offensichtlich nicht möglich.

### 3.3. Aufbau und Funktion der Haftscheiben der Knallscheren

#### 3.3.1. Ergebnisse der Vorversuche zur Funktion der Haftscheiben

Hob man an einer abgenommenen Knallschere von *A. randalli* den Dactylus so weit an, dass die Haftscheiben auf dem Dactylus mit denen des Propodus in Kontakt kamen, so blieb der Dactylus auch ohne weiteres Anheben in der maximal geöffneten Position. Der Dactylus löste sich erst wieder vom Propodus, wenn man den Dactylus mit einer gewissen Kraft in Richtung der geschlossenen Position der Schere drückte. Die Haftwirkung ließ ab einer bestimmten Kraftaufwendung abrupt nach. Der Vorgang ließ sich beliebig oft an einer Schere wiederholen, auch noch Stunden nach der Abnahme der Schere. Zerkratzte man mit einer Nadelspitze leicht entweder die Oberfläche der Haftscheibe des Propodus oder des Dactylus, so war die Haftwirkung aufgehoben. Hob man den Dactylus nun in die maximal geöffnete Position, so blieb er dort nicht stehen, sondern bewegte sich sogleich wieder in Richtung der geschlossenen Position.

Hob man dagegen an einer abgenommene Knallschere von *A. bellulus* den Dactylus so weit an, dass die Haftscheiben auf dem Dactylus mit denen des Propodus in Kontakt kamen, so blieb der Dactylus nicht dauerhaft in der maximal geöffneten Position. Die Haftwirkung war nur von kurzer Dauer, meist im Bereich von einer Sekunde oder weniger. Zerkratzte man mit einer Nadelspitze leicht entweder die Oberfläche der Haftscheibe des Propodus oder des Dactylus, so war die Haftwirkung vollständig aufgehoben.

Wurde an lebenden Exemplaren von *A. bellulus* oder *A. randalli* eine der beiden Haftscheiben der Knallschere mit einer Kanüle zerkratzt, so hatten die Tiere anschließend Schwierigkeiten zu knallen. Zwar führten die Tiere nach Reizung noch die für das Knallen erforderliche Bewegung aus, konnten jedoch zumeist kein lautes Geräusch damit erzeugen. Deutlich sichtbar war die Schwierigkeit beim Arretieren des Dactylus in der geöffneten Position, in der die Krebse sonst meist für längere Zeit ihren Dactylus halten. Die Beschädigungen der Haftscheiben durch das Ankratzen sind in Abschnitt 3.3.2 dokumentiert und geben zum Teil Aufschluss über die Materialeigenschaften der Haftscheiben.



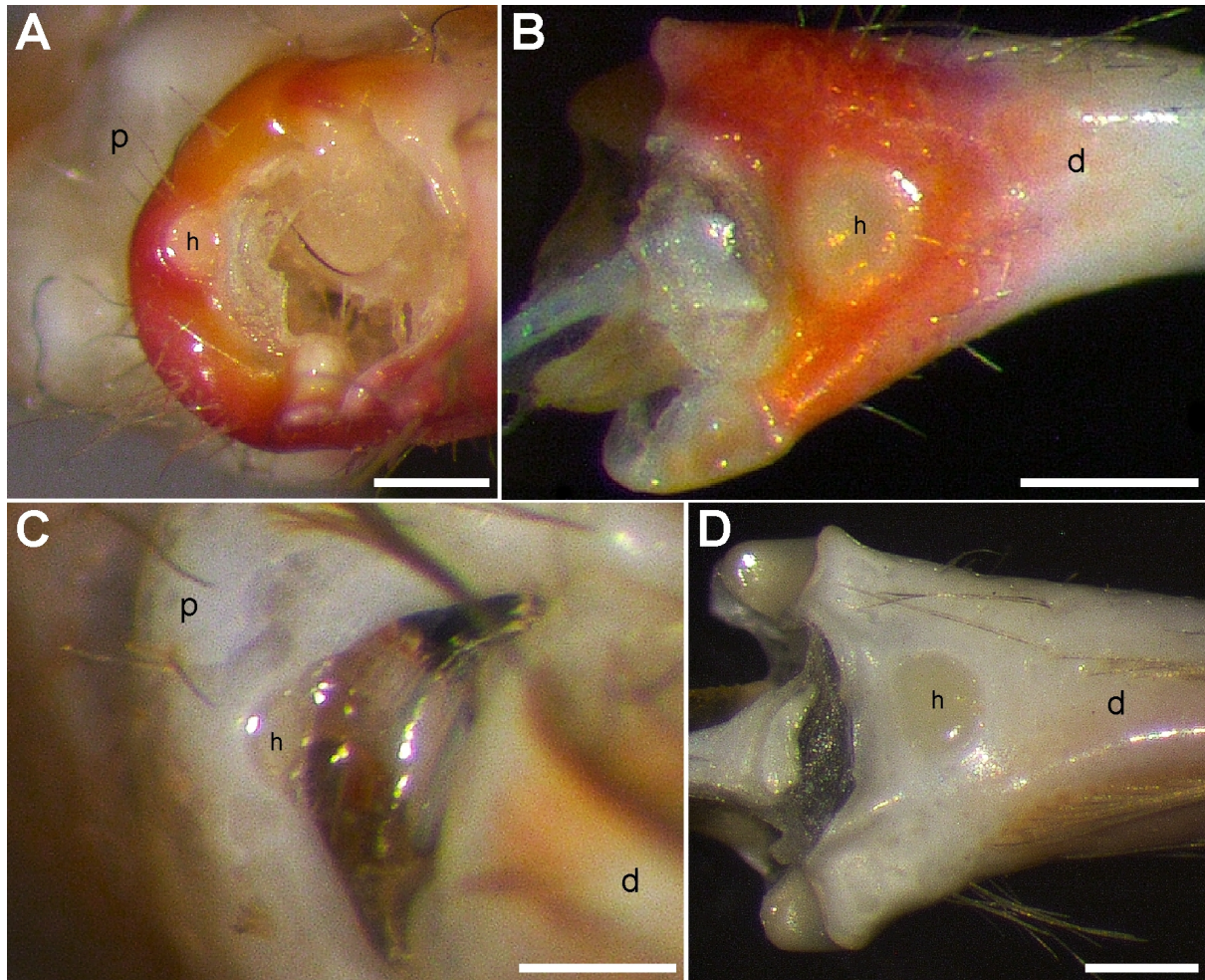
### 3.3.2. Morphologie und Ultrastruktur der Haftscheiben

Die Haftscheiben von *A. randalli* lassen sich in der Aufsicht im Binokular durch ihre abweichende Färbung und ihre glänzende Oberfläche deutlich von der umgebenden Kutikula differenzieren (Abb. 3.9). Die Haftscheibe auf dem Propodus ist oval bis kreisförmig und blaßgelb bis durchscheinend weiß gefärbt. Die blasse Färbung hebt sich von der grellroten Färbung der umgebenden Bereiche ab. Die Aufnahmen zeigen eine sockelförmige, konvexe Wölbung des Haftbereiches (Abb. 3.9). Die Oberfläche des Sockels, welche die Kontaktfläche zur Haftscheibe auf dem Dactylus bilden muss, ist flach. Der Durchmesser der Haftscheibe beträgt  $0,045 \text{ mm}^2 \pm 0,008$ . Die Haftscheibe auf dem Dactylus ist ebenfalls oval bis kreisförmig und blaßgelb gefärbt, allerdings weniger durchscheinend als die Haftscheibe des Propodus (Abb. 3.9). Durch den Kontrast zur tiefroten Färbung der Umgebung ist sie gut differenzierbar. Der Haftbereich ist leicht konkav gewölbt, insgesamt aber relativ flach. Der Durchmesser der Haftscheibe beträgt  $0,077 \text{ mm}^2 \pm 0,016$  und ist damit größer als der Durchmesser der Haftscheibe des Propodus. Die Wölbung der Haftscheiben ist auch auf den 3d-mikroskopischen Aufnahmen sichtbar (siehe Anhang, Abb. 1).

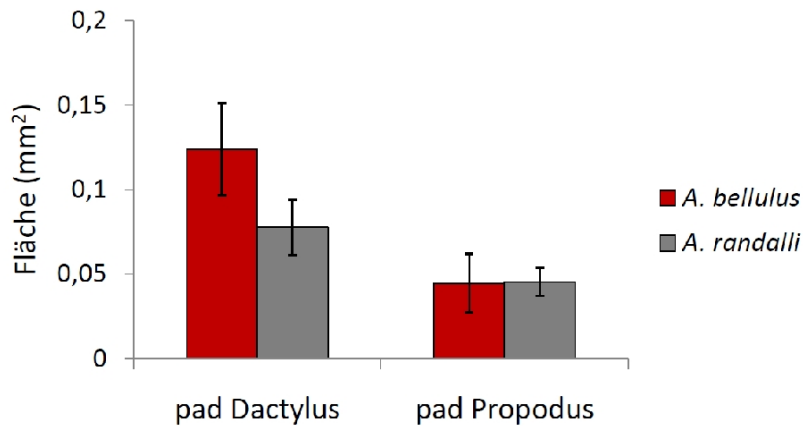
Die Haftscheiben von *A. bellulus* gleichen denen von *A. randalli* in Färbung und Form (Abb. 3.9). Die Haftscheibe auf dem Dactylus ist mit  $0,124 \text{ mm}^2 \pm 0,027$  allerdings signifikant größer als bei *A. randalli* (t-test,  $P < 0,001$ ). Die Fläche der Haftscheibe auf dem Propodus unterscheidet sich mit  $0,045 \text{ mm}^2 \pm 0,017$  nicht signifikant von der auf dem Propodus von *A. randalli* ((T-test,  $P = 0,9$ ).

Setzt man die Größe der Haftscheiben in Bezug zur Gesamtgröße (Gesamtlänge) von Propodus bzw. Dactylus und vergleicht die beiden Arten, so sind beide Haftscheiben von *A. randalli* signifikant größer im Verhältnis zur Länge der Scherenglieder (siehe 3.2, (t-test,  $P < 0,001$ ) bzw. (t-test,  $P < 0,042$ ) für das Verhältnis von der Haftscheibe des auf dem Propodus zur Größe des Propodus).

Mit dem REM wurden Aufsichtsaufnahmen und Querschnitte der Haftscheiben aufgenommen. Auf den REM-Aufnahmen heben sich die Haftscheiben durch ihre vollkommen glatte Oberfläche deutlich von der rauen Kutikula-Oberfläche der umgebenden Bereiche ab (Abb. 3.11). Weder Poren noch haarförmige Strukturen noch Spuren einer aufgelagerten Flüssigkeit/Substanz waren auf den Haftbereichen sichtbar. Querschnittsaufnahmen der Haftscheibe des Propodus zeigten eine faserartige Strukturierung der Haftscheibe in ihrem Inneren. Die Fasern sind weniger als einen Mikrometer dick und verlaufen orthogonal zu den Schichten der darunterliegenden



**Abbildung 3.9.:** Lupenaufnahmen der Haftscheiben (h) auf Propodus und Dactylus von *A. randalli* und *A. bellulus*. **A.** Die Haftscheibe auf dem Propodus ist in der Aufsicht rund und hebt sich durch die weißlich-transparente Färbung von der rötlichen Färbung der umgebenden Kutikula ab. **B.** Die Haftscheibe auf dem Dactylus ist flächenmäßig größer als die Haftscheibe auf dem Propodus. Sie besitzt ebenfalls eine weißliche Färbung, ist aber durch die Färbung nicht so scharf von der Umgebung abgegrenzt wie auf dem Propodus. **C.** Die Haftscheibe auf dem Propodus ist in der Aufsicht rund bis oval und hebt sich durch die gelblich-transparente Färbung von der Färbung der umgebenden Kutikula ab. Die Haftscheibenmorphologie ist leicht konvex. **D.** Die Haftscheibe auf dem Dactylus ist deutlich größer als die Haftscheibe auf dem Propodus. Sie besitzt eine weißlich-gelbe bis transparente Färbung.



**Abbildung 3.10.:** Fläche der Haftscheiben (pads) auf Propodus und Dactylus von *A. randalli* und *A. bellulus*. Der Fehlerbalken gibt die Standardabweichungen von  $n =$  Messungen an.

Kutikula. Die Fasern liegen eng aneinander und bilden zur Oberfläche einen glatten Abschluss. Die Kutikula unter der Haftscheibe bildet an den Rändern der Haftscheibe eine konvexe Wölbung. Die darüber liegende Haftscheibe bildet dagegen eine glatte Oberfläche. Auf den  $\mu$ CT-Aufnahmen wird deutlich, dass diese Wölbung der Kutikula einen aus zwei Halbkreisen bestehenden, nahezu durchgehenden Ring unterhalb der Haftscheibe bildet. Querschnittsaufnahmen der Haftscheibe des Dactylus zeigen eine dünne (5-20  $\mu$ m), amorphe Schicht welche die Haftscheibe bildet und die sich von der darunterliegenden Kutikula differenzieren lässt. Eine Faserung ist nicht erkennbar. Zusätzlich wurden von den in den Vorversuchen oberflächlich angekratzten Haftscheiben Aufnahmen gemacht (Abb. 3.13, 3.14). Die Aufnahmen zeigten, dass sich das Haftscheibenmaterial durch Ankratzen mit der Kanülenspitze stets leicht beschädigen, entfernen und eindrücken lässt, während um die Haftscheiben durch Einwirken der Kanülenspitze kaum Spuren in der Oberfläche der Kutikula entstanden. Die Haftscheibe auf dem Dactylus ließ sich durch mehrmaliges Ankratzen fast vollständig ablösen. Die Haftscheibe verhielt sich ähnlich einer dünnen Membran oder gummiartigen Schicht, die auf der Oberfläche der Kutikula aufliegt (siehe Abb. 3.13 A und 3.14 C, D, E).

Die  $\mu$ CT-Aufnahmen zeigten überwiegend nur die röntgendichten Bereiche der Kutikula der Krebscheren, d.h die mineralisierten Bereiche der Kutikula (Abb. 3.12). In dieser Darstellung ist auf dem Propodus die Strukturierung der Kutikula unter der Haftscheibe erkennbar (Abb. 3.12 A, B, D). Wie oben beschrieben bildet die Ku-

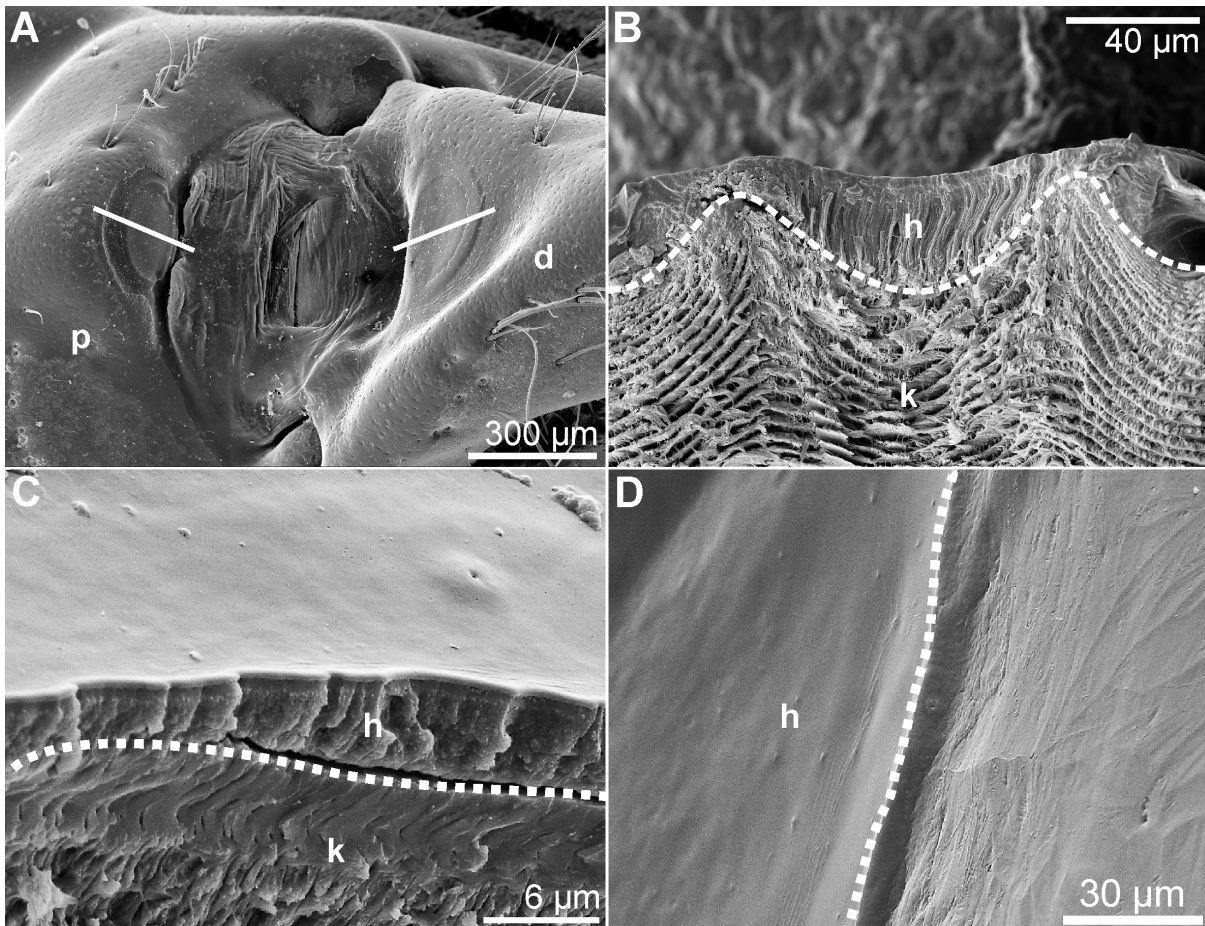
### 3. Ergebnisse

---

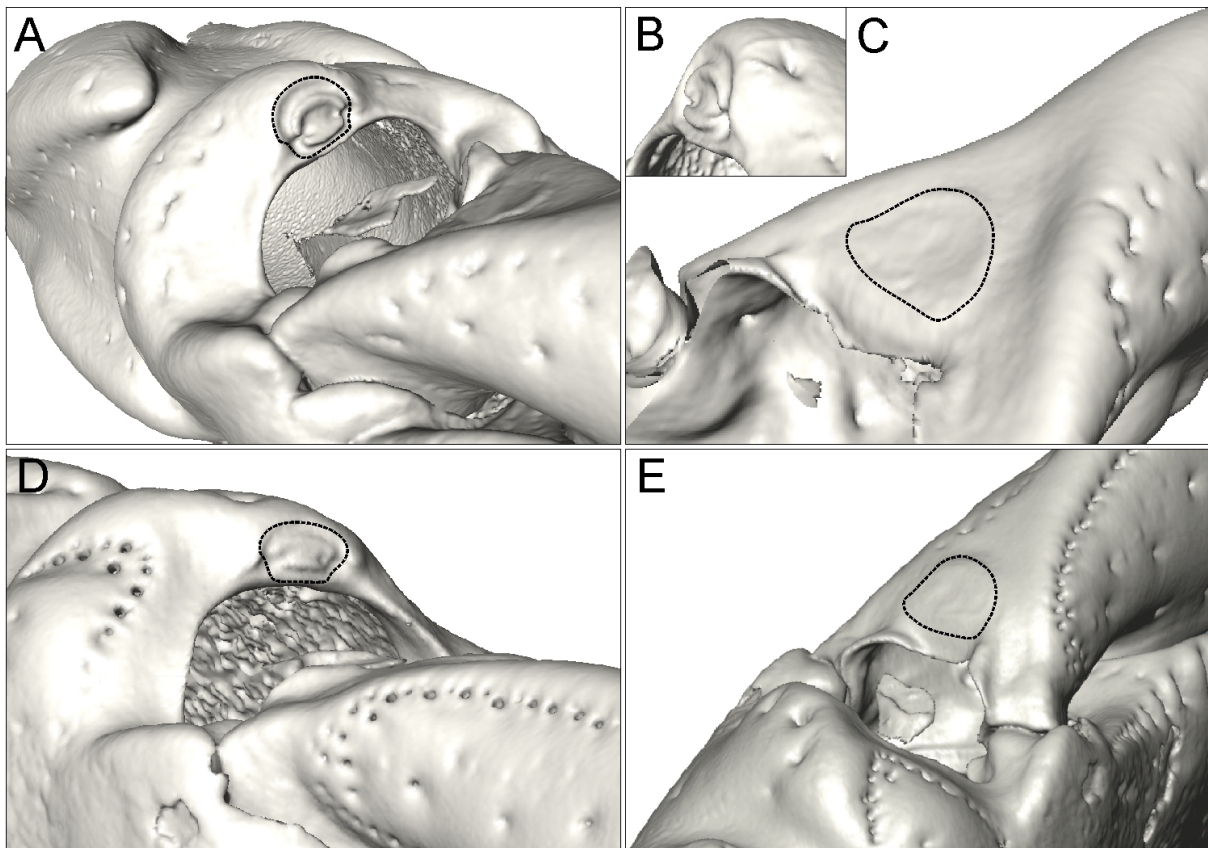
**Tabelle 3.2.:** Verhältnisse der Größe der Scherenglieder zur Größe der Haftscheiben und deren Standardabweichungen.  $P_L$  = Propoduslänge,  $D_L$  = Dactyluslänge,  $P_F$  = Fläche pad auf Propodus,  $D_F$  = Fläche pad auf Dactylus.

	$P_L : D_F$	$P_L : P_F$	$D_L : D_F$	$D_L : P_F$
<i>A. bellulus</i>	$111 \pm 11 : 1$	$320 \pm 49 : 1$	$42 \pm 4 : 1$	$119 \pm 17 : 1$
<i>A. randalli</i>	$93 \pm 20 : 1$	$156 \pm 28 : 1$	$30 \pm 7 : 1$	$50 \pm 10 : 1$

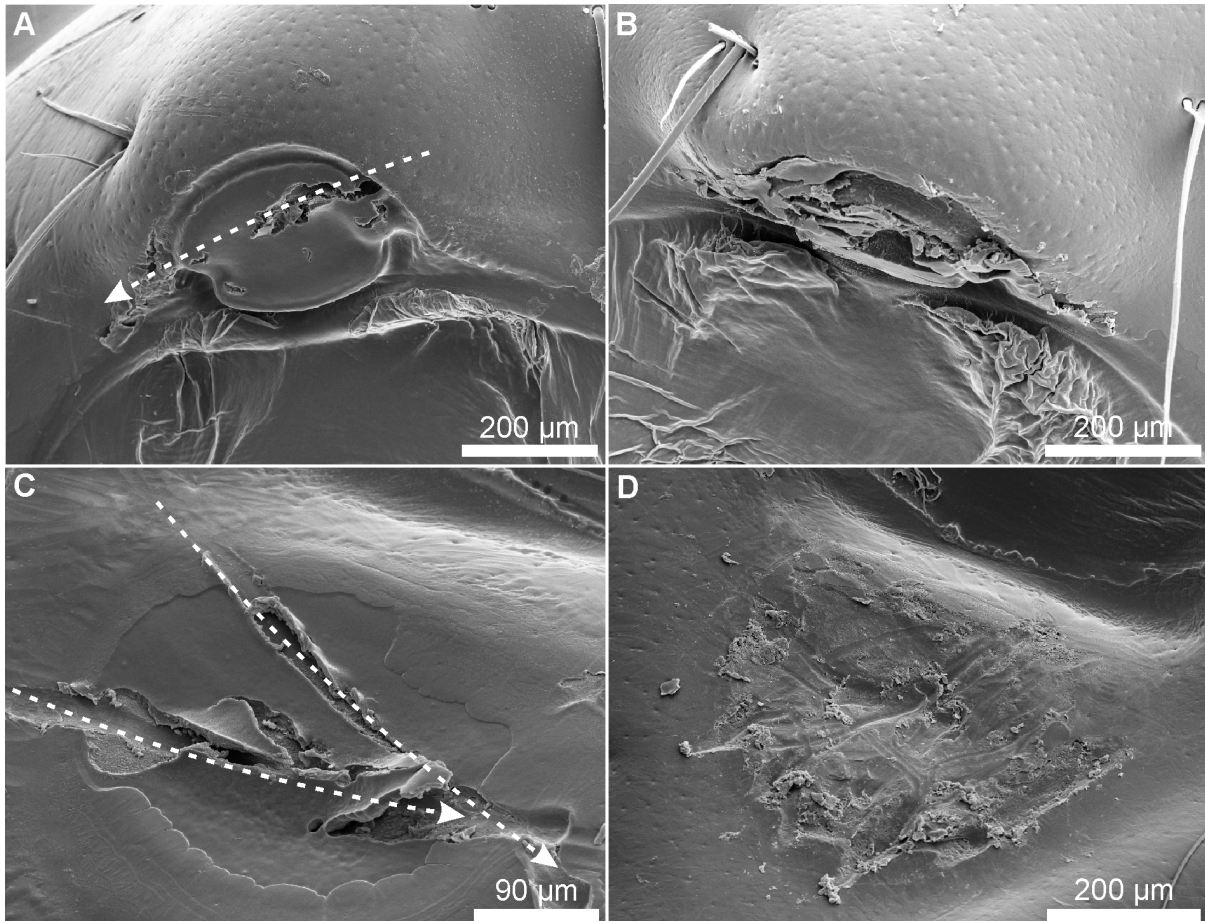
tikula hier einen Ring aus zwei Halbkreisen, die nur durch einen jeweils schmalen Spalt voneinander getrennt sind. Diese Struktur ist bei *A. bellulus* deutlich schwächer ausgeprägt als bei *A. randalli*. Die darüberliegende glatte Haftscheibe ist in der  $\mu$ CT-Darstellung nicht sichtbar. Es ist daher naheliegend, dass das Material der Haftscheibe eine geringe Röntgendichte aufweist (siehe Diskussion, Abschnitt 4.3.1). Die Haftscheibe des Dactylus zeigt in den  $\mu$ CT Aufnahmen keine auffallende Strukturierung. Die Oberfläche ist leicht konkav bis weitgehend flach.



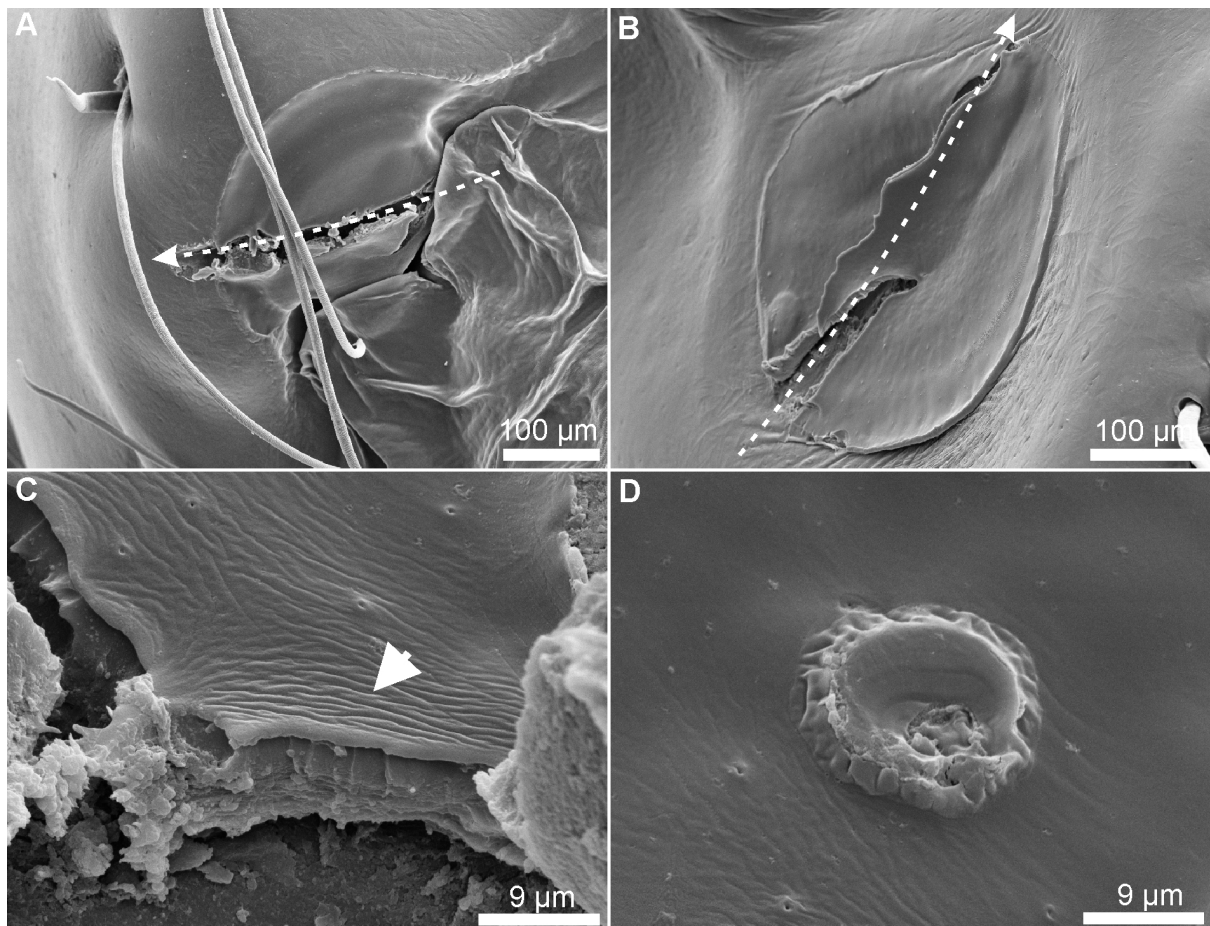
**Abbildung 3.11.:** REM-Aufnahmen der Haftscheiben von *A. randalli*. **A.** Dargestellt sind die Schnittebenen von **(B)** und **(C)** durch die Haftscheiben auf dem Propodus (**p**) und Dactylus (**d**). **B.** Der Schnitt durch die Haftscheibe auf dem Propodus zeigt den strukturellen Unterschied zwischen der parallel gerichteten Faserung der herkömmlichen Kutikula (**k**) und der senkrecht zur Oberfläche gerichteten Faserung der Haftscheibe (**h**). Die gebrochene Linie markiert die Grenze zwischen Kutikula und Haftscheibe. **C.** Der Schnitt durch die Haftscheibe des Dactylus zeigt eine andere Strukturierung als in **(B)** zu sehen ist. Wiederum markiert die gebrochene Linie die Grenze zwischen Kutikula (**k**) und Haftscheibe (**h**). Das Material der Haftscheibe ist amorph, es ist keine gerichtete Faserung erkennbar. Die Scheibe ist zudem dünner als die auf dem Propodus. **D.** Eine Aufsichtsaufnahme der Haftscheibe des Dactylus (**h**) zeigt, dass die Oberfläche der Haftscheibe deutlich glatter ist als die umgebende Kutikula.



**Abbildung 3.12.:** 3d-Rekonstruktionen der  $\mu$ CT-Aufnahmen der Haftscheiben von *A. randalli* (A, B, C) und *A. bellulus* (D, E). Die Bereiche der Haftscheiben sind mit einer gebrochenen, schwarzen Linie markiert.



**Abbildung 3.13.:** REM-Aufnahmen der Haftscheiben von *A. randalli*. Die Haftscheiben wurden zuvor mit der Spitze einer Kanüle mit geringfügigem Druck ein- bis mehrfach oberflächlich angekratzt. Nach dem Ankratzen war die Haftwirkung jeweils aufgehoben. **A.** Ein einzelner Kratzer über die Haftscheibe auf dem Propodus hinterließ eine deutlich Kratzspur. Die Umgebung der Haftscheibe zeigte keine deutlichen Beschädigungen, obwohl die Nadel nicht nur über die Haftscheibe gezogen wurde (siehe Pfeil mit gebrochener Linie). **B.** Die Haftscheibe wurde mehrmals in verschiedene Richtungen mit der Kanülenspitze angekratzt. Die mineralisierten Bereiche innerhalb der Haftscheibe wurden so freigelegt (Pfeil). Das darüberliegende nicht-mineralisierte Material ließ sich leicht entfernen. Die Umgebung der Haftscheibe zeigte kaum Kratzspuren. **C.** Zwei Kratzer auf der Haftscheibe des Dactylus. Im Bereich der Haftscheibe löste die Oberfläche sich ähnlich einer Membran. Der umgebende Bereich zeigte kaum Kratzspuren. **D.** Durch mehrfaches Ankratzen ließ sich das Haftscheibenmaterial fast komplett und leicht entfernen.



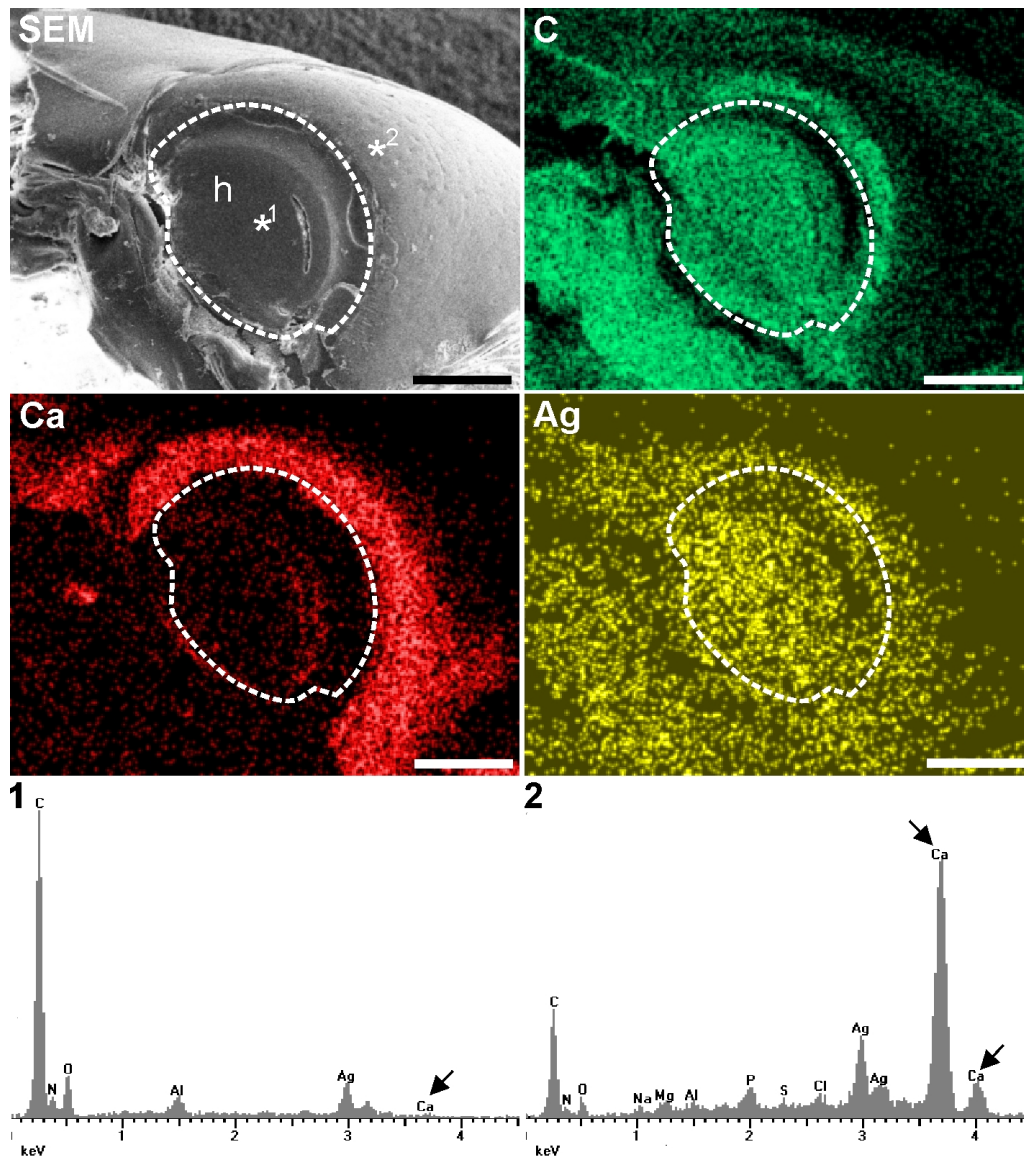
**Abbildung 3.14.:** REM-Aufnahmen der Haftscheiben von *A. bellulus*. Die Haftscheiben wurden zuvor mit der Spitze einer Kanüle mit geringfügigem Druck ein- bis mehrfach oberflächlich angekratzt. Nach dem Ankratzen war die Haftwirkung jeweils aufgehoben. **A.** Ein einzelner Kratzer über die Haftscheibe auf dem Propodus hinterließ eine deutliche Kratzspur. **B.** Ein Kratzer auf der Haftscheibe des Dactylus. Im Bereich der Haftscheiben löste die Oberfläche sich ähnlich einer Membran und wellte bzw. kräuselte sich stellenweise zusammen (**C.**, Pfeil). Der umgebende Bereich zeigte kaum Kratzspuren. **D.** Eindruck einer Nadelspitze in die Haftscheibe auf dem Dactylus.



### 3.3.3. Vorkommen und relative Konzentration der Elemente in den Haftscheiben von *A. randalli*

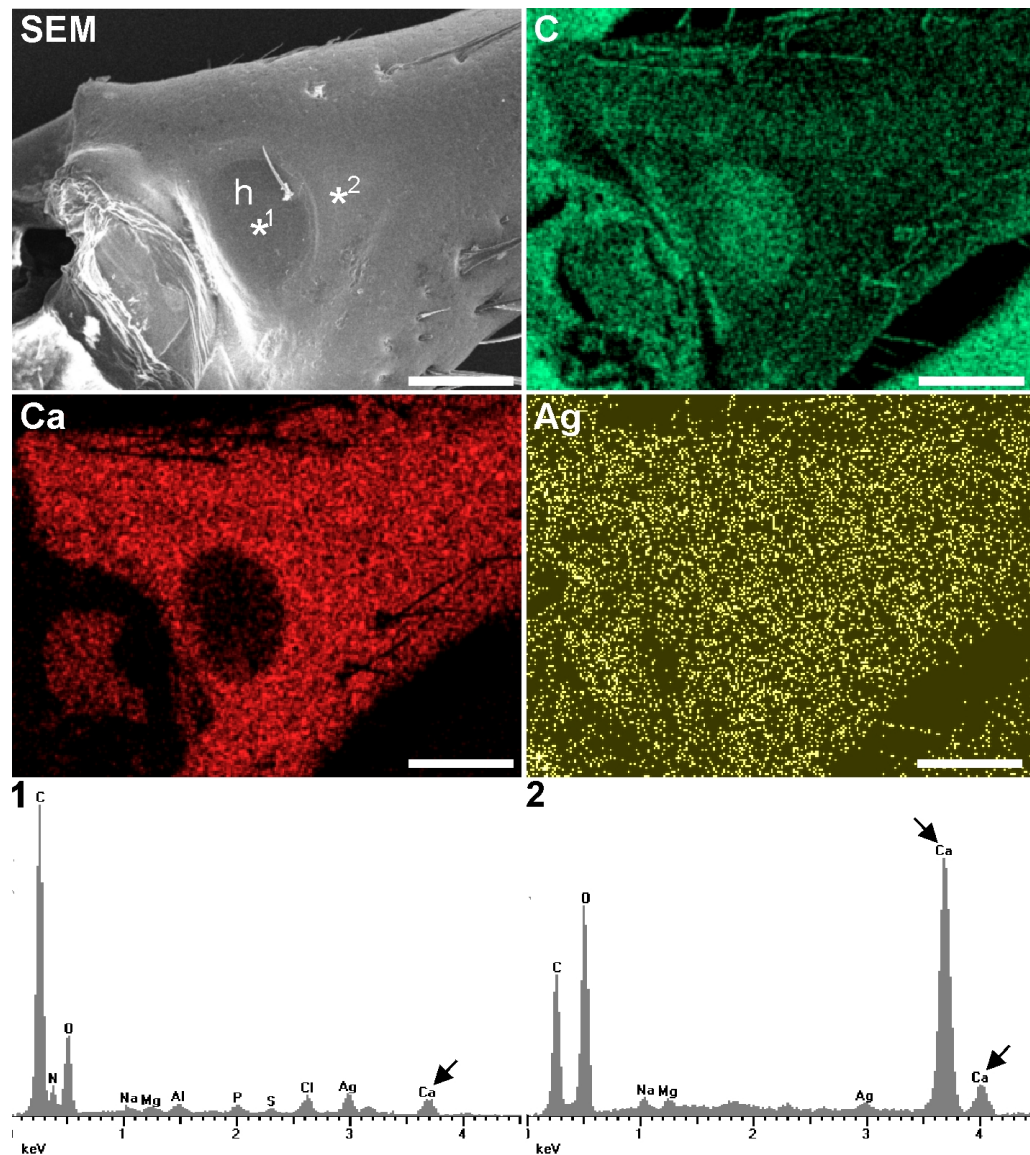
Mit der EDX-Analyse konnte die Zusammensetzung der Elemente der Haftscheiben bzw. der umgebenden Kutikula ermittelt werden. Die Messungen wurden in Aufsicht der Proben und in Querschnitten durchgeführt. Zunächst wurden punktuell Röntgenspektren aufgenommen, aus denen sämtliche im Messbereich enthaltenen Elemente und über die Anzahl der detektierten Impulse (Peaks) auch mit Einschränkungen deren relative Häufigkeit abgelesen werden konnten. Die Röntgenspektren der Kutikula im Umfeld der Haftscheiben auf dem Propodus von *A. randalli* zeigten bei Aufsicht hohe Peaks für Kohlenstoff sowie für Kalzium (Abb. 3.15 2). Ein weiterer hoher Peak entstand für das Sputtermaterial Silber, welches als Referenz diente. Relativ niedrigere Peaks entstanden für Stickstoff, Sauerstoff, Magnesium, Phosphor und Chlor. Weitere Elemente zeigten Peaks welche darauf hindeuten, dass diese Elemente zumindest in Spuren vorkamen (Natrium und Schwefel). Die Spektren innerhalb der Haftscheiben zeigten in der Aufsicht hohe Peaks für Kohlenstoff und Sauerstoff sowie deutliche Peaks für das Sputtermaterial Silber (Abb. 3.15 1). Ein geringerer Peak entstand für Aluminium. Keine oder nur äußerst geringe Peaks zeigten sich dagegen für Kalzium und Magnesium sowie Phosphor. Stickstoff zeigte dagegen im Verhältnis zu Kohlenstoff und Sauerstoff einen etwas höheren Peak als in den Spektren im Umfeld der Haftscheiben. Um die Verteilung der Elemente im Bereich der Haftscheiben auf Propodus und Dactylus zu ermitteln, wurden für ausgewählte Elemente Verteilungskarten erstellt (Abb. 3.15). Die Verteilungskarten in der Aufsicht zeigten im Haftscheibenbereich des Propodus viele Signale für die Elemente Kohlenstoff (C) und Silber (Ag) und keine Signale für das Element Kalzium (Ca). In der Umgebung der Haftscheiben gab es dagegen zusätzlich starke Signale für Kalzium. Die Analyse der Elementzusammensetzung und Verteilung im Haftscheibenbereich auf dem Dactylus zeigten ein ähnliches Ergebnis (Abb. 3.16). Innerhalb des Haftscheibenbereiches zeigte das Röntgenspektrum hohe Peaks für Kohlenstoff und Sauerstoff sowie geringe Peaks für Stickstoff, das Sputtermaterial Silber, Chlor und auch einen geringeren Peak für Kalzium (Abb. 3.16 1). Außerhalb des Haftscheibenbereiches zeigten sich hohe Peaks für Kohlenstoff und Sauerstoff und zwei sehr hohe Peaks für Kalzium (Abb. 3.16 2). Weiterhin zeigte sich ein niedriger Peak für das Sputtermaterial Silber (die Probe wurde nur mit einer sehr dünnen Silberschicht überzogen). Auf den Verteilungskarten der Querschnitte der Haftscheiben waren die Bereiche der Haftscheiben

deutlich von denen der umgebenden Kutikula unterscheidbar (Abb. 3.17, 3.18). Um die Auflösung der Aufnahmen zu verbessern, wurden die Proben mit einer dickeren Goldschicht bzw. Silberschicht überzogen. Auch hier zeigte sich ein Fehlen des Elements Kalzium im Haftscheibenbereich. Die Verteilungskarten zeigten zudem, dass die Bereiche der Haftscheibe auf dem Propodus ohne Kalziumeinlagerungen nicht nur oberflächlich liegen, sondern auch in tieferen Bereichen in der Kutikula liegen. Die Haftscheibe auf dem Dactylus ist dagegen nur bis ca. 20  $\mu\text{m}$  Tiefe ohne Kalziumeinlagerungen. In den Bereichen der Kutikula unterhalb der Haftscheibe des Dactylus zeigten die Röntgenspektren zusätzlich hohe Peaks für Phosphor und Magnesium (Abb. 3.18 2).

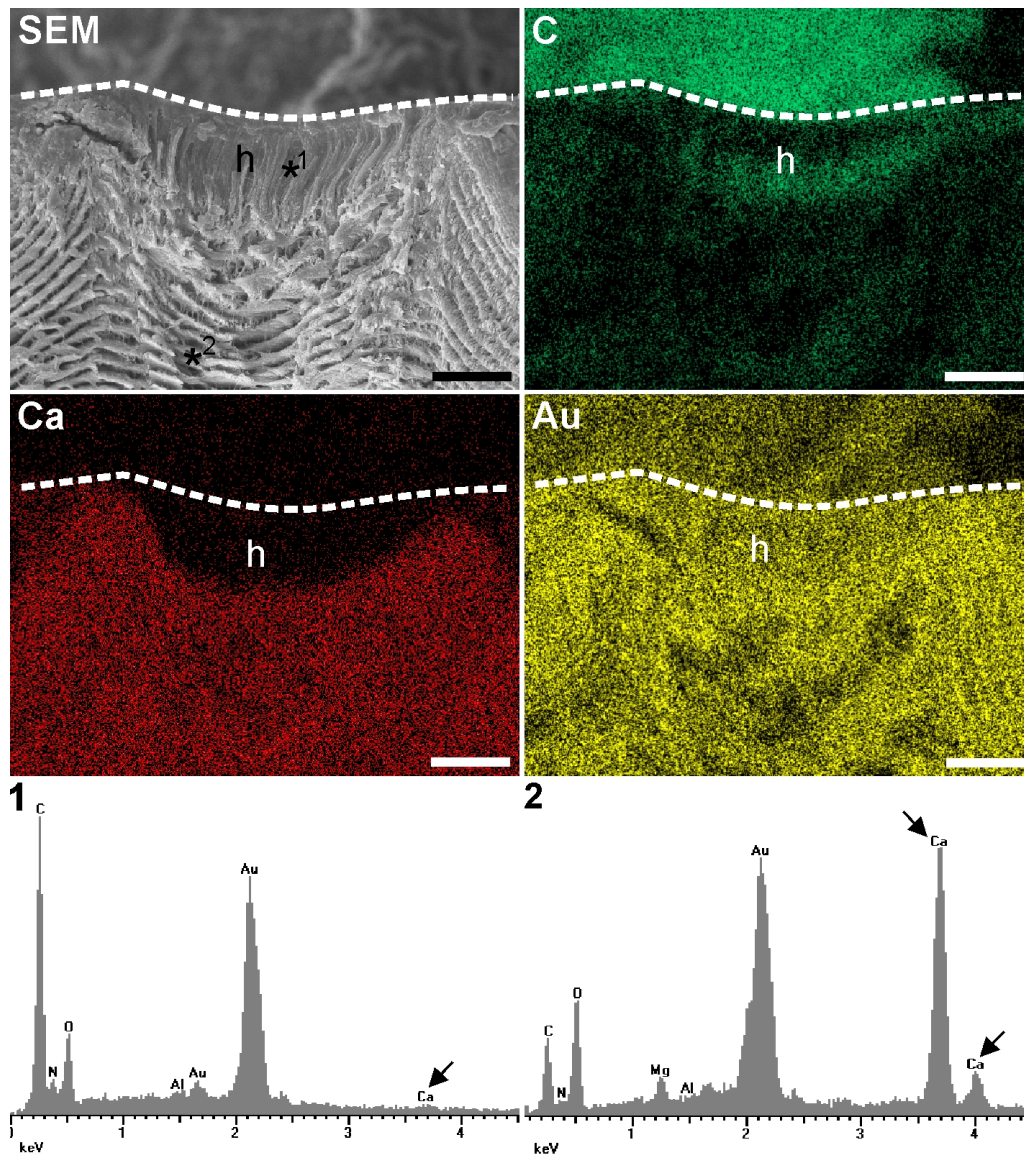


**Abbildung 3.15.:** Ergebnisse der EDX-Analyse des Haftscheibenbereichs auf dem Propodus von *A. randidalli*. **SEM.** Sekundärelektronen-Aufnahme. Aufsicht der Haftscheibe (h, innerhalb der gebrochenen Linie) und umgebender Bereiche. Ein punktuelles Spektrum wurde jeweils innerhalb der Haftscheibe (Position 1) und außerhalb in unmittelbarer Nähe (Position 2) aufgenommen. **C.** Verteilungskarte für das Element Kohlenstoff. Die Konzentration von Kohlenstoff ist in der Haftscheibe geringfügig höher als in der umgebenden Kutikula. **Ca.** Verteilungskarte für das Element Kalzium. Die umgebende Kutikula zeigt deutliche Signale für Kalzium, während innerhalb der Haftscheibe kaum Signal für Kalzium ist. Unterhalb der Haftscheibe befindet sich die Gelenkhaut, die ebenfalls kein Signal für Kalzium aufweist. **Ag.** Die Referenzaufnahme des Sputtermaterials Silber zeigt ein gutes Signal im gesamten Messbereich ausgenommen des Bereiches hinter der Haftscheibe (rechts oben im Bild), der vom EDX-Sensor abgeschattet ist. **1.** Punktueller Spektrogramm innerhalb der Haftscheibe. **2.** Punktueller Spektrogramm außerhalb der Haftscheibe. Im Vergleich von 1 und 2 wird die unterschiedliche Elementzusammensetzung deutlich. Der Haftscheibenbereich zeigte nur Spuren von Kalzium (Ca) und Magnesium (Mg), aber erhöhte Peaks für Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O) und Stickstoff (N). Im Bereich außerhalb der Haftscheibe zeigen sich zwei hohe Peaks für Kalzium (Ca), sowie ein jeweils niedriger Peak für Magnesium (Mg) sowie Phosphor (P). Maßstabsbalken: 100 µm.

### 3. Ergebnisse

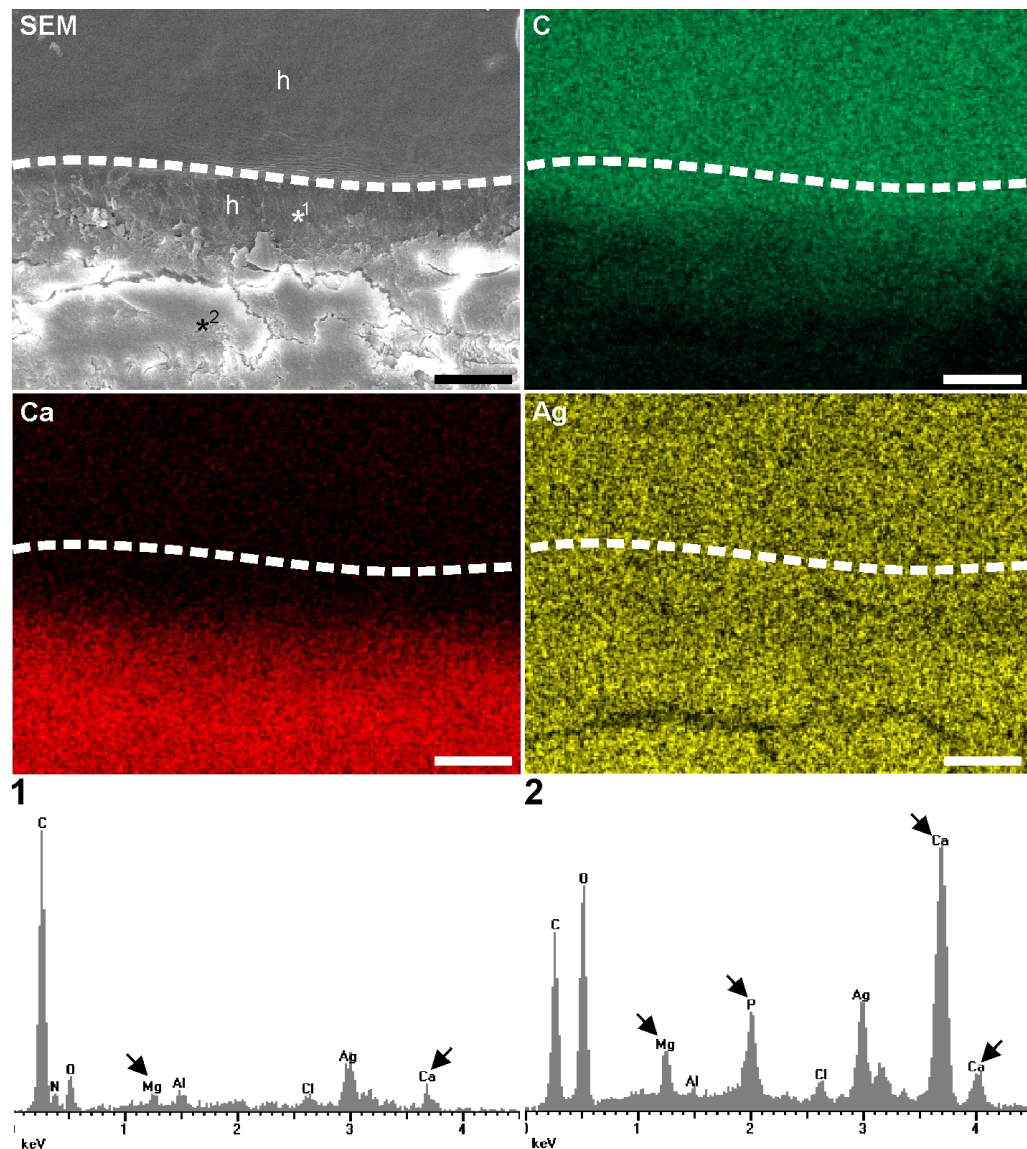


**Abbildung 3.16.:** Ergebnisse der EDX-Analyse des Haftscheibenbereichs auf dem Dactylus von *A. randalli*. **SEM.** Sekundärelektronen-Aufnahme. Aufsicht der Haftscheibe (h) und umgebender Bereiche des Dactylus. Ein punktuelles Spektrum wurde jeweils innerhalb der Haftscheibe (Position 1) und außerhalb in unmittelbarer Nähe (Position 2) aufgenommen. **C.** Verteilungskarte für das Element Kohlenstoff. Die Konzentration von Kohlenstoff ist in der Haftscheibe relativ höher als in der umgebenden Kutikula. **Ca.** Verteilungskarte für das Element Kalzium. Die umgebende Kutikula zeigt deutliche Signale für Kalzium, während innerhalb der Haftscheibe kaum Signal für Kalzium ist. **Ag.** Die Referenzaufnahme des Sputtermaterials Silber zeigt ein gutes Signal im gesamten Messbereich ausgenommen eines kleinen Bereiches (im Bild rechts) unterhalb des Dactylus, der vom EDX-Sensor abgeschattet ist. **Spektren:** **1.** Punktueller Spektromaufnahme innerhalb der Haftscheibe. **2.** Punktueller Spektromaufnahme außerhalb der Haftscheibe. Der Haftscheibenbereich zeigt nur Spuren von Kalzium (Ca), aber erhöhte Peaks für Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O) und Stickstoff (N). Im Bereich außerhalb der Haftscheibe zeigen sich zwei hohe Peaks für Kalzium (Ca). Magnesium (Mg) zeigt nur einen sehr geringen Peak. Maßstabsbalken: 200 μm.



**Abbildung 3.17.:** Ergebnisse der EDX-Analyse eines Querschnittes des Haftscheibenbereichs auf dem Propodus von *A. randalli*. **SEM.** Sekundärelektronen-Aufnahme. Querschnitt der Haftscheibe (h, gebrochene Linie markiert die Kutikula-Oberfläche) und darunterliegender Bereiche. Ein punktuelles Spektrum wurde jeweils innerhalb der Haftscheibe (Position 1) und außerhalb in unmittelbarer Nähe (Position 2) aufgenommen. **C.** Verteilungskarte für das Element Kohlenstoff. Die Konzentration von Kohlenstoff ist in der Haftscheibe geringfügig höher als in der umgebenden Kutikula. **Ca.** Verteilungskarte für das Element Kalzium. Die umgebende Kutikula zeigt deutliche Signale für Kalzium, während innerhalb der Haftscheibe kaum Signal für Kalzium ist. **Au.** Die Referenzaufnahme des Sputtermaterials Gold zeigt ein gutes Signal im gesamten Messbereich mit geringfügigen Abschattungen (dunkle Bereiche). Spektren: **1.** Punktueller Spektromaufnahme innerhalb der Haftscheibe. **2.** Punktueller Spektromaufnahme unterhalb der Haftscheibe. Der Haftscheibenbereich zeigt nur geringfügige Spuren von Kalzium (Ca) und Magnesium (Mg), aber erhöhte Peaks für Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O) und Stickstoff (N). Im Bereich unterhalb der Haftscheibe zeigen sich zwei hohe Peaks für Kalzium (Ca), sowie ein jeweils niedriger Peak für Magnesium (Mg). Maßstabsbalken: 20 µm.

### 3. Ergebnisse

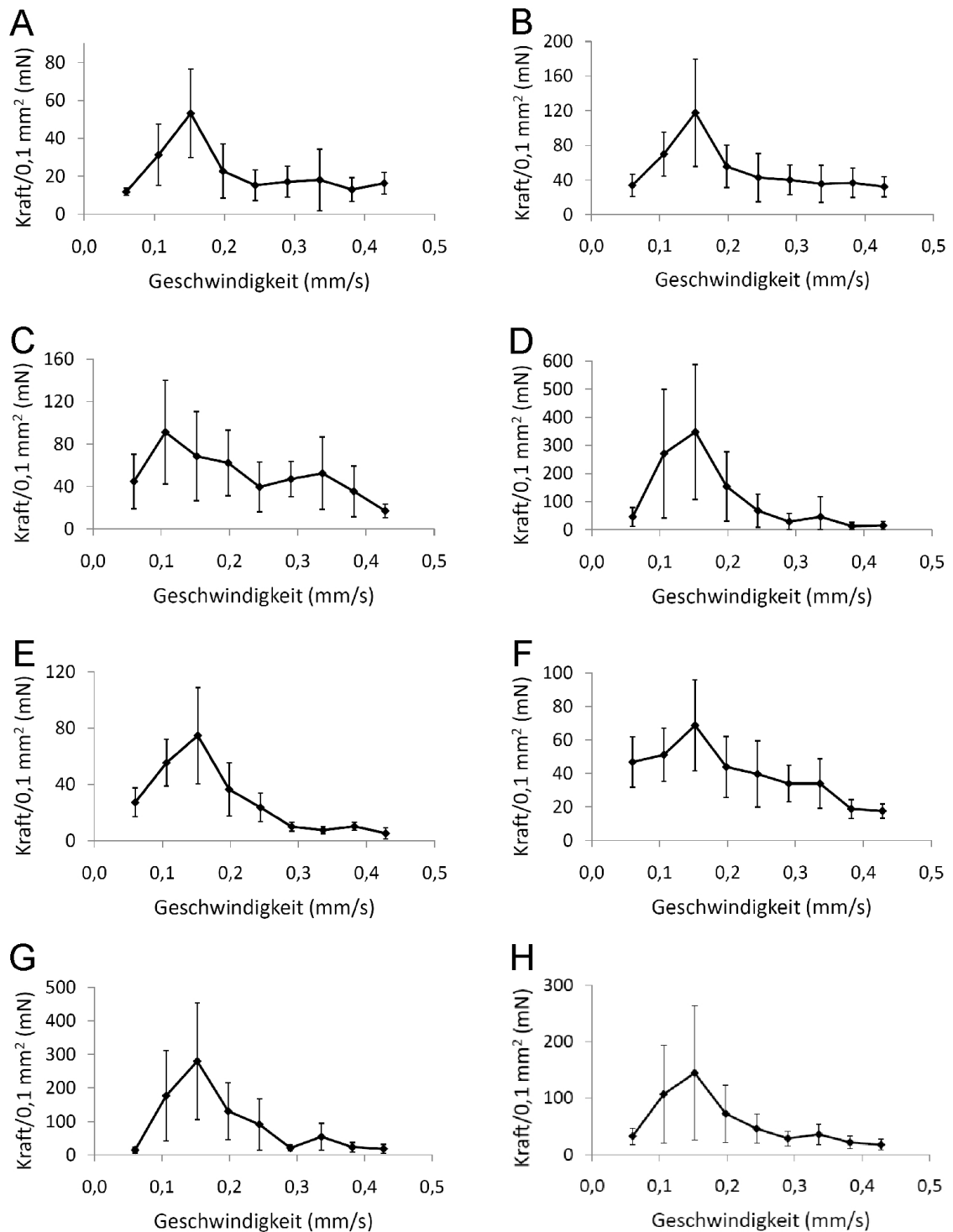


**Abbildung 3.18.:** Ergebnisse der EDX-Analyse eines Querschnittes des Haftscheibenbereichs auf dem Dactylus von *A. randalli*. **SEM.** Sekundärelektronen-Aufnahme. Querschnitt der Haftscheibe (h, gebrochene Linie markiert die Kutikula-Oberfläche) und darunterliegender Bereiche in schräger Aufsicht. Ein punktuelles Spektrum wurde jeweils innerhalb der Haftscheibe (Position 1) und unterhalb in unmittelbarer Nähe (Position 2) aufgenommen. **C.** Verteilungskarte für das Element Kohlenstoff. Die Konzentration von Kohlenstoff ist in der Haftscheibe geringfügig höher als in der darunter befindlichen Kutikula. **Ca.** Verteilungskarte für das Element Kalzium. Die umgebende Kutikula zeigt deutliche Signale für Kalzium, während innerhalb der Haftscheibe kaum Signal für Kalzium ist. **Ag.** Die Referenzaufnahme des Sputtermaterials Silber zeigt ein gutes Signal im gesamten Messbereich mit geringfügigen Abschattungen (dunkle Bereiche). Spektren: **1.** Punktueller Spektromaufnahme innerhalb der Haftscheibe. **2.** Punktueller Spektromaufnahme unterhalb der Haftscheibe. Der Haftscheibenbereich zeigt nur geringfügige Spuren von Kalzium (Ca) und Magnesium (Mg), aber erhöhte Peaks für Kohlenstoff (C), Sauerstoff (O) und Stickstoff (N). Im Bereich unterhalb der Haftscheibe zeigen sich zwei hohe Peaks für Kalzium (Ca), sowie relativ hoher Peak für Magnesium (Mg) und Phosphor (P). Des Weiteren sind Spuren von Chlor (Cl) sichtbar. Maßstabsbalken: 10 µm.

#### 3.3.4. Haftkraft der Haftscheiben

In 3%-iger Salzlösung lag die durchschnittliche Haftkraft aller untersuchten Proben zwischen 17 und 144 mN/mm<sup>-1</sup> (Abb. 3.19 H). Maximalwerte der Kraft bei einzelnen Proben lagen bei ca. 600 mN/mm<sup>-1</sup>. Bei niedrigen Geschwindigkeiten des Sensors war die gemessene Kraft relativ gering. Bei höheren Geschwindigkeiten war die gemessene Haftkraft um ein mehrfaches höher als bei niedrigen Geschwindigkeiten. Ab einer bestimmten Geschwindigkeit nahm die Haftkraft wieder ab, bei einigen Proben bis unterhalb des Anfangswertes bei niedriger Geschwindigkeit. Dieses Verhalten war für alle Proben identisch. Unterschiede zwischen den Proben der Krebse zeigten sich zum Einen in den absoluten Werten der Haftkraft, zum Anderen wurden die minimalen und maximalen Haftkräfte bei unterschiedlichen Geschwindigkeiten des Sensors erreicht, sodass sich der Kurvenverlauf der Kraftkurve entlang der y-Achse verschob (vergleiche Abb. 3.19 A-G). Die hohe Varianz zwischen den Arten nach Umrechnung der gemessenen Kräfte auf Kraft pro Fläche zeigt zudem, dass die Haftkraft nicht proportional zur Haftfläche (der Fläche der Haftscheiben) ist. Wurden die Scheren in Ethanol/Wasserlösungen überführt, so ließ die Haftkraft abrupt nach und kam zum Erliegen, so dass sich der Dactylus nicht mehr aufspannen ließ. Dies geschah auch bei einer Ethanol-Konzentration von unter 10 %. Dieser Effekt war reversibel. Nach Spülung der Schere mit Salzwasser zeigten ließ sich die Schere in Salzwasser wieder aufspannen. Das gleiche Verhalten zeigte die Schere bei Überführung in wässrige Glycerin- oder Sucroslösung. Die Haftkraft erlosch auch bei niedrigen Konzentrationen abrupt. Der Dactylus ließ sich dann nicht mehr aufspannen. Die Haftwirkung konnte jedoch durch Spülen und Rückführung in Salzwasser wieder hergestellt werden.

### 3. Ergebnisse



**Abbildung 3.19.:** Haftkräfte in 3%-igem Salzwasser bei unterschiedlichen Geschwindigkeiten für alle sieben Individuen (A-G) und Durchschnittswerte der Haftkraft (H). Die Balken in A-G geben die Standardabweichung von jeweils 50 Messungen pro Geschwindigkeit an, in H die Standardabweichung der sieben Individuen. Die Haftkräfte wurden zur Vergleichbarkeit für eine Fläche von 0,1 mm<sup>2</sup> angegeben.



# Diskussion

---

## 4.1. Funktionelle Topographie der Knallscheren

Alle Vertreter der Alpheidae, die knallende Geräusche mit ihrer Schere erzeugen können, besitzen ein ineinander passendes System aus einem Sockel auf dem beweglichen Scherenfinger (Dactylus) und einer Grube auf dem unbeweglichen Scherenfinger (Propodus) (Anker u. a., 2006). Die untersuchten Alpheiden-Arten *A. randalli* und *A. bellulus* weichen von diesem System nicht ab. Form und Größe des Sockels und der Grube variieren dagegen von Art zu Art (Coutière, 1899; Volz, 1938; Anker u. a., 2006). Alpheiden der Unterfamilie Amphibatidae besitzen ebenfalls ein System aus Sockel und Grube, sind aber nicht in der Lage zu knallen (Coutière, 1899; Anker u. a., 2006). Demnach scheint dieses System zwar eine notwendige Präadaption, aber allein als Merkmal nicht hinreichend für das Knallen (Anker u. a., 2006). Die untersuchten Individuen von *A. randalli* und *A. bellulus* unterscheiden sich in der Größe von Sockel und Grube. *A. randalli* besitzt relativ zur Schere gesehen eine größere, tiefere Grube, die zudem eine rundere Form besitzt, während die Grube bei *A. bellulus* eine länglichere Form hat. Wie genau wird nun ein Wasserstrahl mit diesem System erzeugt? Im geöffneten Zustand der Schere ist die Grube geöffnet. Schließt sich die Schere, so verschließt der Sockel die Grube von proximal nach distal, bis nur distal eine kleine Austrittsöffnung bleibt. Sockel und Grube bilden also im geschlossenen Zustand eine Druckkammer mit kurzem Kanal. Die Austrittsöffnung funktioniert als Düse. Durch die Austrittsöffnung kann das in der Grube befindliche Wasser die Grube nach schräg vorne verlassen. Der Sockel verschließt die Grube vollständig bis auf die Austrittsöffnung. Auffallend ist bei beiden Arten die hakenförmige Ausformung des Sockels. Das proximale Ende des Sockels ist nach proximal geneigt, so dass dieser hakenartige Vorsprung zwangsläufig zuerst in das proximale Ende der Grube eindringt und

die Grube von proximal nach distal verschlossen wird. Vermutlich wird so gewährleistet, dass die Flüssigkeit in der Grube ausschließlich nach vorne (distal) aus der Grube herausgedrückt wird. Eine rundherum geschlossene Druckkammer entsteht also erst, wenn der Sockel die Grube nach oben hin verschließt. Die  $\mu$ CT-Aufnahmen zeigen, dass der Sockel bei geschlossener Schere nicht komplett bis auf den Grund der Grube vordringt, sondern vielmehr ein schmaler Spalt zwischen Grubenboden und Sockeloberfläche zurückbleibt. Da die Sockel beider Arten mit zahlreichen Borsten besetzt sind, ist es auch nicht möglich, dass die Oberfläche des Sockels bis auf den Grubenboden aufschlägt. Vor allem verhindert aber die Hakenform des Sockels, die zuerst auf den proximalen inneren Grubenrand trifft, ein weiteres, tieferes Eindringen des Sockels in die Grube. Um die „Spritzmenge“ an Wasser abzuschätzen, wurde anhand der  $\mu$ CT-Aufnahmen das Volumen der geschlossenen Grube gemessen und davon das Restvolumen innerhalb der Grube bei komplett eingedrungenem Sockel subtrahiert. Nur diese Differenz an Volumen kann bei einem Knallvorgang gezielt nach vorne bzw. schräg nach vorne abgegeben werden. Bevor die Grube komplett verschlossen ist, wird die Flüssigkeit vom Sockel mehr oder weniger in alle Richtungen verdrängt. *A. randalli* verdrängt bei einem Knallvorgang eine größere Menge an Volumen bzw. Wasser als die größere Art *A. bellulus*, bedingt durch die größere Tiefe der Grube und die größere Höhe des Sockels. Trotz der deutlich geringeren Größe der Individuen dieser Art produzieren diese einen scheinbar nur geringfügig leiseren Knall als die Individuen von *A. bellulus*. Die Hydrodynamik des Knallvorgangs wurde in einer weiterführenden Studie mittels particle image velocimetry in einem realen, maßstabsgetreu vergrößerten Modell der Schere bestimmt, das mit den  $\mu$ CT-Daten erstellt wurde (Hess u. a., [subm](#)). Zur Vereinfachung wurden in diesem Modell die zahlreichen Borsten der Schere zunächst nicht berücksichtigt. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass diese Borsten einen zumindest geringen Effekt in Form von Verwirbelungen auf die Hydrodynamik während des Knallens ausüben. Primärfunktion der Borsten auf der Knallschere scheint allerdings bei *Alpheiden*-Arten die sensorische Funktion zu sein (Sullivan u. Schmitz, 1997; Herberholz u. Schmitz, 1998). Beim Knallen bewegt sich der Dactylus mit sehr hoher Geschwindigkeit auf den Propodus zu, der Schließvorgang beim Knallen dauert etwa 0,5-0,75 ms (Schmitz B, 1998; Versluis u. a., 2000). Trotz dieser hohen Geschwindigkeit beim Aufeinandertreffen der Scherenfinger nehmen die Scheren dabei offenbar keinen Schaden, da die Krebse innerhalb des mehrwöchigen Häutungszyklus (eigene Beobachtung) beliebig oft Knallen können. Die Chitinkutikula der Krebstiere ist im Bereich der Exo-

und Endokutikula meist durch Einlagerungen von Kalzit-Kristallen und amorphen Kalzium-Karbonaten gehärtet (Roer u. Dillaman, 1984; Hadley, 1986; Vincent, 1990, 2002). Auch die Epikutikula enthält zum Teil Kalzit-Einlagerung in Sphärenform (Roer u. Dillaman, 1984). Diese mineralischen Einlagerungen bewirken bei Crustaceen stets eine größere Steifigkeit und Sprödigkeit der kalzifizierten Kutikula im Vergleich mit Bereichen ohne mineralische Einlagerungen, welche geringere Härte und Elastizitätsmodule besitzen (Roer u. Dillaman, 1984; Cribb u. a., 2009). Mineralisch nicht gehärtete Bereiche der Crustaceen-Kutikula sind beispielsweise flexible Gelenkhäute (Roer u. Dillaman, 1984). Die EDX-Analysen des Grubenbereiches zeigten einen ringförmigen Bereich um die Grube, der nicht durch Kalziumverbindungen oder andere mineralische Einlagerungen gehärtet scheint. Das Spektrum gibt für diesen Bereich lediglich die Elemente Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff in größerer Konzentration an. Der Peak für Stickstoff war dabei höher als in den umgebenden Bereichen. Der Ring besteht demnach überwiegend aus organischem, nicht mineralisiertem Material, höchstwahrscheinlich Chitin. Innerhalb der Chitinmatrix könnten jedoch auch Proteine als Gerbstoffe eingelagert sein (Roer u. Dillaman, 1984; Skinner u. a., 1992). Der Ring, der die Grube rundherum umgibt, könnte durch seine abweichenden mechanischen Eigenschaften zwei Funktionen haben: Der Sockel des Dactylus kommt beim Schließen der Schere auf diesem Ring zu liegen. Durch eine höhere Flexibilität des Ringes könnte der Dactylus abgefedert werden, um eine mögliche Beschädigung der Kutikula der Schere zu vermeiden. Zum Teil wird davon ausgegangen, dass bei Crustaceen die mineralisch nicht gehärteten Bereiche weniger anfällig gegenüber Absplittern sind (Schofield, 2005; Cribb u. a., 2009). Gleichzeitig umgibt der Ring die Grube wie eine Art Dichtungsring. Beim Verschluss der Grube könnte so ein seitliches Heraustreten des Wassers aus der Grube verhindert werden. Da ein ähnlicher Ring auch für Alpheiden anderer Gattungen wie *Synalpheus* beschrieben wurde (Volz, 1938), ist davon auszugehen, dass der Ring eine wichtige Funktion für das Knallen besitzt.

## 4.2. Interne Apodeme und Muskuläres System der Knallscheren

Das laut hörbare knackende bzw. knallende Geräusch beim Schließen der Knallschere entsteht nicht allein durch die spezielle Morphologie der Knallschere, es erfordert

auch eine ausreichend schnelle Bewegung des Dactylus beim Schließen der Schere (Schmitz B, 1998; Versluis u. a., 2000; Anker u. a., 2006). Wie eingangs beschrieben erreichen zahlreiche Arthropodenarten hohe Beschleunigungen über Klick/Feder oder Katapultmechanismen, bei denen durch energiespeichernde oder blockierende Strukturen eine Spannung vor der eigentlichen Bewegung aufgebaut wird (review von Gronenberg 1996, siehe Einleitung Abschnitt 1.3). Für Knallkrebse sind bislang zwei solcher Mechanismen ansatzweise beschrieben worden: ein muskulärer Mechanismus und ein Adhäsionsmechanismus (Ritzmann, 1973, 1974). Für die in dieser Arbeit untersuchten Arten ist der Mechanismus der Beschleunigung des Dactylus bislang noch nicht beschrieben worden. Zwar sind Haftscheiben auf den Knallscheren vorhanden, jedoch muss ein muskulärer Mechanismus zunächst ausgeschlossen werden, um die Haftwirkung der Haftscheiben als Hauptfaktor für die hohe Beschleunigung des Dactylus bestätigen zu können.

Die genaue Funktionsweise des muskulären Arretierungsmechanismus wurde in Ritzmann (1973) für die Art *A. heterochaelis* beschrieben: Der Dactylus besitzt an seinem basalen Ende zwei Apodeme, an denen ein Öffnermuskel (Abduktor) und zwei Schließermuskel (Adduktoren) inserieren. Der Öffner zieht den Dactylus nach hinten und hält die Schere in der geöffneten Position. Der Dactylus ist so weit gedreht, dass das Apodem des 1. Schließermuskels durch das Doppelscharniergelenk nach oben wandert und oberhalb des Drehpunkts des Gelenkes liegt. Kontrahiert der 1. Schließermuskel, so wird der Dactylus aufgrund der Lage des Apodems zurückgehalten und nicht geschlossen. Der zweite Schließer, welcher deutlich kleiner als der erste ist, setzt weiter unterhalb am Apodem an. Kontrahiert dieser, bewegt sich das Apodem unterhalb des Drehpunktes des Gelenkes. Ab diesem Punkt ziehen beide Schließermuskeln den Dactylus abrupt zu. Entscheidend für diesen Mechanismus ist die Lage des Schließerapodems über dem Drehpunkt des Gelenkes bei vollständig geöffneter Schere. Bei *A. heterochaelis* ist dies möglich, da der Dactylus im maximal geöffneten Zustand sehr weit zurückgedreht ist (über  $110^\circ$ ). Betrachtet man die Lage der Muskeln bzw. Apodeme im Propodus der hier untersuchten Arten so wird schnell deutlich, dass dieser Mechanismus bei diesen Arten nicht funktionieren kann: Der Dactylus wird weder bei *A. randalli* noch bei *A. bellulus* so weit zurückgedreht, dass das Schließerapodem über dem Drehpunkt des Gelenkes liegen kann. Zudem zeigen die Apodeme keine triangelförmige Ansatzstelle für einen zweiten Schließermuskel, wie dies von Ritzmann (1973) für *A. heterochaelis* beschrieben wurde. Da ein muskulärer Mechanismus zum Spannungsaufbau nicht vorliegt, muss der Spannungsaufbau

entweder durch die vorhandenen Haftscheiben oder einen weiteren, unbekanntem Mechanismus entstehen.

## 4.3. Haftmechanismus der Knallscheren

### 4.3.1. Morphologie der Haftscheiben

Die untersuchten Knallkrebsarten besitzen auf dem Propodus und Dactylus scheibenförmige Strukturen, die bei vollständig geöffneter Schere dicht aufeinander liegen. Ähnliche Strukturen sind in der Literatur bereits für andere Knallkrebsarten beschrieben worden (Ritzmann, 1973, 1974; Anker u. a., 2006). Den Strukturen wurde die Funktion eines Haftsystems zugeschrieben, welches die Scheren im geöffneten Zustand arretiert und somit für einen notwendigen Spannungsaufbau beim Knallmechanismus sorgt (Ritzmann, 1973, 1974). Anhand von isolierten Scheren der untersuchten Arten konnte die Haftwirkung der Scheiben für diese Arten bestätigt werden. Nach dem Ankratzen der Haftscheibenoberfläche durch eine Nadel wurde die Haftwirkung aufgehoben und konnte nicht wieder hergestellt werden. Die Scheren konnten nun nicht mehr in der geöffneten Position arretiert werden. Bislang wurde nur die oberflächliche Struktur der Haftscheiben beschrieben (Ritzmann, 1974). Um den zugrundeliegenden Haftmechanismus bestimmen zu können, sind jedoch sowohl Informationen zur inneren Struktur als auch zu den Materialeigenschaften der Haftscheiben notwendig (Barnes, 2007; Gorb, 2007). In dieser Arbeit wurde zum ersten Mal die interne Ultrastruktur der Haftscheiben in Kombination mit der Materialzusammensetzung dargestellt. Während die Haftscheiben in der Aufsicht sehr glatt, weitgehend farblos und ohne weitere auffällige Strukturen erscheinen, so zeigen die Schnittbilder der Haftscheiben Strukturmerkmale, die von der umgebenden Kutikula deutlich abweichen. Die Haftscheibe auf dem Propodus besitzt eine gleichmäßige Faserung, die senkrecht zur Oberfläche orientiert ist. Die Orientierung der Faser ist damit gegensätzlich zur alpha-Chitinfaserung der übrigen Exo- und Endokutikula, welche größtenteils parallel zur Oberfläche orientiert ist um der Kutikula eine hohe mechanische Stabilität zu geben (Roer u. Dillaman, 1984; Vincent, 1990, 2002; Raabe u. a., 2006, 2007; Chen u. a., 2008). Die senkrechte Orientierung dieser mikrometerfeinen Fasern würde es der Oberfläche der Haftscheibe ermöglichen, ihre Form leichter an eine andere Form, d.h. an die gegenüberliegende Haftscheibe des Dactylus, anzupassen. Räumliche Nähe der Oberflächen ist für die Haftwirkung entscheidend,

sofern es sich nicht um mechanische Haftsysteme (Haken etc.) handelt, da primär van-der-Waals Kräfte und sekundär Kapillareffekte, welche aber nur über kurze Distanzen wirken, für die Adhäsion verantwortlich sind (Autumn u. a., 2000; Autumn u. Peattie, 2002; Autumn u. a., 2002; Kim u. Bhushan, 2008). Solch eine Faserung wurde bereits von verschiedenen tierischen Haftsystemen in der Literatur beschrieben (review in Gorb 2007). Eine horizontale Faserung wäre für einer Oberflächenanpassung nachteilig. Die Haftscheiben auf dem Propodus besitzen neben den faserigen Strukturen noch eine zweite Strukturebene. Diese zweite Strukturebene wird durch die Exo- und Endokutikula unterhalb der faserigen Strukturen gebildet. Die Exo- und Endokutikula ist in zwei Bereichen halbkreisförmig vorgewölbt, sodass die Kutikula einen unterbrochenen hervorstehenden Kreis bildet, auf dem die faserigen Strukturen stehen und nach außen hin in einer glatten Oberfläche enden. Diese Struktur tritt besonders deutlich in den  $\mu$ CT-Aufnahmen hervor, da die scheinbar wenig röntgendichten faserigen Strukturen hier nicht vollständig dargestellt sind. Die Haftscheibe des Dactylus zeigt im Querschnitt keine faserartigen Strukturen, sondern ist amorph, ähnlich dem Erscheinungsbild der Epikutikula. Allerdings ist dieser amorphe Bereich im Bereich der Haftscheibe deutlich dicker als die übrige Epikutikula. Die Haftscheibe besitzt auch keine Sekundärstruktur. Die Exo- und Endokutikula unterhalb des amorphen Bereiches ist plan. Die Fläche der Haftscheibe des Dactylus war bei beiden Arten signifikant größer als die Fläche der Haftscheibe des Propodus. Dies könnte auch bei einer leichten Auslenkung des Dactylus beim Öffnen noch eine Deckung der beiden Haftscheiben ermöglichen, sodass auch bei einer Auslenkung noch eine Haftwirkung aufgebaut werden kann.

#### 4.3.2. Materialzusammensetzung und Materialeigenschaften der Haftscheiben

Die morphologischen Aufnahmen zeigten, dass die Haftscheibenbereiche eine auffällig andere Struktur besitzen als die umgebende Kutikula. Um zu überprüfen, ob die abweichende Struktur auch mit einer anderen Materialzusammensetzung und Materialeigenschaft einhergeht, wurden EDX-Analysen der Haftscheiben durchgeführt. Die EDX-Analysen zeigten, dass sich die stoffliche Zusammensetzung des Haftscheibenmaterials von der umgebenden Kutikula ebenfalls deutlich unterscheidet. Den Haftscheiben fehlen die mineralischen Einlagerungen aus Kalzium, welche die übrige Kutikula härten. Auch andere mineralische Einlagerungen, wie sie zum Teil

in Crustaceen-Kutikeln vorkommen (beispielsweise Verbindungen mit Magnesium, wie beispielsweise Magnesiumphosphat, [Boßelmann u. a. 2007](#)) und zum Teil auch in dieser Arbeit in Kutikula-Bereichen vorkamen, konnten in den Haftscheiben nicht nachgewiesen werden. Es ist davon auszugehen, dass das Material der Haftscheiben weniger Sprödigkeit und mehr Elastizität besitzt (siehe [4.1](#)), auch wenn in diesen Bereichen möglicherweise neben Chitin noch Proteine als Gerbstoffe vorkommen. Für die Haftwirkung zweier Oberflächen kann die Elastizität zumindest einer der Oberflächen wichtig sein, da für eine optimale Haftwirkung die Oberflächen in möglichst engem Kontakt stehen müssen (siehe [4.3.1](#)), sofern keine klebrigen Substanzen auf der Oberfläche aufgelagert sind, welche fehlende räumliche Nähe kompensieren können ([Persson u. Gorb, 2003](#); [Gorb, 2007](#); [Barnes, 2007](#); [Persson, 2007](#); [Gorb, 2008](#)). In Kombination mit der senkrecht orientierten Faserung der Haftscheibe des Propodus können elastische Materialeigenschaften die Haftwirkung also erhöhen. Welcher Art ist das Material der Haftscheiben? Das EDX-Spektrum zeigt jeweils einen hohen Peak für Stickstoff. Die wachsartige Epikutikula der Arthropoden besteht meist aus langkettigen Kohlenwasserstoffen, Estern von Fettsäuren und Alkoholen, aber auch Calcit-Inseln ([Roer u. Dillaman, 1984](#); [Hadley, 1986](#); [Skinner u. a., 1992](#); [Vincent, 2002](#); [Chen u. a., 2008](#)). Diese Stoffe besitzen keinen Stickstoffanteil ([Hart u. a., 2002](#); [Mortimer u. Müller, 2003](#); [Riedel u. Janiak, 2007](#)). Chitin besitzt dagegen Stickstoff im N-Acetylglucosamin-Rest. Proteine besitzen ebenso Stickstoffanteil in der Amino-Gruppe. Das Material der Haftscheiben besteht folglich vermutlich aus Chitin oder Protein oder einer Chitinmatrix mit eingelagerten Proteinen.

#### 4.3.3. Zu Grunde liegender Haftmechanismus

Unmittelbar vor einem Knallvorgang öffnet ein Pistolenkrebs den Dactylus der Knallschere maximal. In dieser Position kann der Dactylus bis zum Knallvorgang arretiert bleiben. Bei den Arten *A. randalli* und *A. bellulus*, welche in dieser Arbeit untersucht worden, funktioniert der Mechanismus des Arretierens auch bei frisch extrahierten und in Wasser gelagerten Knallscheren. Es genügt dabei, den Dactylus leicht anzuheben und die Haftscheiben anzunähern, um die Schere zu arretieren. Kraftaufwand ist jedoch nötig, um den Dactylus wieder zu lösen. Die Haftwirkung wird irreversibel aufgehoben, wenn eine der Haftscheiben oberflächlich zerkratzt wird. Dies belegt, dass die Haftwirkung tatsächlich durch die Haftscheiben bedingt ist. Die Haftwirkung erliegt, wenn die Haftscheiben trocken fallen. Werden die Haftscheiben wieder

benetzt, so kehrt die Haftwirkung zurück. Entscheidend für die Haftwirkung ist also eine Benetzung der Haftscheiben mit Flüssigkeit bzw. eine Hydrierung des Haftscheibenmaterials. Die Haftscheiben an sich besaßen weder im trockenen noch im hydrierten Zustand eine klebende Wirkung, die auf das Vorhandensein einer klebrigen Substanz schließen lassen könnte. Zudem war die Haftwirkung z.B. nach Zugabe von Ethanol und Austausch des Alkohols durch Wasser reversibel. Eine klebrige Substanz hätte sich nicht unmittelbar nach Wasserzugabe regenerieren können. Eine aufgelagerte klebrige Substanz kann daher ausgeschlossen werden.

Aufgrund der Oberflächenbeschaffenheit der Haftscheiben kommen zwei Hafteffekte als zu Grunde liegender Haftmechanismen in Frage: Ein Saugnapf-Effekt oder eine „wet adhesion“, nasse Adhäsion. Ein Saugnapf ist ein napfförmiges Gebilde das aus elastischem Material besteht. Der Hafteffekt entsteht, wenn die elastische Oberfläche auf eine feste, möglichst glatte Oberfläche gepresst wird (siehe z.B. [Denny 1988](#)). Durch Kraftaufwand wird die zwischen den Oberflächen befindliche Flüssigkeit oder Luft herausgedrückt. Es entsteht durch das umgebende Medium ein Druck, welcher die Oberflächen zusammenhält. Die dabei entstehende Haftkraft ist proportional zur Druckdifferenz und zur Fläche, mit welcher der Saugnapf mit der Oberfläche in Kontakt steht. Der Betrag der Haftkraft ist unabhängig von dem verwendeten Medium. Allerdings sind bei zähflüssigeren Medien längere Andruckzeiten nötig, um den gleichen Unterdruck aufzubauen, da diese langsamer fließen. Wet adhesion kann nur in wässriger Umgebung entstehen und setzt sich vor allem aus zwei Komponenten zusammen: Der Oberflächenspannung der Flüssigkeit sowie der Stefan-Adhäsion ([Felderle u. a., 2006](#); [Persson, 2007](#)). Mit zunehmender Oberflächenspannung der Flüssigkeit (d.h. zunehmend hoher Kohäsion) steigt die Adhäsionskraft. Stefan Adhäsion entsteht, wenn zwei (glatte) Oberflächen dicht aufeinander liegen ([Denny, 1988](#)). Werden diese Oberflächen nun auseinander gezogen, wirkt dem eine Haftkraft entgegen. Die Haftkraft entsteht, da das Medium in den Zwischenraum zwischen den Platten fließen muss und dabei die Zähflüssigkeit des Mediums dem Fließen entgegenwirkt. Ist das Medium zähflüssig, so ist die Haftkraft hoch. Ist es dünnflüssig, wie beispielsweise Luft, so ist die Haftwirkung gering. Die Haftkraft erhöht sich mit der Geschwindigkeit, mit welcher die Oberflächen auseinander gezogen werden. Die Kraft, die durch Stefan Adhäsion entsteht, lässt sich mit folgender Formel beschreiben (Gleichung 4.1):



$$F = \mu \frac{3\pi r^4 dy/dt}{2y^3} \quad (4.1)$$

Dabei ist  $F$  die Kraft, die notwendig ist um die beiden Platten voneinander zu lösen. Der Radius  $r$  beeinflusst die Kraft über die Fläche der Platten,  $y$  ist der Abstand der Platten und gibt in Kombination mit der Zeit  $t$  die Beschleunigung an. Die dynamische Viskosität  $\mu$  gibt die Viskosität des die Platten umgebenden Mediums an, beispielsweise Luft oder Wasser. Die Formel zeigt, dass die Haftkraft proportional zur Viskosität und zur Beschleunigung zunimmt, mit der die beiden Oberflächen voneinander entfernt werden.

Um zu ermitteln, welche Art von Hafteffekt im Falle der Haftscheiben vorliegt, wurden Messungen in Flüssigkeiten unterschiedlicher Viskosität und Oberflächenspannung sowie bei verschiedenen Geschwindigkeiten durchgeführt. Salzwasser mit 3 %-iger Konzentration entspricht dabei den Bedingungen, denen die Pistolenkrebse in ihrem natürlichen Lebensraum ausgesetzt sind (siehe [Miya u. Miyake 1969](#) sowie [Banner u. Banner 1980](#) für die Lebensraumbeschreibung und [NOAA 2009](#) für Daten über die Salinität des Meerwassers in diesen Regionen). Messungen der Haftkraft in 3 %-igem Salzwasser sowie in destilliertem Wasser zeigten eine Abhängigkeit der Haftkraft von der Ablöse-Geschwindigkeit (= Geschwindigkeit der Sensorspitze). Der Anstieg der gemessenen Haftkraft bei langsamer Geschwindigkeit bis hin zu mittlerer Geschwindigkeit entspricht der Theorie der Stefan Adhäsion. Die Haftkraft steigt mit zunehmender Ablösegeschwindigkeit bzw. Beschleunigung der Oberflächen. Die Kraftkurve steigt dabei linear mit einer Steigung von nahezu eins an, d.h. die Haftkraft verdoppelt sich mit einer Verdopplung der Beschleunigung, was anhand Formel 4.1 zu erwarten ist. Ab einer bestimmten Geschwindigkeit nahm die gemessene Kraft jedoch wieder ab. Dies entspricht zwar nicht der Theorie der Stefan Adhäsion, nach der die Kraft weiter steigen müsste. Jedoch gilt die Gleichung für die Stefan Adhäsion für den idealen Fall zweier Platten, die sich mit zunehmender Beschleunigung und damit verbundenem Anstieg der Haftkraft nicht verformen. Für biologische Oberflächen ist davon auszugehen, dass diese ab einer bestimmten Beschleunigung durch die Stärke der Haftkraft zunehmend verformt werden, je nach Materialeigenschaften. Der Rückgang der Haftkraft bei höheren Geschwindigkeiten liegt vermutlich an einer (reversiblen) Deformation der Haftstrukturen durch die hohe Geschwindigkeit des Sensors, wodurch die Haftkraft abrupt abreißt. Die Deformation muss reversibel sein, da die Abfolge der Messungen dem Zufallsprinzip unterlag und nach niedrigen

Haftkräften bei hohen Geschwindigkeiten wieder hohe Haftkräfte bei niedrigeren Geschwindigkeiten gemessen wurden. Während der Verlauf der Kraftkurve bei allen Proben gleich war, waren die absoluten Werte unterschiedlich, d.h. der Kraftabfall trat bei unterschiedlich hohen Geschwindigkeiten ein. Dies könnte an der variablen Größe der Haftscheiben liegen. Allerdings zeigten die Ergebnisse der Haftkraftmessungen, dass die Haftkraft nicht proportional zur Haftfläche war. Eventuell spielte ein anderer Faktor eine größere Bedeutung für die absolute Höhe der Haftkraft pro Fläche. Entscheidend für die Höhe der Haftkraft ist auch der initiale Abstand der Haftscheiben zueinander. Dieser Abstand konnte hier nicht bestimmt werden, könnte aber im Bereich von Mikrometern variieren und somit die Haftkraft stärker beeinflussen als geringfügige Unterschiede in der Haftfläche (siehe Gleichung 4.1). Um die Haftkraft bei Veränderung der Faktoren Viskosität und Oberflächenspannung zu prüfen, wurden unterschiedliche Flüssigkeiten und wässrige Verdünnungen dieser Flüssigkeiten verwendet. Glycerin und Zuckerlösungen in den verwendeten Konzentrationen besitzen eine um 4-1400-fach höhere Viskosität als destilliertes Wasser bei vergleichbarer Oberflächenspannung (Segur u. Oberstar, 1951). Ethanol besitzt bei niedriger Oberflächenspannung eine geringe Viskosität ähnlich der von Wasser. Bei Verwendung dieser Flüssigkeiten zeigte sich schon bei geringen Konzentrationen die Spezifität des Hafteffektes: Der Hafteffekt erlosch jeweils kurz nach Austausch der Flüssigkeiten vollständig. Nach Austausch der Flüssigkeit mit Wasser konnte die Haftwirkung wieder hergestellt werden. Die Haftwirkung wurde dabei vermutlich nicht durch eine Erhöhung der Viskosität aufgehoben, sondern aufgrund einer Veränderung der mechanischen Eigenschaften der Haftscheiben durch die hygroskopische Wirkung der Flüssigkeiten. Die Hygroskopie könnte eine Dehydrierung der Haftscheiben bewirkt haben. Der Wasseranteil der Kutikula der Arthropoden bzw. Krebstiere sorgt für eine höhere Elastizität der Kutikula (Joffe u. a., 1975; Schöberl u. Jäger, 2006; Klocke u. Schmitz, 2011). Dehydrierte Kutikula wird dagegen spröde. Die Haftwirkung konnte auch durch eine Austrocknung der Haftbereiche aufgehoben werden. Gegen einen Saugnapf-Hafteffekt spricht zunächst die hohe Veränderung der Haftkraft bei verschiedenen Ablösegeschwindigkeiten. Die Ablösegeschwindigkeit spielt bei Saugnapfen für die Höhe der Haftkraft keine ausgeprägte Rolle (Denny, 1988).

Saugnapfe funktionieren auch unabhängig vom Medium. Damit sollten sie also bei verschiedenen Flüssigkeiten gleichermaßen funktionieren. Allerdings sind auch die mechanischen Eigenschaften des Saugnapfes für die Haftwirkung maßgeblich. Eine

Veränderung der mechanischen Eigenschaften der Haftscheiben durch die hygroscopischen Flüssigkeiten würde also auch einen Saugnapfeffekt nachteilig beeinflussen. Zudem lässt die Sekundärstruktur der Haftscheibe auf dem Propodus auf eine Erzeugung von Unterdruck schließen. Denkbar ist also durchaus eine Kombination von wet adhesion und einem Saugnapfeffekt. Die Oberflächenbeschaffenheit der Haftscheiben ist für die Haftwirkung von Bedeutung (review in [Gorb 2007](#)). In Lupenaufnahmen zeigen die Haftscheiben eine glänzende, glatte Oberfläche. Auch im REM besaßen die Haftscheiben eine augenfällig glattere Oberfläche als die umgebende Kutikula. Eine raue Oberfläche wäre sowohl für einen Saugnapfeffekt als auch für eine wet adhesion nachteilig. Für den Saugnapf wäre es nachteilig, da durch Oberflächenrauheiten der für die Haftwirkung wichtige Unterdruck schlechter aufrecht erhalten werden könnte. Der Rand des Saugnapfes würde durch Oberflächenrauheiten weniger dicht werden, es könnte zu Druckverlusten kommen. Für die wet-adhesion wäre eine hohe Oberflächenrauheit nachteilig, da die Oberflächen sich schlechter einander annähern könnten. Die van-der-Waals Kräfte zwischen den Oberflächen wären geringer.

Nach Ausschaltung des Haftmechanismus durch Ankratzen der Haftscheiben hatten die Krebse zumeist Schwierigkeiten durch die Bewegung des Dactylus ein knallendes oder knackendes Geräusch zu erzeugen. *A. randalli* besaß im Verhältnis zu den Scherengliedern signifikant größere Haftscheiben als *A. bellulus*. Wie in der Literatur beschrieben nutzen Pistolenkrebse unterschiedliche Mechanismen, um vor dem Knallen einen Spannungsaufbau im Dactylus zu erzeugen und dadurch die für das Knallen notwendigen hohen Beschleunigungen zu erreichen. Es kann nicht vollends ausgeschlossen werden, dass die untersuchten Krebsarten nicht noch einen weiteren Mechanismus besitzen, der hierbei mitwirkt.



Teil II.  
Speikobras



# Material und Methoden

---

## 5.1. Untersuchte Kobra-Arten und deren Haltung

In dieser Arbeit wurden fünf Kobraarten der Gattung *Naja* untersucht (siehe Tabelle 5.1). In der Tabelle ist die Gesamtzahl der verwendeten Individuen angegeben. Für die einzelnen Untersuchungen wurden zum Teil weniger Individuen verwendet.

Die Schlangen wurden in Terrarien unterschiedlicher Größe (klein: 75 cm × 60 cm × 60 cm, groß: 200 cm × 60 cm × 100 cm, (Breite × Höhe × Tiefe)) bei 20-30 °C Raumtemperatur und einer Luftfeuchte von 70-90 % gehalten. Alle Tiere wurden weitgehend synchron ca. jede dritte Woche mit kleinen bis mittelgroßen Nagetieren gefüttert. Wasser stand in einer stets gefüllten Schale permanent zur Verfügung. Die Schlangen waren allesamt Nachzuchten von Wildfängen. Die Größe der Tiere lag ca. zwischen 70 cm und 150 cm.

**Tabelle 5.1.:** Auflistung der untersuchten speienden und nicht-speienden Kobraarten

Art	Individuen	speiend (s) - nicht speiend (n)
<i>Naja kaouthia</i> Lesson, 1831	3	n
<i>Naja naja</i> (Linnaeus), 1758	2	n
<i>Naja nigricollis</i> Reinhardt, 1843	7	s
<i>Naja pallida</i> Boulenger, 1896	5	s
<i>Naja siamensis</i> Laurenti, 1768	5	s

## 5.2. Morphologie der Giftzähne

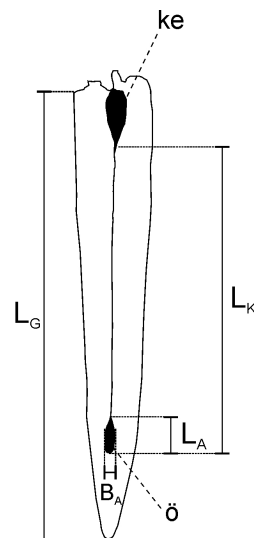
### 5.2.1. Computertomografie ( $\mu$ CT)

Von drei Speikobraarten wurden Aufnahmen der Giftzähne angefertigt. Von jeder Art wurden zwei Zähne untersucht. Die Giftschlangen ersetzen ihre Giftzähne etwa alle 6-8 Wochen. Daher wurde das Maul der Schlangen alle 4-6 Wochen untersucht um die ersetzten Zähne zu entnehmen. Normalerweise gehen diese Zähne bei der darauffolgenden Nahrungsaufnahme der Schlangen verloren. Zur Entnahme der Zähne wurde der Kopf der Tiere manuell fixiert. Mit der Pinzette wurden die lockeren Giftzähne aus der Gewebetasche vorsichtig entnommen. Die Zähne wurden mehrfach für jeweils 5-10 Minuten in einem Ultraschallbad zunächst destilliertem Wasser mit ein wenig Spülmittel, anschließend in 70 %-igem Ethanol und abschließend in destilliertem Wasser gereinigt, um angetrocknete Gift/Speichelrückstände und sonstige Verunreinigungen aus dem Giftkanal zu entfernen. Anschließend wurden die Zähne luftgetrocknet. Die folgenden Arbeitsschritte entsprachen der Prozedur für die  $\mu$ CT-Aufnahmen der Knallscheren (siehe Abschnitt 2.5). Mittels der Software Amira wurden der Giftkanal der Giftzähne sowie das Zahnmaterial auf den Schnittbildern einzeln von Hand bzw. teilweise mit Softwareunterstützung markiert. Aus den markierten Schnittbildern konnten diese Bereiche anschließend dreidimensional dargestellt und vermessen werden. Gemessen wurde die Gesamtlänge des Zahnes von der Spitze bis zur Eintrittsöffnung des Giftkanals, die Gesamtlänge des Giftkanals und die maximale Breite und Länge der Austrittsöffnung. Abbildung 5.1 illustriert die Bemaßungen an einem Schema eines Giftzahnes. Zusätzlich wurde das Volumen des Giftkanales, die Querschnittsfläche der Eintrittsöffnung des Giftkanals sowie die Länge und Höhe der Grate innerhalb des Kanals gemessen.

### 5.2.2. Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Rasterelektronenmikroskopie ermöglicht topografische Aufnahmen von Oberflächen in einer höheren Auflösung als Darstellungen der Computertomografie. Strukturen, die in der Computertomografie verborgen bleiben, können im REM sichtbar werden. Die REM-Aufnahmen der Giftzähne dienten daher auch der Überprüfung der Güte der  $\mu$ CT-Aufnahmen bzw. um auszuschließen, dass Mikrostrukturen im Giftkanal vorhanden sind, die auf den  $\mu$ CT-Aufnahmen nicht dargestellt werden





**Abbildung 5.1.:** Schema der Bemaßungen des Giftzahnes und des Giftkanales.  $L_G$  = Länge des gesamten Giftzahnes von der Basis zur Spitze.  $L_A$  = maximale Länge der Austrittsöffnung.  $B_A$  = maximale Breite der Austrittsöffnung.  $L_K$  = Länge des Giftkanales von der Eintrittsöffnung bis zur Austrittsöffnung ( $\ddot{o}$  = Austrittsöffnung,  $ek$  = Eintrittsöffnung des Kanales).

konnten. Für die Aufnahmen der äußeren Zahnoberfläche bzw. der Austrittsöffnung des Giftzahnes wurden die Giftzähne zunächst wie in Abschnitt 5.2.1 gereinigt und getrocknet und anschließend ohne weitere Bearbeitung mit Leitkohle auf Probentellern befestigt. Für die Darstellung der inneren Oberfläche des Giftkanales musste der Giftzahn zunächst geöffnet werden: Der Zahn wurde in der gewünschten Position in eine feine Schraubzwinde eingespannt. Mit einem feinkörnigen Schleifpapier (P1000 nass/trocken, Wolcraft GmbH, Kempenich, Deutschland) wurde der Zahn vorsichtig in der Parasagittal-Ebene bis zur Hälfte seines Umfangs aufgeföhlt. Anschließend wurde der Zahn im Ultraschallbad von Spänen und Schleifstaub gereinigt. Der aufgeschliffene Zahn wurde mit Leitkohle auf einem Probenteller befestigt. Alle Proben wurden mit einer ca. 30 nm dicken Goldschicht beschichtet.

## 5.3. Eigenschaften des Giftes

### 5.3.1. Giftentnahme

Die Giftentnahme („Melken“) erfolgte an den lebenden Schlangen. Die Schlangen wurden zur Giftentnahme aus dem Terrarium genommen. Die Schlangen wurden unmittelbar hinter dem Kopf mit der Hand umgriffen um den Kopf zu fixieren. Die

Giftzähne wurden in ein mehrfach mit Parafilm überspanntes Glasgefäß gedrückt. Durch das Eindrücken der Giftzähne in den Parafilm wurde das Gift in das Glasgefäß abgegeben. Das gemolkene Gift wurde unverzüglich in Eppendorfggefäße (Eppendorf Ag, Hamburg, Deutschland) überführt, die Giftmenge wurde notiert und das Gift im Kühlschrank bei 10 °C bis zur Messung aufbewahrt.

### 5.3.2. Physikalische Grundlagen

Im Folgenden möchte ich die physikalischen Grundlagen der viskosimetrischen und tensiometrischen Messungen zusammenfassend darlegen. Die Erklärungen fassen den derzeitigen Stand des Wissens zusammen, wie er in einigen Standardwerken der Literatur beschrieben wird (siehe [Denny 1988](#); [Tipler 1994](#); [Mezger 2006](#); [Oertel 2008](#); [Böswirth 2011](#))

Die **Viskosität** ist gleichbedeutend mit Zähigkeit und resultiert aus Reibungskräften von Molekülen, die in einem fließenden Fluid gegeneinander verschoben werden. Der Fließwiderstand, der aus den Reibungskräften entsteht, kann als Viskosität bezeichnet werden und wird in der Einheit Pascalsekunde (Pas) angegeben (1 Pas entspricht  $1\text{ N} \cdot \text{s}/\text{m}^2$  bzw.  $1\text{ kg}/\text{s} \cdot \text{m}$ ). Je höher die Viskosität eines Fluides ist, desto höher ist seine Zähflüssigkeit. Die Viskosität ist folgendermaßen definiert (Gleichung 5.1):

$$\eta = \nu \cdot \rho \quad (5.1)$$

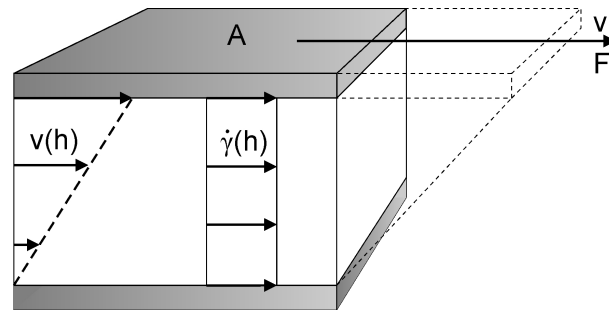
Hier ist  $\eta$  die dynamische Viskosität,  $\nu$  die kinematische Viskosität und  $\rho$  die Dichte.

Der Zusammenhang von Schubspannung Scherrate und Viskosität lässt sich anhand eines Plattenmodells veranschaulichen (5.2). Die Schubspannung  $\tau$  ist definiert als das Verhältnis von Scherkraft  $F$  zur gesicherten Fläche  $A$  (Gleichung 5.2):

$$\tau_N = \frac{F}{A} \quad (5.2)$$

Die Scherrate errechnet sich aus dem Verhältnis des Geschwindigkeitsunterschiedes  $dv$  zweier benachbarter Flüssigkeitsschichten und deren Abstand  $dh$ . Sie definiert sich folglich (Gleichung 5.3):

$$\dot{\gamma} = \frac{dv}{dh} \quad (5.3)$$



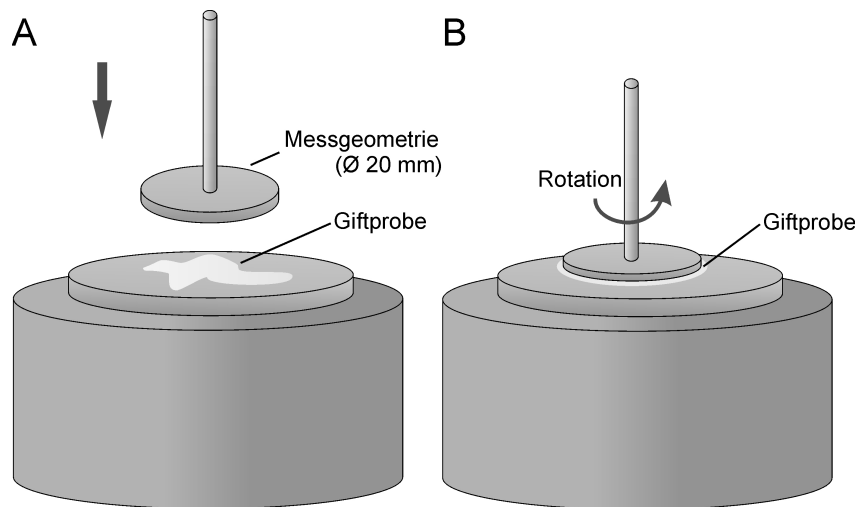
**Abbildung 5.2.:** Schematische Darstellung der Geschwindigkeitsverteilung und Scherrate im Spalt eines Zwei-Platten-Modells. Die obere Platte ist bewegt, die untere Platte ruht.  $A$  = Fläche der bewegten Platte,  $F$  = Kraft,  $v$  = Geschwindigkeit der bewegten Platte,  $v(h)$  = Geschwindigkeitsverteilung (linear),  $\dot{\gamma}(h)$  = Scherrate (konstant) (verändert nach [Mezger 2006](#)).

Man unterscheidet newtonsche (idealviskose) Flüssigkeiten und nicht-newtonsche Flüssigkeiten. Die Viskosität einer idealviskosen Flüssigkeit ist unabhängig von der Höhe der Scherrate. Dagegen ist die Viskosität einer nicht-newtonschen Flüssigkeit nicht proportional zur Scherrate. Sinkt die Viskosität einer nicht-newtonschen Flüssigkeit mit zunehmender Scherkraft, so nennt man dieses Verhalten scherverdünnend. Steigt die Viskosität mit zunehmender Scherkraft, so nennt man dies scherverdickend.

Die **Oberflächenspannung** ist ein Sonderfall einer Grenzflächenspannung. Grenzflächenspannung tritt an den Grenzflächen zweier verschiedener Phasen auf. Die Grenzflächenspannung wird meist als Kraft angegeben und besitzt die Einheit N/m. Tritt die Grenzflächenspannung an der Phasengrenze zwischen einer Flüssigkeit und einem Gas auf, so bezeichnet man diese Spannung als Oberflächenspannung. Die Oberflächenspannung bewirkt, dass Flüssigkeiten energetisch günstige Formen mit möglichst geringer Oberfläche bilden, beispielsweise eine Tropfenform. Je höher die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit, desto kugelähnlicher wird ein Tropfen dieser Flüssigkeit wenn er auf einer planaren Oberfläche liegt. Die Oberflächenspannung entsteht durch Kohäsionskräfte zwischen den Molekülen. Sie wird in der Einheit Newton pro Meter (N/m) angegeben.

### 5.3.3. Viskositätsmessung

Die Viskosität des Schlangengiftes wurden in einem Rotationsrheometer (Bohlin Gemini 2, Bohlin Ltd., USA) gemessen. Das Gerät erlaubt das Vermessen kleinster Volumina von Flüssigkeiten unter definierten äußeren Bedingungen. Die Viskosität der



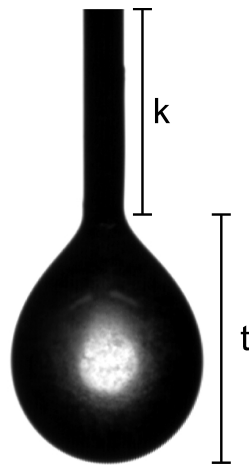
**Abbildung 5.3.:** Schematische Darstellung der Funktionsweise des Rotationsrheometers. **A.** Die Giftprobe wird auf den Probenteller gegeben. Die Messgeometrie (Unterseite meist konisch zulaufend), wird auf die Giftprobe abgesenkt, so dass sich das Gift in einem feinen Spalt zwischen Messgeometrie und Probenteller befindet. **B.** Die Messgeometrie beginnt sich zu drehen und die Messung startet. Nicht dargestellt ist die Lösungsmittelfalle, die den Spalt mit dem Gift nach außen hin verschließt.

Probe kann zudem bei verschiedenen Scherraten gemessen werden, was insbesondere zur Messung nicht-newtonscher Flüssigkeiten wichtig ist. Ca. 120-150  $\mu\text{l}$  Giftflüssigkeit wurden in die Mitte der (stationären) Platte des Peltierelements des Rotationsrheometers gegeben (siehe Abb. 5.3).

Die konische Messgeometrie (Durchmesser 20 mm) wurde auf die Giftprobe abgesenkt, so dass sich das Gift in dem schmalen Spalt zwischen konischer Messgeometrie und Peltierelement befand. Um die Messgeometrie wurde eine Lösungsmittelfalle aufgebaut, um ein Verdunsten des Wasseranteils der Giftflüssigkeit zu vermeiden. Die Messung wurde gestartet und die Viskosität des Giftes bei Schergeschwindigkeiten beginnend bei 1/s und endend bei 100/s gemessen. Die Temperatur wurde während der Messung auf konstant 20 °C eingestellt. Einige Giftproben wurden wiederholt gemessen, wobei eine 5-10 minütige Ruheperiode zwischen den Messungen eingehalten wurde.

#### 5.3.4. Tensiometrie

Zur Bestimmung der Oberflächenspannung der Giftflüssigkeit wurde ein Kontaktwinkelmessgerät (OCA 30, DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt, Deutschland), auch Tensiometer genannt, verwendet. Ca. 50-150  $\mu\text{l}$  gekühltes Schlangengift wurden in eine Spritze des Tensiometers aufgezogen. Das Gift wurde durch die Sprit-



**Abbildung 5.4.:** An der Kanüle (k) des Tensiometers hängt ein Tropfen Schlangengift (t). Anhand Größe und Form des Tropfens kann die Oberflächenspannung der Giftflüssigkeit errechnet werden.

ze über einen kurzen Schlauch in die Messkanüle gepumpt. Der Vorschub wurde so eingestellt, dass sich an der Spitze der Kanüle ca. 5 µl große hängende Tropfen des Giftes bildeten. Die Tropfenform wurde mit der dem Gerät eigenen Kamera aufgenommen (siehe Abb. 5.4). Anhand der Kontur des hängenden Tropfens konnte nun mit der geräteeigenen Software SCR-20 (DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt, Deutschland) die Oberflächenspannung der Giftflüssigkeit errechnet werden. Für jede Probe wurden mindestens zwanzig Tropfen vermessen.

### 5.3.5. Dichtemessung

Die Dichte eines Stoffes gibt das Verhältnis von Masse zu Volumen an (Gleichung 5.4).

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (5.4)$$

Hier ist  $\rho$  die Dichte,  $m$  die Masse und  $V$  das Volumen.

Die Bestimmung der Dichte der Giftflüssigkeit erfolgte über eine Gewichts- und Volumenbestimmung einzelner Giftproben. Zunächst wurde die Spitze einer Pipette auf einer Feinwaage gewogen (BP 110s, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland). Mit einer Pipette (Finnpipette 10-40 µl, Labsystems GmbH, Deutschland) wurde jeweils ein Volumen von 20 µl Giftflüssigkeit einer Probe in die Pipettenspitze aufgenommen.

Die Pipettenspitze wurde vorsichtig abgenommen und auf die Feinwaage gelegt. Die Differenz aus dem Gewicht der Pipettenspitze zuzüglich der Gifflüssigkeit und dem Gewicht der leeren Pipettenspitze ergibt folglich das Gewicht der 20 µl Gifflüssigkeit. Über die Gleichung 5.4 ließ sich nun die Dichte der Gifflüssigkeit berechnen. Um die Methode auf Genauigkeit zu testen wurde die Prozedur zunächst mit destilliertem Wasser einige Male durchgeführt und das Endergebnis (d.h. die Dichte) durch Abgleich mit Literaturwerten auf Korrektheit überprüft.

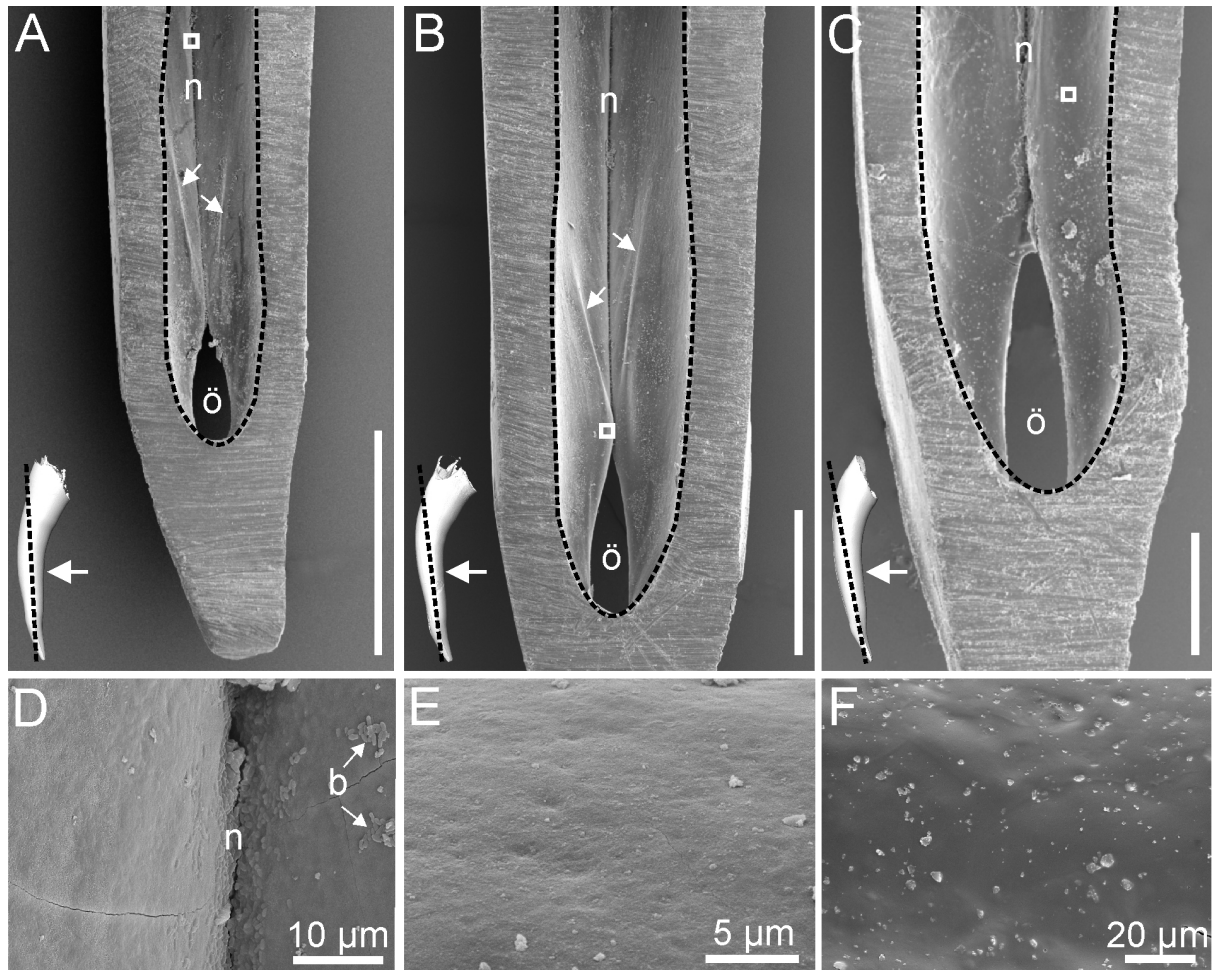
# Ergebnisse

---

## 6.1. Morphologie der Giftzähne und des Giftkanals der Speikobras

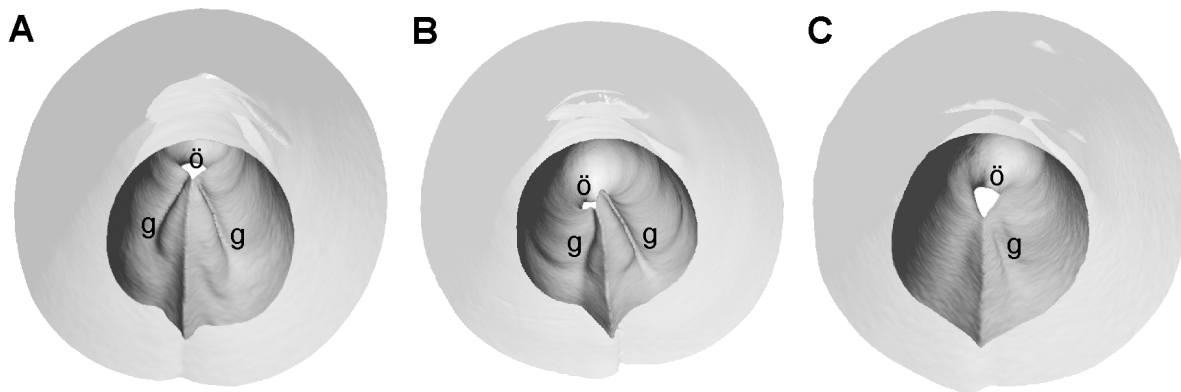
Die REM-Aufnahmen der Innenseiten des Giftkanals innerhalb der Giftzähne der nichtspeienden Kobra-Arten (*N. naja*, *N. kaouthia*) zeigten eine glatte Oberfläche ohne auffallende Strukturen oberhalb der Dimension von wenigen Nanometern. Die Oberfläche des Kanals war folglich vollkommen glatt. Die Oberfläche der Innenseite des Giftkanals der speienden Kobra-Arten (*N. nigricollis*, *N. pallida*, *N. siamensis*) zeigte dagegen gratartige Strukturen, die sich bis zu 80 µm erhoben und in die Öffnung des Giftkanals mündeten. Die weitere Oberfläche des Giftkanals zeigte keine weiteren auffallenden Mikrostrukturen.

Die µCT-Aufnahmen zeigten das Innere des Giftkanals in einer Auflösung von 6-8 µm Kantenlänge eines Voxels (=Volumenpixel). Detaillierte Darstellungen der Haupt-Grate innerhalb der Giftkanäle finden sich in Abbildung 6.2. Die dreidimensionalen Rekonstruktionen aller Giftzähne sowie deren Giftkanäle sind in den Abbildungen 6.3, 6.4 und 6.5 dargestellt. Die in den REM-Aufnahmen sichtbaren Grate innerhalb des Giftkanals der speienden Arten konnten in den µCT-Aufnahmen ausreichend detailliert dargestellt und vermessen werden. Die grundlegenden Maße der Giftzähne, Giftkanäle und Austrittsöffnungen sind in Tabelle 6.1 angegeben. *N. pallida* und *N. nigricollis* besaßen je zwei Grate auf jeder Seite der Naht, die den Giftkanal schließt (siehe 6.2 A und B). Die Grate von *N. pallida* waren symmetrisch und erhoben sich bis zu einer Höhe von 50 µm in das Innere des Kanals. Die Grate hatten eine Länge von etwa 1/5 der kompletten Länge des Kanals. Die zwei Grate von *N. nigricollis* waren asymmetrisch. Ein Grat erhob sich bis zu einer maximalen Höhen von 80 µm



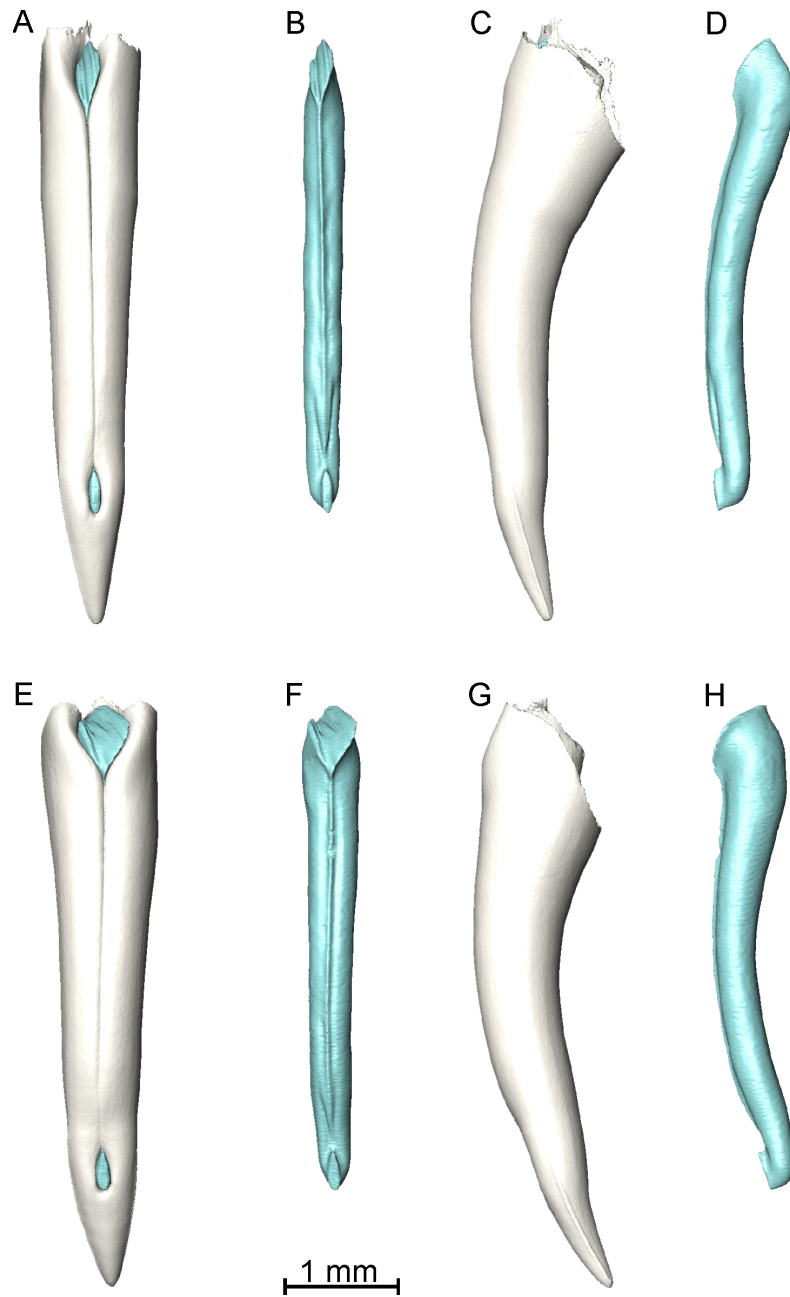
**Abbildung 6.1.:** REM-Aufnahmen von teilweise aufgeschliffenen Giftzähnen der Speikobras. Links unten ist durch eine gebrochene Linie die Schnittebenen durch den Zahn sowie die Blickrichtung angegeben. Das Quadrat gibt die Lage des vergrößerten Ausschnitts an. **A** und **D** zeigen einen Giftzahn von *N. pallida*. Der Kanal ist durch eine gebrochene Linie markiert. Die Pfeile markieren die beiden Grate. Bis zur Austrittsöffnung (ö) des Giftkanals verläuft die Narbe (n). Die Detailaufnahme (**D**) zeigt keine weiteren Strukturen auf der Oberfläche des Kanals. Einige kokkenförmige, zelluläre Strukturen sind auf einigen Stellen der Oberfläche sichtbar. **B** und **E**: Giftzahn von *N. nigricollis*. Die asymmetrischen Grate sind durch Pfeile markiert. Deutlich sichtbar ist wiederum die Narbe (n). Die Detailaufnahme (**E**) zeigt eine glatte Oberfläche. **C** und **F**: Giftzahn von *N. siamensis*: Die bei dieser Art gering ausgeprägten Grate sind in der REM-Aufnahme nicht eindeutig erkennbar, während die Narbe (n) deutlich sichtbar ist. Die Detailaufnahme (**F**) zeigt eine glatte Oberfläche, die jedoch stellenweise durch kleinere Partikel verunreinigt ist, welche die Reinigung überdauert haben. Länge der Maßstabsbalken: **A**: 800 µm; **B**: 300 µm; **C**: 200 µm.



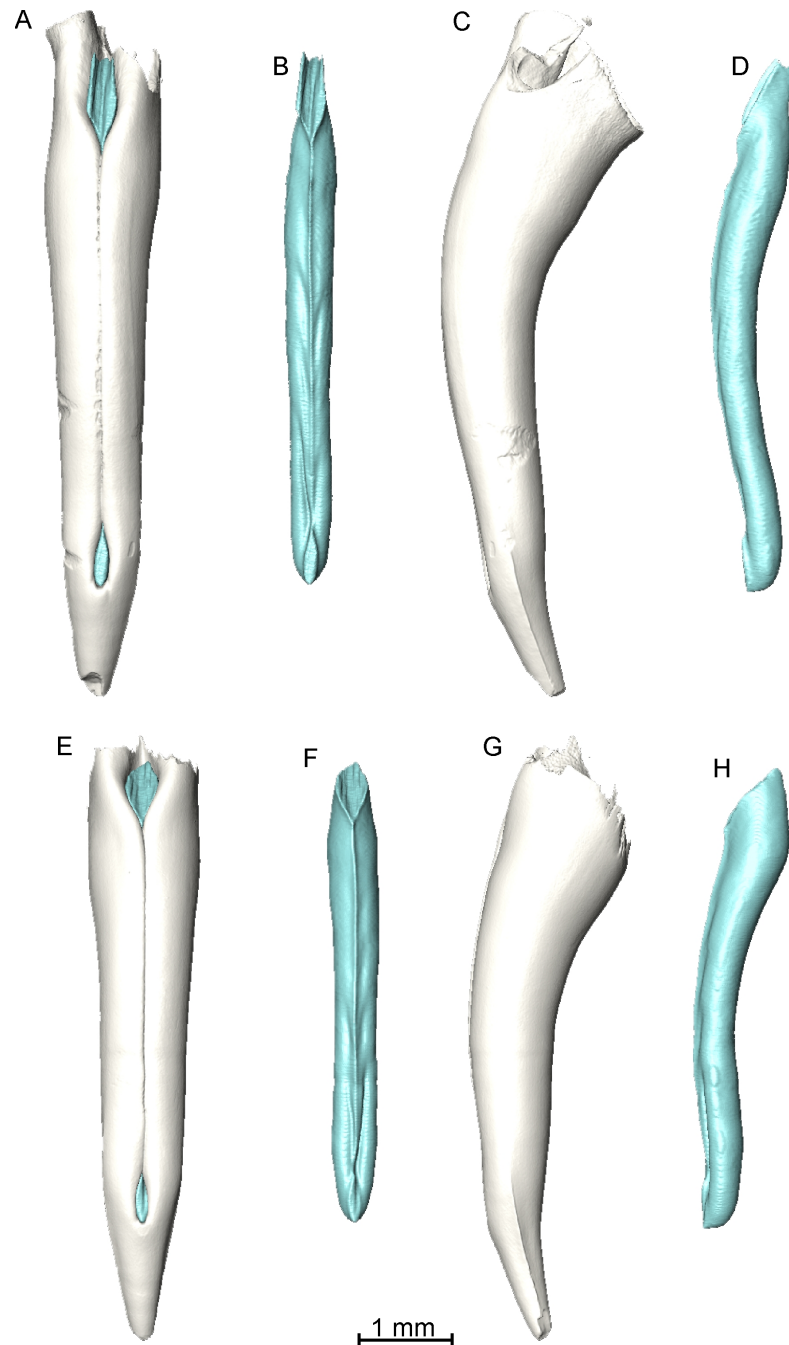


**Abbildung 6.2.:** 3d-Rekonstruktion des distalen Giftkanalabschnitts der Speikobraarten aus  $\mu$ CT-Aufnahmen. Die Blickrichtung ist hier von proximal nach distal in den Kanal hinein, die Austrittsöffnung des Giftkanals weist nach unten. **A.** Im Giftkanal von *N. pallida* verlaufen zwei annähernd symmetrische Grate (g) beginnend im letzten Fünftel des Kanals und endend in der Austrittsöffnung (ö). **B.** Im Giftkanal von *N. nigricollis* verlaufen ein flacher Grat und ein erhabener Grat (g) auf dem letzten Viertel des Giftkanals, endend in der Austrittsöffnung (ö). **C.** Die Grate (g) im Giftkanal von *N. siamensis* sind schwach ausgeprägt. In diesem Fall ist nur ein Grat deutlich differenzierbar, welcher vor der Austrittsöffnung (ö) endet.

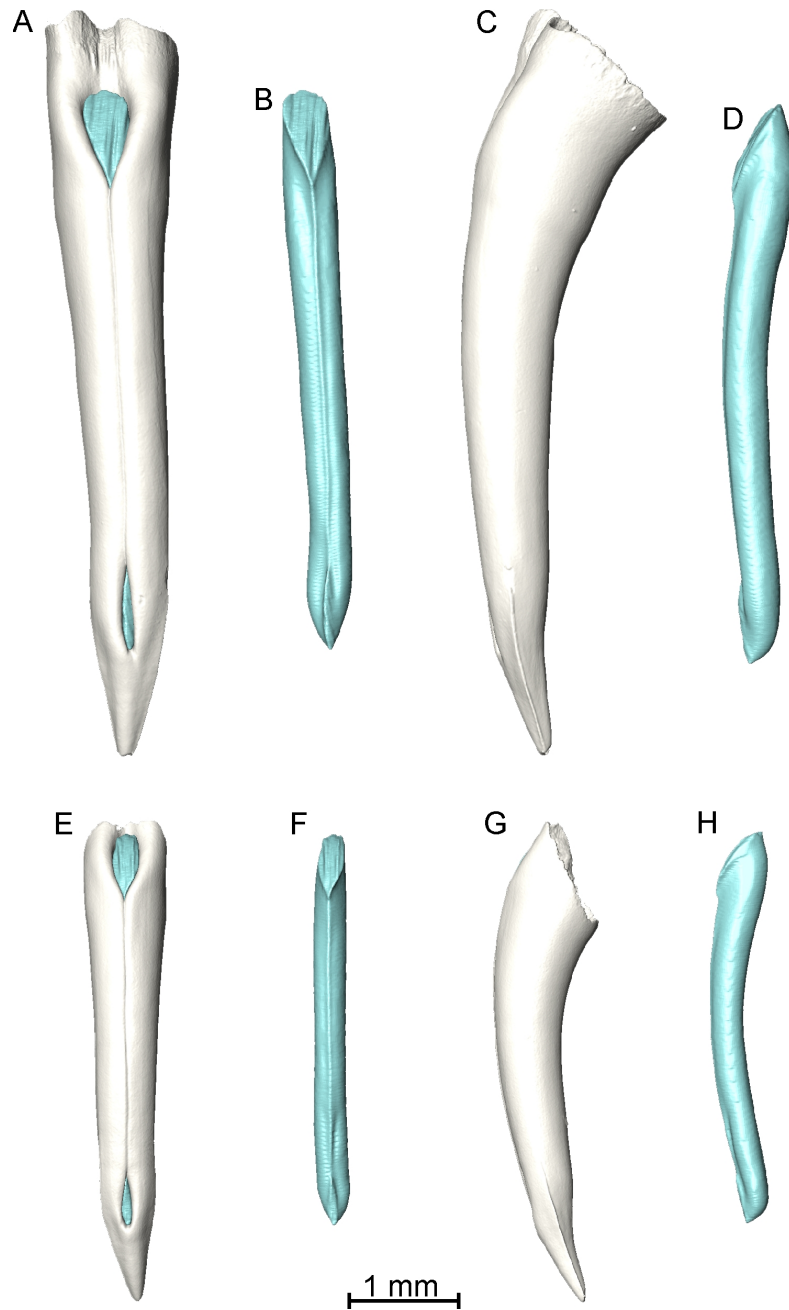
in den Kanal, während der andere Grat eine maximale Höhe von 35  $\mu$ m erreichte. Die Grate erreichten eine Länge von etwa  $1/4$  der Gesamtlänge des Kanals. Im Giftkanal von *N. pallida* und *N. nigricollis* waren oberhalb (proximal) diesen deutlich sichtbaren Graten zum Teil noch die Konturen weitere Grate sichtbar, die sukzessive in etwa 2-3 Wiederholungen oberhalb der deutlich ausgeprägten Grate auftraten und die gleiche Orientierung wie diese besaßen (Abb. 6.3 B und 6.3 B und F). *N. siamensis* besaß nur einen einzigen Grat auf einer Seite der Naht des Giftkanals (siehe 6.2 C). Die maximale Höhe des Grates betrug 28  $\mu$ m. Der Grat bedeckte etwa  $1/4$ - $1/5$  der Gesamtlänge des Kanals. Die Grate endeten distal in der Ausgangsöffnung des Giftkanals.



**Abbildung 6.3.:** 3d-Rekonstruktionen des Giftzahns und des Giftkanals zweier *N. pallida*-Individuen (A-D und E-H) aus  $\mu$ CT-Aufnahmen. Der Giftkanal ist als Negativ dargestellt (Cyan). A, B, E, F sind Frontalansichten, C, D, G, H sind seitliche Ansichten.



**Abbildung 6.4.:** 3d-Rekonstruktionen des Giftzahns und des Giftkanals zweier *N. nigricollis*-Individuen (A-D und E-H) aus  $\mu$ CT-Aufnahmen. Der Giftkanal ist als Negativ dargestellt (Cyan). A, B, E, F sind Frontalansichten, C, D, G, H sind seitliche Ansichten.



**Abbildung 6.5.:** 3d-Rekonstruktionen des Giftzahns und des Giftkanals zweier *N. siamensis*-Individuen (A-D und E-H) aus  $\mu$ CT-Aufnahmen. Der Giftkanal ist als Negativ dargestellt (Cyan). A, B, E, F sind Frontalansichten, C, D, G, H sind seitliche Ansichten.

## 6.1. Morphologie der Giftzähne und des Giftkanals der Speikobras

**Tabelle 6.1.:** Maße der Giftzähne und der Giftkanäle.  $L_G$  = Länge des gesamten Giftzahns von der Basis zur Spitze.  $L_A$  = maximale Länge der Austrittsöffnung.  $B_A$  = maximale Breite der Austrittsöffnung.  $L_K$  = Länge des Giftkanals von der Eintrittsöffnung bis zur Austrittsöffnung.  $V_K$  = Volumen des Giftkanals.  $F_A$  = Fläche der Austrittsöffnung. Alle Längen sind in mm, Flächen in  $\text{mm}^2$  und Volumina in  $\text{mm}^3$  angegeben. Die Verhältnisse  $V_K/F_A$  und  $L_K/V_K$  sind ohne Einheit angegeben.

	$L_G$	$L_A$	$B_A$	$L_K$	$V_K$	$F_A$	$V_K/F_A$	$L_K/V_K$
<i>N. pallida</i> Tier 1	5,024	0,432	0,143	3,766	0,705	0,036	19,58	5,34
<i>N. pallida</i> Tier 2	5,168	0,623	0,133	3,788	0,499	0,035	14,26	7,59
<i>N. nigricollis</i> Tier 1	5,668	0,831	0,176	4,412	0,82	0,067	12,29	5,38
<i>N. nigricollis</i> Tier 2	6,091	0,621	0,144	4,639	1,085	0,046	23,59	4,27
<i>N. siamensis</i> Tier 1	3,81	0,514	0,096	3,038	0,266	0,027	9,85	11,42
<i>N. siamensis</i> Tier 2	5,479	0,908	0,132	4,426	0,817	0,055	14,85	5,42

## 6.2. Chemisch-physikalische Eigenschaften der Giftflüssigkeit der Kobras

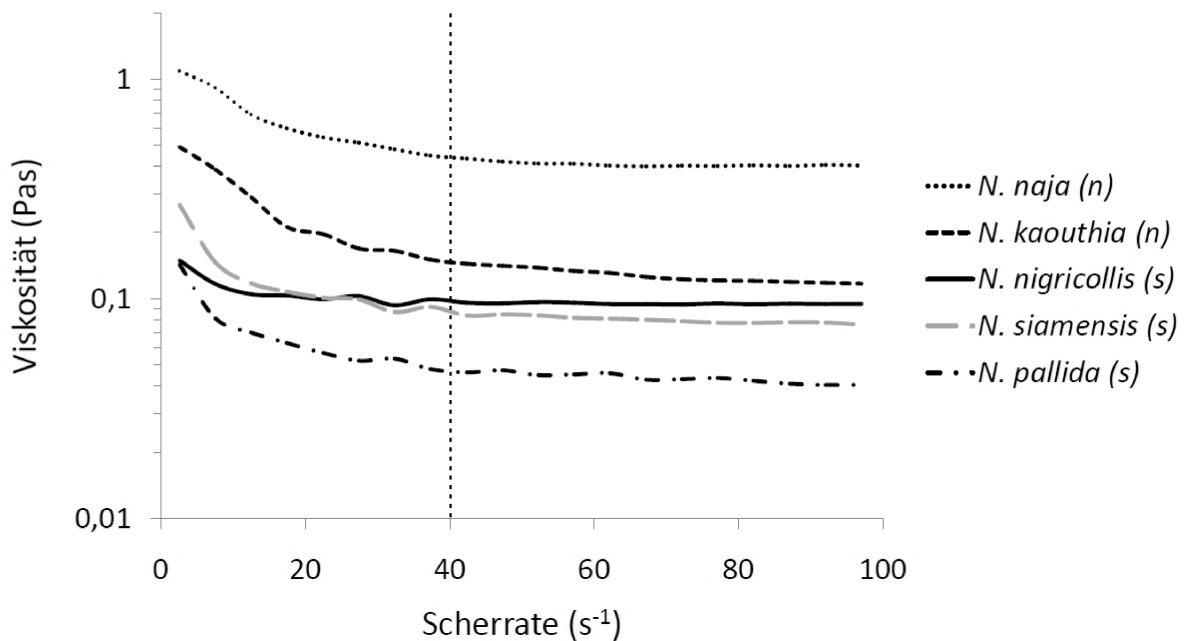
### 6.2.1. Viskosität der Giftflüssigkeit

Die Viskosität der Giftflüssigkeit aller Arten wurde durch Scherkräfte deutlich reduziert (Abb. 6.6). Bei niedrigen Scherraten war die Viskosität stets relativ hoch mit Werten zwischen 0,1 und 1,1 Pas. Bei Scherraten zwischen  $5 \text{ s}^{-1}$  und  $15 \text{ s}^{-1}$  verringerte sich die Viskosität jeweils um 50-60 %. Bei höheren Scherraten verringerte sich die Viskosität nur noch langsam und blieb bei Scherraten über  $40 \text{ s}^{-1}$  schließlich nahezu konstant.

Die Daten zur Viskosität der Giftflüssigkeit zeigten einen klaren Trend: Die Viskosität der Giftflüssigkeit von Speikobras war insgesamt niedriger als die Viskosität der Giftflüssigkeit der nicht-speienden Kobraarten. Die statistischen Tests wurden ausschließlich im Scherratenbereich der weitgehend konstanten Viskosität (Scherratenbereich über  $40 \text{ s}^{-1}$ ) durchgeführt, da dies der physiologisch wichtige Bereich während des Speivorgangs ist (siehe Diskussion, Kapitel 7). Die Viskosität der Giftflüssigkeit unterschied sich signifikant zwischen den Kobra-Arten (Kruskal-Wallis one way analysis nach Rängen,  $p < 0,001$ ). Ein pairwise multiple comparison test (Tukey-test,  $p < 0,05$ ) zeigte, dass die Viskosität bei *N. naja* signifikant höher war als die Viskosität aller anderen Arten, während die Viskosität des *N. pallida* Giftes signifikant niedriger war als die Viskosität des Giftes aller nicht-speienden Kobra-Arten. Die Giftflüssigkeiten der nicht-speienden Arten unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Unter den Speikobras unterschieden sich nur die Giftflüssigkeiten von *N. nigricollis* und *N. pallida* signifikant voneinander.

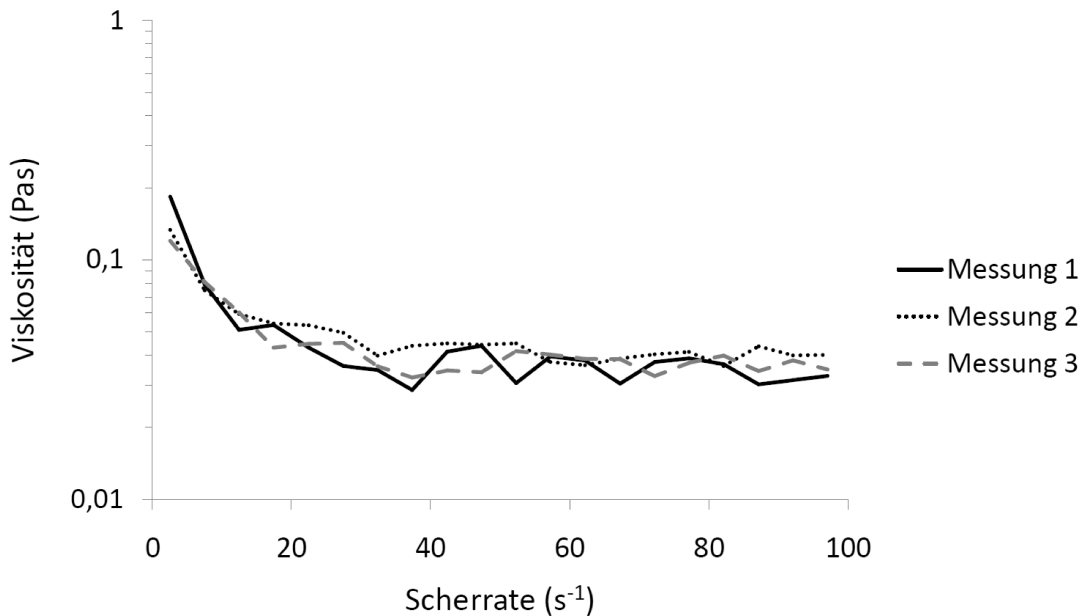
Die Verminderung der Viskosität, die bei Erhöhung der Scherrate sichtbar war, verlief nicht konstant und gleichmäßig bei allen Arten, sondern zeigte große Unterschiede im Verlauf. In drei Arten (*N. nigricollis*, *N. siamensis* und *N. kaouthia*) waren zwei kleine aber dennoch deutlich Peaks in der Viskositätskurve sichtbar. Die Peaks erschienen bei Scherraten von  $28 \text{ s}^{-1}$  und  $37 \text{ s}^{-1}$ . Diese Peaks konnten nur bei diesen zwei Arten festgestellt werden, sie erschienen nicht in der Viskositätskurve der anderen Arten.

Das scherverdünnende Verhalten der Giftflüssigkeit zeigte sich auch bei aufeinanderfolgenden Messungen einer einzelnen Probe (ohne dass die Probe zwischen den



**Abbildung 6.6.:** Die durchschnittliche Viskosität der Giftflüssigkeit von speienden (s) und nicht-speienden (n) Kobra-Arten ist in diesem Diagramm als logarithmische Funktion der Scherrate ( $s^{-1}$ ) aufgetragen. Bei allen gemessenen Arten verringerte sich die Viskosität des Giftes mit zunehmender Scherrate. Die Verringerung war nicht immer konstant, sondern zeigte bei *N. nigricollis* und *N. siamensis* charakteristische Peaks auf. Ab Scherraten von  $20 s^{-1}$  bis  $40 s^{-1}$  bis hin zu der Scherrate von  $100 s^{-1}$  (Ende der Messung) blieben die Viskositäten nahezu konstant. Der Übergang ist durch eine senkrechte durchbrochene Linie gekennzeichnet.

Messungen aus der Probenkammer entfernt wurde). Das Zeitintervall zwischen den wiederholten Messungen betrug fünf Minuten. In Abb. 6.7 sind drei aufeinanderfolgende Messungen einer Probe der Giftflüssigkeit von einer *N. pallida* dargestellt. Der Anfangswert verringerte sich im Laufe der Messungen nur geringfügig.



**Abbildung 6.7.:** Viskositäten einer einzelnen Probe von *N. pallida* in drei aufeinander folgenden Messungen mit jeweils fünf Minuten Ruhephase zwischen den Messungen. Die hohe Anfangsviskosität ist bei allen Messungen feststellbar, bei Messung 2 und 3 ist der Anfangswert nur geringfügig niedriger.

### 6.2.2. Giftmenge

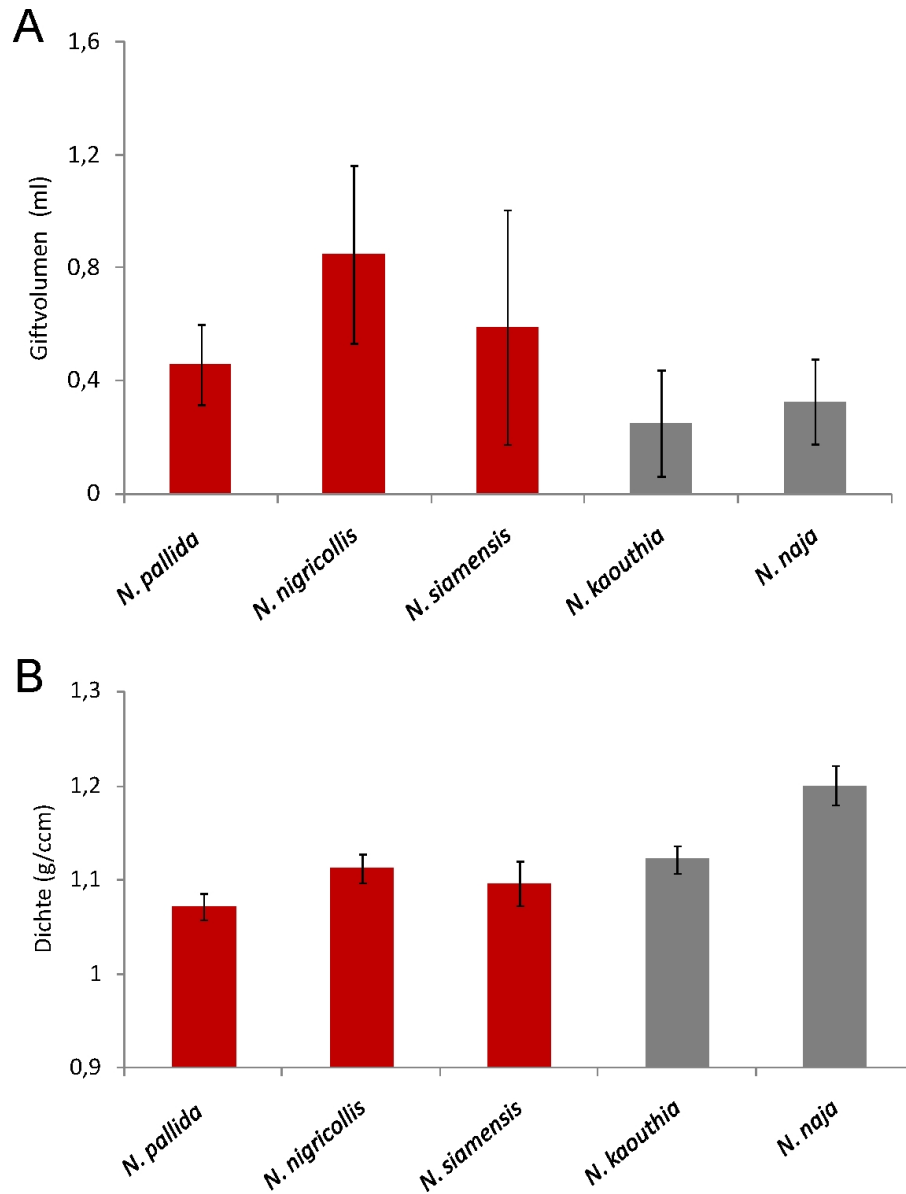
Die Giftmenge bezeichnet hier das Volumen der Giftflüssigkeit, welches bei einem einzigen Melkvorgang von einem Individuum einer Kobraart erzielt wurde. Für diesen Vergleich wurden nur die Proben von adulten Kobras von vergleichbarer Körpergröße verglichen. Die Proben einiger deutlich kleinerer *N. pallida*- und *N. nigricollis*-Individuen wurden für diesen Vergleich nicht verwendet.

Die Volumina der Giftflüssigkeiten eines Melkvorganges unterschieden sich signifikant zwischen den Arten (one way ANOVA,  $p < 0,005$ , Abb. 6.9 A). Die Speikobraarten erzielten signifikant höhere Volumina als die beiden nicht-speienden Arten (t-test,  $P < 0,003$ ). Jede Speikobraart erzielte im Durchschnitt höhere Volumina als die anderen Kobraarten. Auffallend sind besonders die hohen Volumina bei der Art *N. nigricollis*, während *N. kaouthia* deutlich die niedrigsten Volumina erzielte.

### 6.2.3. Dichte der Giftflüssigkeit

Die Giftflüssigkeiten der Speikobras besaßen niedrigere Dichten als die Giftflüssigkeiten der nicht-speienden Kobras (siehe 6.8 A). Die durchschnittlichen Dichten unterschieden sich zum Teil signifikant zwischen den Arten (Kruskal-Wallis one way





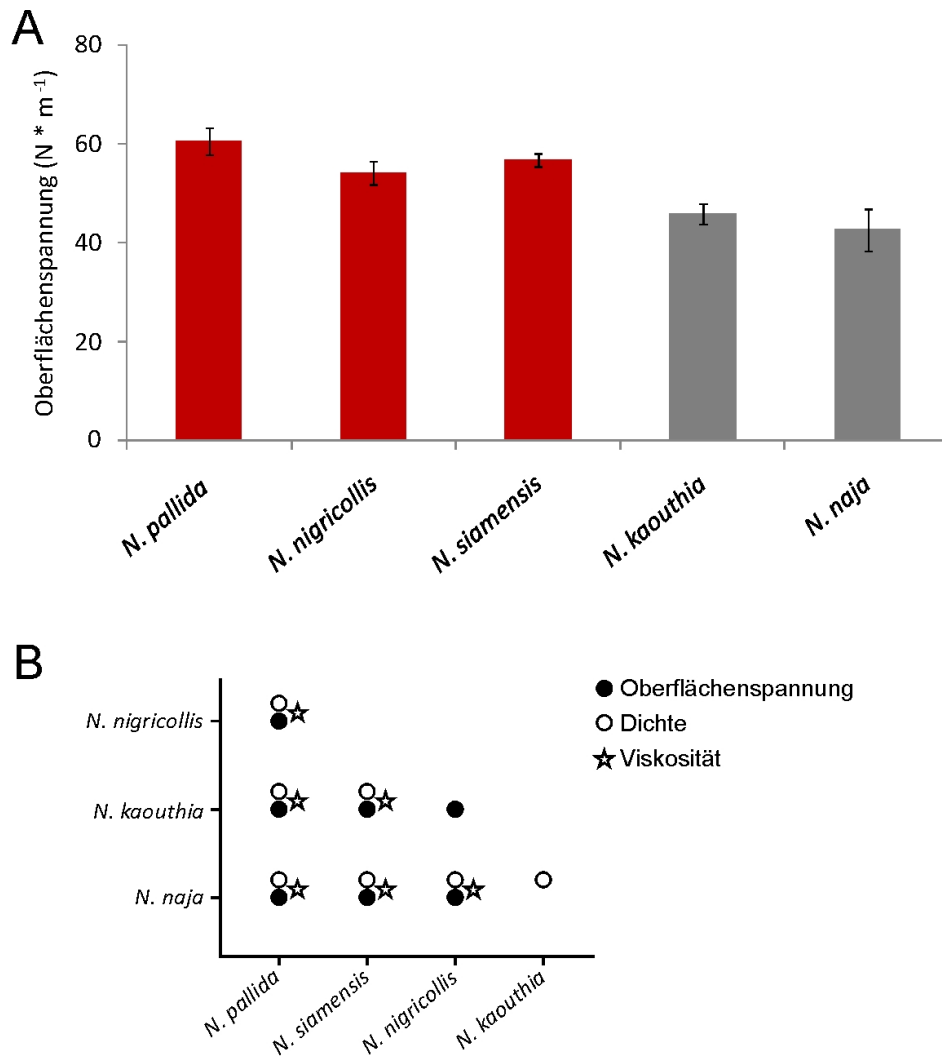
**Abbildung 6.8.:** **A.** Durchschnittliche Volumina der Giftflüssigkeit, die bei einzelnen Melkvorgängen erzielt wurden. Speikobras (rot) erzielten jeweils höhere durchschnittliche Volumina als die nicht-speienden Kobra Arten (grau). Die Fehlerbalken geben die Standardabweichungen an. **B.** Durchschnittliche Dichten der Giftflüssigkeit von speienden (rot) und nicht-speienden Kobra-Arten (grau). Die Dichten bei den speienden Arten sind niedriger als die Dichten bei den nicht-speienden Arten.

ANOVA,  $p < 0,001$ ). *N. naja* besaß die Giftflüssigkeit mit der signifikant höchsten Dichte aller Arten (Dunn's method,  $p < 0,05$ ). *N. kaouthia* hatte eine signifikant dichtere Giftflüssigkeit als die speienden Arten, ausgenommen *N. nigricollis* (Dunn's method,  $p < 0,005$ ). Unter den speienden Arten unterschieden sich lediglich *N. pallida* und *N. nigricollis* signifikant (Dunn's method,  $p < 0,05$ ).

### 6.2.4. Oberflächenspannung der Giftflüssigkeit

Die Oberflächenspannung der Giftflüssigkeit war bei allen Arten niedriger als von reinem Wasser (d.h. destilliertem Wasser), welche bei  $72,75 \text{ N}\cdot\text{m}^{-3}$  liegt und im Diagramm durch eine Linie dargestellt ist (siehe 6.9 A). Die Oberflächenspannungen unterschieden sich signifikant (Kruskal-Wallis one way ANOVA,  $P < 0,001$ ). Die speienden Kobra-Arten hatten stets Giftflüssigkeiten mit höherer Oberflächenspannung als die nicht-speienden Kobra-Arten (Tukey test,  $P < 0,05$ ). Zwischen den zwei nicht-speienden Kobra-Arten konnten keine signifikanten Unterschiede gemessen werden.

Die signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen der rheometrischen, densiometrischen und tensiometrischen Messungen wurden zusätzlich in einen Multiplen-Vergleichs-Grafen eingefügt, um die graduellen Unterschiede zwischen der Giftflüssigkeit von speienden und nicht-speienden Kobra-Arten sichtbar zu machen (siehe 6.9 B).



**Abbildung 6.9.:** A. Dargestellt sind die Oberflächenspannungen der Giftflüssigkeit von speienden (rot) und nicht-speienden (grau) Kobra-Arten. Zum Vergleich sind die Oberflächenspannungen von destilliertem Wasser und Ethanol zusätzlich angegeben. Die beiden niedrigsten Oberflächenspannungen wurde für die nicht-speienden Arten gemessen. B. Vergleich der Eigenschaften der Giftflüssigkeiten. Signifikante Unterschiede in der Oberflächenspannung, der Dichte sowie der Viskosität sind jeweils mit Symbolen angezeigt. Somit werden die graduellen Unterschiede zwischen der Giftflüssigkeit der speienden und nicht-speienden Arten deutlich.



# Diskussion

---

## 7.1. Eigenschaften des Schlangengiftes

Die grundlegenden physikalisch-chemischen Eigenschaften wie Viskosität, Oberflächenspannung und Dichte von Kobragiften wurden in dieser Arbeit zum ersten Mal umfassend bestimmt und verglichen. Hierfür wurde das Toxin (beispielsweise die Proteine, d.h. der wirksame Bestandteil) nicht isoliert untersucht, sondern die Giftflüssigkeit als wässrige Lösung von Proteinen, Polypeptiden, Kohlenhydraten, Lipiden und weiteren Stoffen (Lee, 1979, 1972) untersucht.

Die interessanteste Eigenschaft der untersuchten Giftflüssigkeit der Kobras ist ihr scherverdünnendes Verhalten. Scherverdünnend bedeutet, dass sich die Viskosität der Giftflüssigkeit verringert, wenn die Scherkraft auf die Flüssigkeit erhöht wird. Scherverdünnendes Verhalten zeigten sowohl die Giftflüssigkeiten der speienden Kobraarten als auch der nicht-speienden Kobraarten. Folglich ist es unwahrscheinlich, dass dieses Verhalten der Flüssigkeit als eine Anpassung an das Giftspeien entstanden ist. In einer kürzlich erschienenen Studie von Young u. a. (2011) wurde ebenfalls ein scherverdünnendes Verhalten für eine Mischprobe aus Schlangengift (*Naja pallida* und *Crotalus atrox*) festgestellt. Vermutlich zeigen auch die Giftflüssigkeiten anderer Schlangenarten ein ähnliches Verhalten, da die grundlegende Zusammensetzung der Giftflüssigkeiten aus (langkettigen) Makromolekülen in wässriger Lösung recht ähnlich ist. Young u. a. (2011) schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, dass das scherverdünnende Verhalten des Giftes wichtig für Schlangen mit offen-gefurchten Zähnen sein könnte, da dadurch bei einem Biss in die Beute das Herabfließen des Giftes in der offenen Furche des Zahns erleichtert werden könnte. In der Studie wurde jedoch kein umfassender Vergleich der Giftflüssigkeiten verschiedener Schlangenarten beziehungsweise Kobraarten durchgeführt.



**Abbildung 7.1:** A. Drei Makromoleküle, beispielsweise Proteine, befinden sich im Ruhezustand in kompakter Form, mit verknäuelten und ineinander verhakten Kettenbereichen. Aufgrund der Verklumpung ist die Zähflüssigkeit hoch. B. Unter Scherbelastung können die Moleküle eine gestreckte, orientierte Form mit weniger verschlauferten Kettenbereichen annehmen. Die Zähflüssigkeit ist aufgrund der Formation der Moleküle verringert (verändert nach [Mezger \(2006\)](#)).

Wodurch kann die scherverdünnende Eigenschaft des Giftes zustande kommen? Eine Verringerung der Viskosität bei Erhöhung der Scherspannung entsteht in den meisten bekannten Fällen durch große gefaltete oder ungefaltete langkettige Polymere (oft Proteine) in der Flüssigkeit ([Kontopoulou, 2012](#); [Mezger, 2006](#); [Elliott, 1978](#)). In der ruhenden Flüssigkeit sind solche Moleküle oft „verklumpt“ oder ineinander mehr oder weniger verzahnt (7.1 A). Wenn die Scherspannung erhöht wird, beispielsweise wenn die Flüssigkeit unter Druck durch eine enge Rohrleitung gepumpt wird, so werden die Moleküle verformt und lösen sich voneinander (7.1 B). Als Folge verringert sich die Zähflüssigkeit. Der Effekt ist zudem reversibel: Nach einer Ruhezeit nehmen die Moleküle ihre ursprüngliche Form und Verteilung wieder an ([Mezger, 2006](#)).

Auch das scherverdünnende Verhalten des Kobragiftes ließe sich problemlos mit dieser Theorie erklären: Das in der Giftflüssigkeit gelöste Toxin besteht zu einem großen Teil aus Proteinen beziehungsweise Polypeptiden ([Lee, 1979, 1972](#)): Diese Moleküle können im ruhenden Zustand verklumpt sein und sich unter Scherspannung verformen und so die Viskosität verringern. Auch bei dem Kobragift ist der Effekt reversibel, wie wiederholte Messungen einer Probe mit dazwischenliegender Ruhephase gezeigt haben .

Wenngleich dieser Effekt wie zuvor erwähnt keine Anpassung an das Speiverhalten ist, so könnte er doch äußerst nützlich für Kobras oder Schlangen mit offengefurchten Giftzähnen im Allgemeinen sein: Das Gift in der Giftdrüse und den Giftzähnen ist zunächst sehr zähflüssig. Ohne Druck durch die Muskulatur der Giftblase würde es nur langsam fließen. Dies könnte zusätzlich verhindern, dass das Gift un-

beabsichtigt den Giftzahn verlässt. Wird es dagegen in eine Beute injiziert oder auf einen Angreifer gespritzt, so wird es durch erhöhten Druck in der Giftblase durch den Giftkanal gepumpt. Die Scherrate nimmt stark zu, die Zähflüssigkeit verringert sich und das Gift kann leicht den Giftzahn verlassen.

Welche Scherraten erfährt nun die Giftflüssigkeit bei einem Speivorgang im Giftkanal des Giftzahns?

Den Literaturangaben ist zu entnehmen, dass ein einzelner Speivorgang von *N. pallida* mindestens 2 % des gesamten Inhaltes der Giftblase enthält (Cascardi u. a. 1999; Young u. a. 2004; Rasmussen u. a. 1995, siehe auch nachfolgende Diskussion). Das maximale Volumen für einen einzelnen Speivorgang entspräche dem gesamten Volumen der Giftblase. Bei einem Melkvorgang von *N. pallida* konnten im Durchschnitt 0,5 ml Giftflüssigkeit pro Tier erzielt werden. Annäherungsweise kann man diese Menge als das maximale Giftvolumen innerhalb der Giftblase annehmen. Es ist aber unwahrscheinlich, dass eine Speikobra das gesamte Volumen der Giftblase bei einem Speivorgang abgibt. Daher wird im Folgenden von einem maximalen Volumen von 0,1 ml Giftflüssigkeit für einen Speivorgang ausgegangen. Ein einzelner Speivorgang kann folglich ein Volumen von mindestens 0,01 ml bis maximal 0,1 ml enthalten. Dieses Volumen wird in einer Zeit von 40-70 ms durch den Zahn gepumpt (dies entspricht der Dauer eines einzelnen Speivorgangs, Young u. a. 2008, 2004). Die maximalen Scherratenwerte lassen sich für einen Speivorgang nun näherungsweise berechnen. Die Scherrate (für den Wandbereich) lässt sich mit folgender Gleichung nach Hagen-Poiseuille beschreiben (Gleichung 7.1, nach Mezger 2006):

$$\dot{\gamma} = \frac{(4 \cdot \dot{V})}{(\pi \cdot R^3)} \quad (7.1)$$

Für den vorliegenden Fall ist  $\dot{V}$  die Menge an Giftflüssigkeit, die während eines Speivorgangs der Länge  $t$  durch den Giftkanal beziehungsweise die Austrittsöffnung des Giftkanals gepumpt wird.  $\dot{V}$  errechnet sich folglich aus  $V \setminus t$ .  $R$  ist der mittlere Radius der Austrittsöffnung beziehungsweise des Giftkanals und lässt sich aus der Querschnittsfläche errechnen. Die Querschnittsfläche der Austrittsöffnung des Giftzahns von *N. pallida* beträgt ca. 0,035 mm<sup>2</sup>. Geht man von einer Strahldauer von 40 ms aus, so errechnen sich sehr hohe Scherraten im Wandbereich der Austrittsöffnung von  $2,7 \cdot 10^5 \text{ s}^{-1}$  für den minimalen Volumenwert bis  $2,7 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$  für den maximalen Volumenwert. In diesen Scherratenbereichen hat die scherverdünnende Eigenschaft des Schlangengiftes keine verändernde Wirkung mehr auf die Viskosität

der Giftflüssigkeit, da diese schon ab einem Scherratenbereich von ca.  $40 \text{ s}^{-1}$  konstant bleibt.

Simulationen mit den in dieser Arbeit ermittelten Daten für die Giftflüssigkeit und den Daten für die Größe des Giftkanals konnten zeigen, dass die scherverdünnende Eigenschaft der Giftflüssigkeit nur marginale Auswirkung auf den Durchfluss im Giftkanal hatte und deshalb die scherverdünnende Eigenschaft bei der Betrachtung der Strömung innerhalb des Giftkanals keine Rolle spielt (Triep u. a., 2013).

Die Giftflüssigkeit aller drei Speikobraarten besaß eine signifikant geringere Viskosität als die Giftflüssigkeit der nicht-speienden Kobraarten. *N. pallida* hatte von allen untersuchten Arten die Flüssigkeit mit der geringsten Viskosität. Möglicherweise besitzen Speikobras ein verdünntes Gift, d.h. die Konzentration von Toxin (Protein u.a. Stoffe) in der Flüssigkeit wäre niedriger als es bei den anderen Kobraarten der Fall ist. Aus evolutionsbiologischer Sicht würde dies Sinn machen: Der Anabolismus der Toxine könnte einen nicht unerheblichen Energieverbrauch verursachen (z.B. nach McCue u. Mason 2006; Nisani u. a. 2007). Die Neuproduktion von Toxin bedarf zumindest einer gewissen Zeitspanne bis die Giftvorräte wieder aufgefüllt sind. Kobras sollten daher ökonomisch mit ihren Giftreserven umgehen, um die Stoffwechselkosten niedrig zu halten und stets ausreichend Giftvorrat für Beutefang oder Verteidigung zu besitzen. In Anbetracht dessen erscheint das Verspritzen von Gift keine sinnvolle Strategie zu sein. Beim Giftmelken konnten von den Speikobras im Durchschnitt größere Volumina an Giftflüssigkeit erzielt werden als von den nicht-speienden Arten. Möglicherweise kompensieren Speikobras die höheren Kosten des Giftspeiens durch eine Verdünnung der Giftflüssigkeit, indem der Wasseranteil erhöht wird. So steht mehr Giftflüssigkeit zum Spritzen zur Verfügung ohne dass mehr Toxin produziert werden muss. Die geringere Konzentration könnte für die Verteidigung durch Giftspeiens ausreichend sein. Allerdings weist eine neuere Studie darauf hin, dass die Gesamtkosten der Toxinproduktion im Vergleich zu den Kosten von Verdauung und Häutung relativ niedrig sein müssen (Pintor u. a., 2010).

Sollte das Speikobragift tatsächlich einen geringeren Anteil an Toxin enthalten, so würde dies auch die Giftwirkung der Giftflüssigkeit bei der Injektion in die Beute verringern. Speikobras könnten dies durch Abgabe größerer Flüssigkeitsvolumina beim Beutefang kompensieren (Spawls u. Branch, 1995; Hayes u. a., 2008). Eine einfachere Erklärung für die geringere Viskosität des Speikobragiftes wäre, dass dünnflüssigeres Gift leichter gespritzt werden kann als zähflüssiges Gift.

Die Annahme der Verdünnung der Giftflüssigkeit wird gestützt durch die Ergeb-



nisse der Messungen der Oberflächenspannung und Dichte. Die Proben der nicht-speienden Kobras hatten geringere Oberflächenspannungen als die Proben der speienden Arten. Die Oberflächenspannung einer wässrigen Lösung nimmt mit zunehmendem Wasseranteil zu (Maximum bei 100 % Wassergehalt). Je mehr gelöste Bestandteile in der Giftflüssigkeit desto niedriger die Oberflächenspannung. *N. pallida* hatte die höchste Oberflächenspannung aller untersuchten Arten. Analog verhält sich die Dichte der Flüssigkeit: Je höher der Anteil der gelösten Substanzen, desto höher die Dichte der wässrigen Lösung. Die Dichte der Giftflüssigkeiten der Speikobras war niedriger als die der nicht-speienden Kobras. *N. pallida* besaß die Giftflüssigkeit mit der geringsten Dichte.

Um die Verdünnungstheorie weiter zu überprüfen, könnte eine Messung des Trockengewichtes von definierten Giftmengen nützlich sein. Für die in dieser Arbeit nach den vorherigen Messungen keine ausreichende Menge an Giftflüssigkeit mehr zur Verfügung.

Für diese Arbeit wurde ausschließlich Giftflüssigkeit untersucht, die aus Melkvorgängen gewonnen wurde. Bei Speivorgängen gespritztes Gift wurde nicht untersucht, da hierbei für genaue Messungen zu geringe Mengen aufgefangen werden können. Es ist jedoch gar nicht nötig, auf gespritztes Gift zurückzugreifen. Vorangegangene Studien konnten bereits zeigen, dass gespritztes Gift und beim Beutefang injiziertes Gift identisch sind (siehe [Branch 1997](#); [Taub 1966](#), diskutiert in [Young u. a. 2004](#)). Das System aus Giftkanal und Giftdrüse weist keinerlei Verbindung zu den supralabialen Drüsen auf, die den Speichel produzieren. [Cascardi u. a. \(1999\)](#) konnte lediglich zeigen, dass nach wiederholten Speiereignissen ein einzelnes Protein nicht mehr im gespeiten Gift vorkommt. Es ist davon auszugehen, dass dieses Protein nicht bewusst zurückgehalten wird, sondern vielmehr ab einer bestimmten Anzahl an Speivorgängen aufgebraucht war. Nicht hervor ging aus der Studie die Eigenschaft dieses Proteins, d.h. ob es zu dem toxisch wirksamen Bestandteil der Giftsubstanz gehört oder nicht.

## 7.2. Morphologie des Giftkanals

Die Morphologie der Giftzähne und des Giftkanals innerhalb der Giftzähne konnte mit computertomografischen Aufnahmen dargestellt werden. Die REM-Aufnahmen der inneren Oberseite des Giftkanals, die eine höhere Auflösung als die computer-

tomografischen Aufnahmen besitzen, konnten keine zusätzlichen Strukturmerkmale zeigen, die nicht auch in den computertomografischen Aufnahmen sichtbar waren.

Einige Studien konnten bereits zeigen, dass die Giftzähne der Speikobras morphologische Besonderheiten aufweisen, die für Zähne von nicht-speienden Kobraarten sowie anderer Schlangenarten bislang nicht beschrieben wurden (Bogert, 1943; Young u. a., 2008; Wüster u. Thorpe, 1992; Berthé, 2011). Bereits bei geringer Vergrößerung der Giftzähne kann man Unterschiede in der Form der Giftaustrittsöffnung des Zahns zwischen speienden und nicht-speienden Kobraarten feststellen: Nicht-speiende Arten besitzen eine langgestreckte Öffnung, die fast bis zur Spitze des Zahns reicht. Der Giftkanal endet in flachem Winkel in diese Öffnung. Das Gift kann den Zahn deshalb nur nach unten, also zur Spitze hin, verlassen (Bogert, 1943; Wüster u. Thorpe, 1992; Berthé, 2011). Um Gift beim Biss in ein Beutetier zu injizieren ist diese Form der Öffnung geeignet, da der Zahn wie eine Kanüle funktioniert. Auch Schlangen mit geschlossen-gefurchten (Fachwort) Zähnen anderer Gattungen und Familien zeigen eine solche Form der Austrittsöffnung (Kaschke, 2010). Speikobras besitzen eine rundlich-ovale Austrittsöffnung. Der Giftkanal endet in einer Biegung von 70-90° zur Längsachse des Zahns in die Austrittsöffnung. Diese Umlenkung des Giftstromes ermöglicht den Speikobras das Giftspritzen nach vorne, ohne die Spitze des Zahns zum Ziel hin ausrichten zu müssen. Auf diese Weise kann die Schlange ein Ziel gleichzeitig mit den Augen anvisieren und Giftflüssigkeit auf das Ziel spritzen.

Vergleicht man die Austrittsöffnungen der Speikobraarten *N. pallida*, *N. nigricollis* und *N. siamensis*, werden auch zwischen diesen Arten morphologische Unterschiede deutlich: *N. pallida* zeigt am deutlichsten eine oval-rundlich geformte Austrittsöffnung. Die Umlenkung des Giftstrahls nach vorne ist bei dieser Art am stärksten ausgeprägt. Die Austrittsöffnung von *N. nigricollis* war deutlich länger, wenn man das Verhältnis von Länge zu Breite berücksichtigt. Die Umlenkung des Giftstrahls nach vorne besaß im Vergleich zu *N. pallida* einen geringeren Winkel. Die Austrittsöffnung der Giftzähne von *N. siamensis* ähnelte in ihrer Form den Austrittsöffnungen der Giftzähne von *N. kaouthia* und *N. naja*. Die Umlenkung des Giftstrahls ist hier gering.

Ein weiteres charakteristisches Merkmal von Speikobrazähnen ist die Ausprägung der Oberfläche auf der Innenseite des Giftkanals. Bereits zuvor wurde beschrieben, dass in unmittelbarer Nähe zur Austrittsöffnung gratartige Erhebungen sichtbar sind, die sich in Längsrichtung des Kanals erstrecken. Eine REM-Darstellung eines Zahns von *N. pallida* in Young u. a. (2008) zeigt bereits einen solchen Grat. Die Giftkanäle

von nicht-speienden Kobras besitzen keine ähnlichen gratartigen Strukturen (Berthé, 2011). Vergleicht man die Ausprägungen der Grate der hier untersuchten Speikobra-Arten, so werden Unterschiede in Länge, Höhe, Symmetrie und Anzahl der Grate deutlich. Während die Grate bei *N. siamensis* nur geringfügig erhaben sind, besitzt *N. nigricollis* einen einzigen Grat, der relativ weit in den Kanal hineinragt. *N. pallida* besitzt zwei symmetrische, erhabene Grate, die sich longitudinal über 1/3 der Länge des Kanals erstrecken. Da solche Grate in bislang in keinem untersuchten Giftkanal von nicht-speienden Kobra- beziehungsweise Schlangenarten beschrieben wurden, liegt es nahe in den Graten eine evolutionäre Anpassung an die Erfordernisse eines effizienten Giftspeiens zu vermuten. Tatsächlich konnten nachfolgende Simulationen des Giftflusses in vergrößerten Modellen und Computermodellen des Giftkanals einer *N. pallida* dies belegen (Triep u. a., 2013): Für diese Modelle wurden die in dieser Arbeit erfassten morphologischen Daten des Giftkanals einer *N. pallida* sowie die rheologischen Daten der Giftflüssigkeit verwendet. Mit *particle image velocimetry* und Computer-Simulationen (*computational fluid dynamics*) des Durchflusses konnte gezeigt werden, dass die Grate innerhalb des Giftkanals die Strömung in dem Kanal leiten und zu einem kompakteren Giftstrahl an der Austrittsöffnung des Kanals führen. Die Grate funktionierten im strömungsmechanischen Sinn als „guide vanes“. Guide vanes sind Lenkflächen, die ein Fluid mit minimalen Energieverlust beziehungsweise Druckverlust in gebogenen Rohrleitungen umlenken können. Als Vergleich diente ein Rohrmodell ohne Grate aber mit den gleichen gemittelten Rohrdurchmessern wie der Giftkanal der Speikobra. Im Vergleich des Modells des Giftkanals eines Speikobrazahns mit diesem Rohrmodell konnte für das Rohrmodell ein Druckverlust von etwa 30 % festgestellt werden.

Auch Westhoff u. a. (2005) konnte anhand von Spuckmustern zeigen, dass *N. pallida* kompaktere Giftstrahlen als *N. nigricollis* verspritzt. Die Spuckmuster letzterer Art zeigten eher die Form eines Sprays denn eines kompakten Flüssigkeitsstrahls. Hier könnte die unterschiedliche Anzahl der Grate für Unterschiede in der Strahlform verantwortlich sein. Für *N. siamensis* muß man aufgrund der morphologischen Ergebnisse von einer eher geringen Anpassung an das Giftspeien ausgehen: Sowohl die Grate innerhalb des Kanals sind schwach ausgeprägt als auch die Austrittsöffnung ist eher länglich-oval ähnlich der nicht-speiender Kobraarten.

Sowohl die Ergebnisse der morphologischen Untersuchungen der Giftzähne als auch die rheologischen Untersuchungen der Giftflüssigkeit deuten darauf hin, dass *N. pallida* von den untersuchten Kobraarten am besten an das Giftspeien angepasst

sein muß. Für die zum Teil schon stattgefundenen weiterführenden Untersuchungen des Speivorgangs und der Strömung innerhalb des Giftkanals durch Simulationen ist *N. pallida* als Vorbild demnach am besten geeignet.

## Teil III.

# Ausblick und Zusammenfassung



## Ausblick

---

Die vorliegende Arbeit hat sich mit der Erzeugung von Flüssigkeitsstrahlen in zwei verschiedenen Tiergruppen befasst. Die Daten zur Morphologie und Funktionsweise der Strahlerzeugung bei Pistolenkrebse und Speikobras wurden in weiterführenden Studien verwendet (Hess u. a., *subm*; Triep u. a., 2013), um die Fluidodynamik der Strahlerzeugung genauer zu analysieren und spezielle Anpassungen der Tiere an eine effektive Strahlerzeugung aufzudecken. Hierfür wurden vergrößerte Modelle der biologischen Strukturen erzeugt und die Fluidodynamik mittels particle image velocimetry untersucht. Zusätzlich wurden digitale Modelle der biologischen Strukturen mittels computational fluid dynamics untersucht. Diese Studien haben bereits einige interessante Erkenntnisse hervorgebracht, die in Zukunft möglicherweise zur Optimierung technischer Strahlerzeugungen verwendet werden können. Unter anderem konnte gezeigt werden, daß die gratartigen Strukturen innerhalb des Giftkanals der Speikobrazähne die Durchströmung des Giftkanals verbessern und Druckverluste bei der Umlenkung des Flüssigkeitsstromes stark reduzieren. Weitere Studien könnten zeigen, inwieweit der Strahl außerhalb des Giftkanals von der Morphologie und den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Giftflüssigkeit beeinflusst wird. Weiterhin könnte auch das Haftsystem der Pistolenkrebse Vorbild für bionische Anwendungen sein. Hierfür müssten zunächst künstliche Modelle nach Vorbild des Haftsystems erzeugt werden, an denen das Potential des Haftsystems näher untersucht werden kann. Das Haftsystem könnte für technische Anwendungen interessant sein, da es sich hierbei um einen temporären, d.h. beliebig reversiblen Hafteffekt handelt, der zudem Unterwasser allein aufgrund seiner Struktur und Materialeigenschaften eine Haftwirkung erzielt.

Wie bereits einleitend erwähnt existieren im Tierreich weitere zahlreiche Organismen, die gezielte schnelle Flüssigkeitsstrahlen erzeugen können. Die Vielfalt der Me-

chanismen der Strahlerzeugung wie auch die Vielfalt der Strahleigenschaften hinsichtlich Geschwindigkeit, Kompaktheit und Genauigkeit machen eine wissenschaftliche Untersuchung dieser sowohl aus rein biologischer als auch aus bionischer Sicht lohnenswert.



# Zusammenfassung

---

Verschiedene Tierarten sind in der Lage mit hoher Präzision und Geschwindigkeit kurze, pulsartige Flüssigkeitsstrahlen zu erzeugen. Die Tiere nutzen dazu unterschiedliche Organe und Mechanismen und verwenden als Flüssigkeitsstrahl verschiedene Flüssigkeiten. In der vorliegenden Arbeit habe ich in zwei Tiergruppen, den Pistolenkrebsen (Alpheidae) und den Speikobras (Elapidae, Gattung *Naja*), die funktionelle Morphologie der strahlerzeugenden Organe untersucht. Zudem habe ich die Flüssigkeitseigenschaften der Strahlflüssigkeit der Speikobras untersucht. Die vorliegenden Untersuchungen sind Teil eines interdisziplinären bionischen Projektes mit der Beteiligung von Vertretern der Biowissenschaften und der Ingenieurwissenschaften. Ziel des Projektes ist die Aufdeckung von Strukturen und Anpassungen, die eine gepulste Strahlerzeugung optimieren. Durch Übertragung solcher Anpassungen und Prinzipien von den natürlichen Vorbildern auf technische Anwendungen wie Wasserstrahlschneiden können diese Anwendungen im Hinblick auf Effektivität und Kosten optimiert werden.

Ich habe zwei Pistolenkrebs-Arten untersucht, *Alpheus bellulus* und *Alpheus randalli*. Pistolenkrebse besitzen jeweils eine im Laufe der Evolution umgewandelte Greifschere, mit der sie einen kurzen und sehr schnellen Wasserstrahl erzeugen können. Dabei entsteht ein lautes knallendes oder knackendes Geräusch. Die Knallschere besitzt auf dem Propodus eine Grube und auf dem Dactylus einen sockelartigen Vorsprung, der beim Schließen der Schere in die Grube eindringt. In diesem Funktionsgefüge wird der Wasserstrahl erzeugt. Ich habe die dreidimensionale Struktur dieses Systems mittels computertomografischer Aufnahmen rekonstruiert und weitere Strukturen mittels Rasterelektronenmikroskopie untersucht. Da für die Erzeugung eines solchermaßen schnellen Wasserstrahles eine sehr hohe Bewegungsgeschwindigkeit des Scherengliedes erforderlich ist, welche nicht allein über die Kontraktionsgeschwindigkeit

der Scherenmuskulatur erreicht werden kann, habe ich zudem den Beschleunigungsmechanismus der Scheren eingehend untersucht. Die von mir untersuchten Arten besitzen Haftstrukturen, welche die Scherenfinger im geöffneten Zustand arretieren und somit bei der Muskelkontraktion einen Spannungsaufbau erzeugen, der vermutlich in einer höheren Bewegungsgeschwindigkeit des Scherengliedes resultiert. Ich habe über Kraftmessungen die Haftkraft der Haftscheiben ermittelt und deren Abhängigkeit vom umgebenden Medium bestimmt. Weiterhin habe ich die Morphologie, die Ultrastruktur sowie die Materialzusammensetzung und Eigenschaften der Haftscheiben ermittelt. Ich konnte zeigen, dass die Oberflächen der Haftscheiben im Gegensatz zur umgebenden Kutikula nicht mineralisch gehärtet waren. Die Haftscheibe auf dem Propodus besitzt eine orthogonale Faserung mit einem darunterliegenden mineralisch gehärtetem Ring. Die Haftscheibe auf dem Dactylus besteht aus einer dünnen amorphen Schicht, die scheinbar auf die Kutikula aufgelagert ist. Die Haftkraft verändert sich mit der Ablösegeschwindigkeit. In wässrigen Lösungen von Glycerin, Ethanol und Sucrose erlosch die Haftwirkung reversibel. Durch die Ergebnisse der Experimente zur Haftkraft konnte ich zeigen, daß wet adhesion und dessen Komponenten wie Stefan Adhäsion für die Haftwirkung entscheidend sind. Die Morphologie und Ultrastruktur der Haftscheiben lässt vermuten, daß zusätzlich auch ein Unterdruck-Effekt (Saugnapfeffekt) die Haftwirkung erhöht.

Speikobras können Giftflüssigkeit durch ihre Giftzähne auf einen Angreifer spritzen. Der Giftstrahl ist extrem schnell und zielt meist auf das Gesicht eines Angreifers. Der Giftkanal des Giftzahnes von Speikobras besitzt gratartige Strukturen, die bei nicht-speienden Kobraarten fehlen und denen eine Funktion bei der Strahlbildung zugesprochen wurde. Mittels Rasterelektronenmikroskopie und Computertomografie habe ich die innere Struktur des Giftkanals der Giftzähne untersucht und dreidimensional rekonstruiert. Über tensiometrische und viskosimetrische Methoden habe ich die physiko-chemischen Eigenschaften der Strahlflüssigkeit (= Giftflüssigkeit) der Speikobras untersucht und mit der von nicht-speienden Kobraarten verglichen. Die Viskosität der Giftflüssigkeit aller Kobraarten verringerte sich mit zunehmender Scherrate (= scherverdünnendes Verhalten). Die Viskosität der Giftflüssigkeit der Speikobras war signifikant geringer als die der nicht-speienden Arten. In einer nachfolgenden kooperativen Studie wurden die in dieser Arbeit erhobenen morphologischen und physiko-chemischen Daten für vergrößerte Modelle eines Giftzahnes verwendet, anhand derer durch particle image velocimetry das Fluidverhalten innerhalb des Giftkanales untersucht wurde. Zudem wurden Computersimulationen zur

---

Untersuchung des Fluidverhaltens im Giftkanal durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass die gratartigen Strukturen innerhalb des Giftkanals das Fließverhalten der Strahlflüssigkeit im Giftkanal optimieren, indem die Grate den Druckverlust beim Umleiten der Giftflüssigkeit um ca. 30% verringern. Die scherverdünnende Eigenschaft der Giftflüssigkeit hatte dagegen keinen Einfluss auf die Fließeigenschaften innerhalb des Giftkanals.



## Summary

---

A variety of animal species can generate short and precise pulses of high velocity liquid jets. For generation of these jets, the animals use different organs and mechanisms as well as different jet liquids. In this study I investigated the functional morphology of the jet generating organs of two animal groups, snapping shrimps (Alpheidae) and spitting cobras (Elapidae, genus *Naja*). Furthermore, I investigated the physical-chemical properties of the cobra venom liquid. The study is part of an interdisciplinary biomimetic project, consisting of scientists from the fields of biology and engineering. Aim of the project is to examine structures and adaptations that optimise the generation of liquid jets. Transferring such adaptations and principles from the biological models to technical applications as water jet cutting could optimise these applications regarding costs and effectivity.

I examined two species of snapping shrimp, *A. bellulus* and *A. randalli*. Snapping shrimp possess an evolutionary transformed pincher claw (=snapper claw), enabling them to produce a short and fast waterjet. The water jet results in a loud crackling noise. The snapper claw has a pit on the propodus and a socket on the dactylus which fit into each other when the snapper claw is closed. The water jet is formed in the closed pit. By computertomography I reconstructed this functional system three-dimensionally and investigated further structures in this system by scanning electron microscopy. As the generation of such a fast water jet requires a very high closing velocity of the dactylus of the claw which can not be achieved solely by the contraction speed of the muscles, I investigated the acceleration mechanism of the dactylus. The species examined in this study possess adhesive structures (= adhesive pads) that cock the dactylus in the fully opened position before snapping. Thereby, these structures act like a spring mechanism when the closer muscles contract. Most likely, this spring mechanism results in a higher closing speed of the dactylus. I measured the

adhesive forces of the structures and examined their dependence on the properties of the surrounding medium. Furthermore, I determined the morphology, ultrastructure and the material composition and properties of the adhesive pads. I could show that the surface of these structures is not hardened by minerals in contrary to the surrounding cuticle surface. The pad on the propodus consists of orthogonally arranged fibres with an underlying, minerally hardened ring-like structure. The pad on the dactylus consists of a thin amorphous layer which seems to be laying on the cuticle. Adhesive forces change with variation of the detachment speed. In aqueous solutions of glycerine, ethanol and sucrose, the adhesive force vanishes reversibly. The results of the experiments on the adhesive force indicate that wet adhesion and its component Stefan adhesion play a major role for the adhesive mechanism. However, morphology and ultrastructure of the pads indicates that a suction cup mechanism may assist in the generation of the adhesive force.

Spitting cobras can spray venom liquid via their fangs towards an offender. The venom jet is extremely fast and precise and usually aims the face of an offender. The venom channel of the fang of a spitting cobra possesses ridge-like structures which are absent in non-spitting cobras and which are thought to have a function for the generation of the liquid jet. By using scanning electron microscopy and computer tomography I examined the internal morphology of the venom channel and did a three-dimensional reconstruction. I determined the viscosity, surface tension and density of the venom liquid and compared it with that of non-spitting cobras. The viscosity of all cobra venom decreased with increasing shear rate (=shear-thinning behaviour). The viscosity of cobra venom was significantly lower than that of non-spitting cobra species. In a cooperative study, the morphological and physico-chemical data determined in this study were used to generate an enlarged model of a *N. pallida* fang. By using particle image velocimetry and an artificial fluid with the same physico-chemical properties as the venom liquid, the fluid flow in the venom channel was examined. Results showed that the ridge-like structures in the venom channel enhance the liquid flow in the channel by reducing the pressure drop up to 30% when the liquid changes its direction in the bend of the channel.

# Literaturverzeichnis

---

- [Anker u. a. 2006] ANKER, Arthur ; AHYONG, Shane T. ; NOEL, Pierre Y. ; PALMER, A. R.: Morphological Phylogeny of Alpheid Shrimps: Parallel preadaption and the origin of a key morphological innovation, the snapping claw. In: *Evolution* 60 (2006), Nr. 12, S. 2507–2528 (Zitiert auf Seiten 1, 4, 51, 54, und 55.)
- [Autumn u. a. 2000] AUTUMN, Kellar ; LIANG, Yiching A. ; TONIA HSIEH, S. ; ZESCH, W. ; PANG CHAN, Wal ; KENNY, Thomas W. ; FEARING, R. ; FULL, Robert J.: Adhesive force of a single gecko foot-hair. In: *Nature* 45 (2000), S. 681–685 (Zitiert auf Seite 56.)
- [Autumn u. a. 2002] AUTUMN, Kellar ; METIN, Sitti ; LIANG, Yiching A. ; PEATTIE, Anne M. ; HANSEN, Wendy R. ; SPONBERG, Simon ; KENNY, Thomas W. ; FEARING, R. ; ISRAELACHVILI, Jacob N. ; FULL, Robert J.: Evidence for van der Waals adhesion in gecko setae. In: *Proceedings of the National Academy of Science* 99 (2002), Nr. 19, S. 12252–12256 (Zitiert auf Seite 56.)
- [Autumn u. Peattie 2002] AUTUMN, Kellar ; PEATTIE, Anne M.: Mechanisms of Adhesion in Geckos. In: *Integrative and Comparative Biology* 42 (2002), S. 1081–1090 (Zitiert auf Seite 56.)
- [Baer u. a. 1993] BAER, H. U. ; STAIN, S. C. ; GUASTELLA, T. ; MADDERN, G. J. ; BLUMGART, L. H.: Hepatic Resection Using a Water Jet Dissector. In: *Hepatopancreatobiliary surgery* 6 (1993), Nr. 3, S. 189–198 (Zitiert auf Seite 8.)
- [Banner u. Banner 1980] BANNER, A.H. ; BANNER, D.M.: Contributions to the Knowledge of the Alpheid Shrimp of the Pacific Ocean Part XIX. On *Alpheus randalli*, a New Species of the Edwardsii Group Found Living in Association with a Gobiid Fish. In: *Pacific Science* 34 (1980), Nr. 4, S. 401–405 (Zitiert auf Seiten 9 und 59.)

- [Barbour 1922] BARBOUR, T.: Rattlesnakes and Spitting Snakes. In: *Copeia* (1922), Nr. 106, S. 36–38 (Zitiert auf Seite 2.)
- [Barnes 2007] BARNES, W. Jon. P.: Functional Morphology and Design Constraints of Smooth Adhesive Pads. In: *MRS Bulletin* 32 (2007), S. 479–485 (Zitiert auf Seiten 55 und 57.)
- [Beheshti u. Mcintosh 2007] BEHESHTI, NoVID ; MCINTOSH, Andy C.: The bombardier beetle and its use of a pressure relief valve system to deliver a periodic pulsed spray. In: *Bioinspiration & Biomimetics* 2 (2007), Nr. 4, S. 57 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Berthé 2011] BERTHÉ, R.A.: *Spitting behaviour and fang morphology of spitting cobras*, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn, Diss., 2011 (Zitiert auf Seiten 2, 92, und 93.)
- [Bogert 1943] BOGERT, Charles M.: Dentitional phenomena in cobras and other elapids with notes on adaptive modifications of fangs. In: *Bulletin of the American Museum of Natural History* LXXXI (1943), S. 285–363 (Zitiert auf Seiten 1, 2, 3, 4, und 92.)
- [Boßelmann u. a. 2007] BOSSELMANN, F. ; ROMANO, P. ; FABRITIUS, H. ; RAABE, D. ; EPPLE, M.: The composition of the exoskeleton of two crustacea: The American lobster *Homarus americanus* and the edible crab *Cancer pagurus*. In: *Thermochimica Acta* 463 (2007), Nr. 1-2, S. 65–68 (Zitiert auf Seite 57.)
- [Branch 1997] BRANCH, B.: *Field Guide to the Snakes and other Reptiles of Southern Africa*. Ralph Curtis Books, Sanibel Island, Florida, 1997 (Zitiert auf Seite 91.)
- [Broadley 1968] BROADLEY, Donald G.: A Review of the African Cobras of the Genus *Naja* (Serpentes: Elapinae). In: *Arnoldia* 29 (1968), Nr. 3, S. 1–13
- [Böswirth 2011] BÖSWIRTH, L.: *Technische Strömungslehre*. 9. Vieweg und Teubner, Wiesbaden, 2011. – 352 S. (Zitiert auf Seite 68.)
- [Cascardi u. a. 1999] CASCARDI, Jennifer ; YOUNG, Bruce A. ; HUSIC, H. D. ; SHERMA, Joseph: Protein variation in the venom spat by the red spitting cobra, *Naja pallida* (Reptilia: Serpentes). In: *Toxicon* 37 (1999), S. 1271–1279 (Zitiert auf Seiten 89 und 91.)



- [Chanard u. a. 2000] CHANARD, Tanya ; STUART, Bryan L. ; WÜSTER, Wolfgang: First Record of Indochinese Spitting Cobra *Naja siamensis* Laurenti (Serpentes: Elapidae) from Laos, With Comments on the Genus in the Country. In: *The Natural History Bulletin of the Siam Society* 48 (2000), S. 149–152 (Zitiert auf Seite 10.)
- [Chen u. a. 2008] CHEN, Po-Yu ; LIN, Albert Yu-Min ; MCKITTRICK, Joanna ; MEYERS, Marc A.: Structure and mechanical properties of crab exoskeletons. In: *Acta Biomaterialia* 4 (2008), Nr. 3, S. 587–596 (Zitiert auf Seiten 55 und 57.)
- [Coutière 1899] COUTIÈRE, H.: Les Alpheidae, morphologie externe et interne, formes larvaires, bionomie. In: *Annales des Sciences Naturelles* 8, 9 (1899), S. 1–560 (Zitiert auf Seiten 4 und 51.)
- [Cribb u. a. 2009] CRIBB, B.W. ; RATHMELL, A. ; CHARTERS, R. ; RASCH, R. ; HUANG, H. ; TIBBETTS, I.R.: Structure, composition and properties of naturally occurring non-calcified crustacean cuticle. In: *Arthropod Structure & Development* 38 (2009), Nr. 3, S. 173 – 178 (Zitiert auf Seite 53.)
- [Dabelow 1958] DABELOW, S.: Zur Biologie der Leimschleuderspinne *Scytodes thoracica* (Latreille). In: *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik* 86 (1958), S. 85–126 (Zitiert auf Seite 2.)
- [Denny 1988] DENNY, Mark W.: *Air and water: the biology and physics of life's media*. 1. Princeton University Press, 1988. – 360 S. (Zitiert auf Seiten 58, 60, und 68.)
- [Duffy 1996] DUFFY, J.Emmett: Eusociality in a coral-reef shrimp. In: *Nature* 381 (1996), Nr. 6582, S. 512–514 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Elliott 1978] *Kapitel* Chemistry and immunology of reptilian venoms. In: ELLIOTT, W. B.: *Biology of the Reptilia*. Bd. 8. Academic Press, New York, 1978, S. 163–436 (Zitiert auf Seite 88.)
- [Federle u. a. 2006] FEDERLE, W ; BARNES, W.J.P ; BAUMGARTNER, W ; DRECHSLER, P ; SMITH, J.M: Wet but not slippery: boundary friction in tree frog adhesive toe pads. In: *Journal of The Royal Society Interface* 3 (2006), Nr. 10, S. 689–697 (Zitiert auf Seite 58.)

- [Fletcher u. Palanker 2001] FLETCHER, D. A. ; PALANKER, D. V.: Pulsed liquid microjet for microsurgery. In: *Applied Physics Letters* 78 (2001), S. 1933–1935 (Zitiert auf Seite 6.)
- [Foelix 1996] FOELIX, R.F.: *Biology of Spiders*. 2nd. Oxford University Press, Oxford, 1996. – 330 S. (Zitiert auf Seite 2.)
- [Freyvogel u. Honegger 1965] FREYVOGEL, Thierry A. ; HONEGGER, Conrad G.: Der Speiakt von *Naja nigricollis*. In: *Acta Tropica* XXII (1965), Nr. 3, S. 289–302 (Zitiert auf Seiten 1 und 3.)
- [Goldstein 1992] GOLDSTEIN, I. (Hrsg.): *Scanning electron microscopy and x-ray microanalysis*. 2. Plenum Press, New York, 1992. – 820 S. (Zitiert auf Seiten 15 und 16.)
- [Gorb 2007] GORB, Stanislav N.: Smooth Attachment Devices in Insects: Functional Morphology and Biomechanics. In: CASAS, J. (Hrsg.) ; SIMPSON, S.J. (Hrsg.): *Insect Mechanics and Control* Bd. Volume 34. Academic Press, 2007, S. 81–115 (Zitiert auf Seiten 55, 56, 57, und 61.)
- [Gorb 2008] GORB, Stanislav N.: Biological attachment devices: exploring nature's diversity for biomimetics. In: *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 366 (2008), Nr. 1870, S. 1557–1574
- [Greene 1988] Kapitel Antipredator mechanisms in reptiles. In: GREENE, H.: *Biology of the Reptilia*. Bd. 16. Academic Press, New York, 1988, S. 1–157 (Zitiert auf Seiten 1 und 2.)
- [Grüntzig u. a. 1985] GRÜNTZIG, J. ; LENZ, W. ; BERKEMEIER, B. ; MEBS, D.: Experimental studies on the spitting cobra ophthalmia (*Naja nigricollis*). In: *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 223 (1985), S. 196–201 (Zitiert auf Seite 3.)
- [Gronenberg 1996] GRONENBERG, W.: Fast actions in small animals: springs and click mechanisms. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 178 (1996), S. 727–734 (Zitiert auf Seiten 5 und 54.)
- [Hadley 1986] HADLEY, N.F.: The arthropod cuticle. In: *Scientific american* 255 (1986), S. 98–106 (Zitiert auf Seiten 53 und 57.)
- [Hart u. a. 2002] HART, Harold ; CRAINE, Leslie E. ; HART, David J.: *Organische Chemie*. 2. Wiley-VCH, 2002. – 716 S.

- [Hayes u. a. 2008] HAYES, William K. ; HERBERT, Shelton S. ; HARRISON, James R. ; WILEY, Kristen L.: Spitting versus biting: Differential venom gland contraction regulates venom expenditure in the black-necked spitting cobra, *Naja nigricollis nigricollis*. In: *Journal of Herpetology* 42 (2008), Nr. 3, S. 453–460 (Zitiert auf Seite 90.)
- [Herberholz u. Schmitz 1998] HERBERHOLZ, J. ; SCHMITZ, B.: Role of Mechanosensory Stimuli in Intraspecific Agonistic Encounters of the Snapping Shrimp (*Alpheus heterochaelis*). In: *Biological Bulletin* 195 (1998), Nr. 2, S. 156–167 (Zitiert auf Seiten 1 und 52.)
- [Herberholz u. Schmitz 1999] HERBERHOLZ, J. ; SCHMITZ, B.: Flow visualisation and high speed video analysis of water jets in the snapping shrimp (*Alpheus heterochaelis*). In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 185 (1999), Nr. 1, S. 41–49 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Hess u. a. subm] HESS, David ; BRÜCKER, Christoph ; HEGENER, Franziska ; BALMERT, Alexander ; BLECKMANN, Horst: Vortex formation with a snapping shrimp claw. In: *PLOS one* (submitted) (Zitiert auf Seiten 52 und 97.)
- [Ilschner u. Singer 2005] ILSCHNER, B. ; SINGER, R.F.: *Werkstoffwissenschaften Und Fertigungstechnik*. Springer Verlag, Berlin, 2005 (Springer-Lehrbuch) (Zitiert auf Seite 6.)
- [Ismail u. a. 1993a] ISMAIL, Mohammad ; AL-BEKAIRI, Abdullah M. ; EL-BEDAIWY, Ayman M. ; ABD-EL SALAM, Mohammad A.: The ocular effects of spitting cobras: I. The ringhals cobra (*Hemachatus haemachatus*) venom-induced corneal opacification syndrome. In: *Clinical Toxicology* 31 (1993), Nr. 1, S. 31–41 (Zitiert auf Seite 3.)
- [Ismail u. a. 1993b] ISMAIL, Mohammad ; AL-BEKAIRI, Abdullah M. ; EL-BEDAIWY, Ayman M. ; ABD-EL SALAM, Mohammad A.: The ocular effects of spitting cobras: II. Evidence that cardiotoxins are responsible for the corneal opacification syndrome. In: *Clinical Toxicology* 31 (1993), Nr. 1, S. 45–62 (Zitiert auf Seite 3.)
- [Izumi u. a. 1993] IZUMI, Ryohei ; YABUSHITA, Kazuhisa ; SHIMIZU, Kohichi ; YAGI, Masao ; YAMAGUCHI, Akio ; KONISHI, Kohji ; NAGAKAWA, Takukazu ; MIYAZAKI, Itsuo: Hepatic resection using a water jet dissector. In: *Surgery Today* 23 (1993), S. 31–35 (Zitiert auf Seite 8.)

- [Jeanne u. Keeping 1995] JEANNE, Robert L. ; KEEPING, Malcolm G.: Venom spraying *Parachartergus colobopterus*: A novel defensive behavior in a social wasp (Hymenoptera: Vespidae). In: *Journal of Insect Behavior* 8 (1995), S. 433–442 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Joffe u. a. 1975] JOFFE, I ; HEPBURN, H.R. ; NELSON, K.J. ; GREEN, N.: Mechanical properties of a crustacean exoskeleton. In: *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 50 (1975), Nr. 3, S. 545–549
- [Joukowsky 1900] JOUKOWSKY, N: Über den hydraulischen Stoss in Wasserleitungsröhren. In: *Mémoires de l'Académie Impériale des Sciences de St.-Petersbourg* 8 9 (1900), Nr. 5, S. 1–72 (Zitiert auf Seite 6.)
- [Kaestner 1993] KAESTNER, A.: *Lehrbuch der speziellen Zoologie*. Gustav Fischer Verlag, Jena, 1993. – 1279 S. (Zitiert auf Seite 4.)
- [Kaschke 2010] KASCHKE, Christiane: *Morphologie der Giftzähne und Viskosität des Giftes von juvenilen und adulten Crotalus atrox*, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Diplomarbeit, 2010 (Zitiert auf Seite 92.)
- [Kim u. Bhushan 2008] KIM, Tae W. ; BHUSHAN, Bharat: The adhesion model considering capillarity for gecko attachment system. In: *Journal of The Royal Society Interface* 5 (2008), Nr. 20, S. 319–327 (Zitiert auf Seite 56.)
- [Klocke u. Schmitz 2011] KLOCKE, David ; SCHMITZ, Helmut: Water as a major modulator of the mechanical properties of insect cuticle. In: *Acta Biomaterialia* 7 (2011), Juli, Nr. 7, S. 2935–2942
- [Klocke u. König 2007] KLOCKE, Fritz ; KÖNIG, Wilfried: Materialbearbeitung mit Hochdruckwasserstrahl. In: *Fertigungsverfahren* 3. Springer Berlin Heidelberg, 2007 (VDI-Buch), S. 321–332 (Zitiert auf Seite 6.)
- [Koch u. Sachs 1927] KOCH, M. ; SACHS, W.B.: Über zwei giftspeiende Schlangen, *Sepedon haemachates* und *Naja nigricollis*. In: *Zoologischer Anzeiger* 70 (1927), S. 155–159 (Zitiert auf Seite 2.)
- [Kontopoulou 2012] KONTOPOULOU, Marianna (Hrsg.): *Applied Polymer Rheology*. Wiley, 2012. – 354 S. (Zitiert auf Seite 88.)

- [Lee 1972] LEE, C Y.: Chemistry and Pharmacology of Polypeptide Toxins in Snake Venoms. In: *Annual Review of Pharmacology* 12 (1972), Nr. 1, S. 265–286 (Zitiert auf Seiten 87 und 88.)
- [Lee 1979] LEE, Chen-Yuan ; LEE, Chen-Yuan (Hrsg.): *Snake Venoms*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1979. – 1130 S. (Zitiert auf Seiten 87 und 88.)
- [Lüling 1963] LÜLING, K. H.: The archer fish. In: *Scientific american* 209 (1963), S. 100–108 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Lohse u. a. 2001] LOHSE, Detlef ; SCHMITZ, Barbara ; VERSLUIS, Michel: Snapping shrimp make flashing bubbles. In: *Nature* 413 (2001), Nr. 6855, S. 477–478 (Zitiert auf Seite 5.)
- [Luiselli u. Angelici 2000] LUISELLI, Luca ; ANGELICI, Francesco M.: Ecological relationships in two Afrotropical cobra species (*Naja melanoleuca* and *Naja nigricollis*). In: *Canadian Journal of Zoology* 78 (2000), S. 191–198
- [MacAlister 1960] MACALISTER, W.: The spitting habit in the spider *Scytodes intricata* Banks (Family Scytodidae). In: *Texas Journal of Science* 12 (1960), S. 17–20 (Zitiert auf Seite 2.)
- [Mariappan u. a. 2000] MARIAPPAN, Pitchaimuthu ; BALASUNDARAM, Chellam ; SCHMITZ, Barbara: Decapod crustacean chelipeds: an overview. In: *Journal of Biosciences* 25 (2000), Nr. 3, S. 301–313
- [McCue u. Mason 2006] MCCUE, M. ; MASON, R.: Cost of Producing Venom in Three North American Pitviper Species. In: *Copeia* (2006), Nr. 4, S. 818–825 (Zitiert auf Seite 90.)
- [Mezger 2006] MEZGER, Thomas G.: *The Rheology Handbook*. 2. William Andrew Publishing, 2006. – 252 S. (Zitiert auf Seiten 68, 69, 88, und 89.)
- [Miya u. Miyake 1969] MIYA, Y. ; MIYAKE, S.: Description of *Alpheus bellulus*, sp. nov. associated with gobies from Japan (Crustacea, Decapoda, Alpheidae). In: *Publications of the Seto Marine Biology Laboratory* 16 (1969), Nr. 5, S. 307–314 (Zitiert auf Seiten 9 und 59.)
- [Mortimer u. Müller 2003] MORTIMER, Charles E. ; MÜLLER, Ulrich: *Das Basiswissen der Chemie*. 8. Thieme, Stuttgart, 2003. – 750 S.

- [Nentwig 1985] NENTWIG, Wolfgang: Feeding ecology of the tropical spitting spider *Scytodes longipes* (Araneae, Scytodidae). In: *Oecologia* 65 (1985), S. 284–288 (Zitiert auf Seite 2.)
- [Newlands 1974] NEWLANDS, G.: The venom-squirting ability of *Parabuthus* scorpions (Arachnida: Buthidae). In: *The South African Journal of Medical Sciences* 39 (1974), Nr. 4, S. 175–178 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Nisani u. a. 2007] NISANI, Zia ; DUNBAR, Stephen G. ; HAYES, William K.: Cost of venom regeneration in *Parabuthus transvaalicus* (Arachnida: Buthidae). In: *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular and Integrative Physiology* 147 (2007), Nr. 2, S. 509–513 (Zitiert auf Seite 90.)
- [NOAA 2009] NOAA: *National Oceanic and Atmospheric Administration*. 2009 [www.noaa.gov](http://www.noaa.gov) (Zitiert auf Seite 59.)
- [Oertel 2008] OERTEL, H.: *Bioströmungsmechanik*. 1. Vieweg und Teubner, Wiesbaden, 2008. – 294 S. (Zitiert auf Seite 68.)
- [Papachristou u. Barters 1982] PAPACHRISTOU, Dimitrios N. ; BARTERS, Richard: Resection of the liver with a water jet. In: *British Journal of Surgery* 69 (1982), Nr. 2, S. 93–94 (Zitiert auf Seite 8.)
- [Persson 2007] PERSSON, B N J.: Wet adhesion with application to tree frog adhesive toe pads and tires. In: *Journal of Physics: Condensed Matter* 19 (2007), Nr. 37, S. 376110 (Zitiert auf Seiten 57 und 58.)
- [Persson u. Gorb 2003] PERSSON, B. N. J. ; GORB, S. N.: The effect of surface roughness on the adhesion of elastic plates with application to biological systems. In: *Journal of Chemical Physics* 119 (2003), Nr. 21, S. 437–444
- [Pintor u. a. 2010] PINTOR, Anna F. ; KROCKENBERGER, Andrew K. ; SEYMOUR, Jamie E.: Costs of venom production in the common death adder (*Acanthophis antarcticus*). In: *Toxicon* 56 (2010), Nr. 6, S. 1035 – 1042 (Zitiert auf Seite 90.)
- [Przibram 1901] PRZIBRAM, Hans: Experimentelle Studien über Regeneration. In: *Development Genes and Evolution* 13 (1901), S. 507–527 (Zitiert auf Seite 13.)

- [de Pury 2006] PURY, S de: *Spuckverhalten und Spuckmuster von Speikobras (Naja pallida und Naja nigricollis)*, Westfälische Wilhelms-Universität Münster, Diploma thesis, 2006 (Zitiert auf Seite 3.)
- [Raabe u. a. 2007] RAABE, D. ; AL-SAWALMIH, A. ; YI, S.B. ; FABRITIUS, H.: Preferred crystallographic texture of [alpha]-chitin as a microscopic and macroscopic design principle of the exoskeleton of the lobster *Homarus americanus*. In: *Acta Biomaterialia* 3 (2007), Nr. 6, S. 882–895 (Zitiert auf Seite 55.)
- [Raabe u. a. 2006] RAABE, D. ; ROMANO, P. ; SACHS, C. ; FABRITIUS, H. ; AL-SAWALMIH, A. ; YI, S.-B. ; SERVOS, G. ; HARTWIG, H.G.: Microstructure and crystallographic texture of the chitin-protein network in the biological composite material of the exoskeleton of the lobster *Homarus americanus*. In: *Materials Science and Engineering: A* 421 (2006), Nr. 1-2, S. 143 – 153 (Zitiert auf Seite 55.)
- [Rasmussen u. a. 1995] RASMUSSEN, Sara ; YOUNG, B. ; KRIMM, Heather: On the spitting behavior in cobras (Serpentes: Elapidae). In: *Journal of Zoology* 237 (1995), S. 27–35 (Zitiert auf Seiten 2, 3, 4, und 89.)
- [Read u. Govind 1997] READ, A. T. ; GOVIND, C. K.: Regeneration and sex-biased transformation of the sexually dimorphic pincer claw in adult snapping shrimps. In: *The Journal of Experimental Zoology* 279 (1997), Nr. 4, S. 356–366 (Zitiert auf Seite 13.)
- [Read u. a. 1991] READ, A. T. ; McTEAGUE, J. A. ; GOVIND, C. K.: Morphology and Behavior of an Unusually Flexible Thoracic Limb in the Snapping Shrimp, *Alpheus heterochelis*. In: *Biol Bull* 181 (1991), Nr. 1, S. 158–168 (Zitiert auf Seite 13.)
- [Riedel u. Janiak 2007] RIEDEL, Erwin ; JANIAK, Christoph: *Anorganische Chemie*. 6. Gruyter, 2007. – 935 S.
- [Ritzmann 1973] RITZMANN, Roy: Snapping Behavior of the Shrimp *Alpheus californiensis*. In: *Science* 181 (1973), Nr. 4098, S. 459–460 (Zitiert auf Seiten 4, 5, 6, 54, und 55.)
- [Ritzmann 1974] RITZMANN, Roy E.: Mechanisms for the snapping behavior of two alpheid shrimp, *Alpheus californiensis* and *Alpheus heterochelis*. In: *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 95 (1974), Nr. 3, S. 217–236 (Zitiert auf Seiten 4, 5, 6, 54, und 55.)

- [Roer u. Dillaman 1984] ROER, Robert ; DILLAMAN, Richard: The Structure and Calcification of the Crustacean Cuticle. In: *American Zoologist* 24 (1984), Januar, Nr. 4, S. 893–909 (Zitiert auf Seiten 53, 55, und 57.)
- [Schöberl u. Jäger 2006] SCHÖBERL, T. ; JÄGER, I.: Wet or Dry - Hardness, Stiffness and Wear Resistance of Biological Materials on the Micron Scale. In: *Advanced Engineering Materials* 8 (2006), Nr. 11, S. 1164–1169
- [Schmitz 2001] *Kapitel* Sound production in Crustacea with special reference to the Alpheidae. In: SCHMITZ, B.: *Physiology of the crustacean nervous system*. Springer Verlag, Berlin, 2001, S. 521–533
- [Schmitz u. Herberholz 1998] SCHMITZ, Barbara ; HERBERHOLZ, Jens: Snapping behaviour in intraspecific agonistic encounters in the snapping shrimp (*Alpheus heterochaelis*). In: *Journal of Biosciences* 23 (1998), S. 623–632 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Schmitz B 1998] SCHMITZ B, Herberholz J.: Snapping movements and laser Doppler anemometry analysis of water jets in the snapping shrimp *Alpheus heterochaelis*. In: *Proceedings of the 26th Göttingen Neurobiology Conference* Bd. 2, 1998, S. 241 (Zitiert auf Seiten 52 und 54.)
- [Schofield 2005] SCHOFIELD, R.M.S. ...: Metal-halogen biomaterials. In: *American Entomologist* 51 (2005), S. 45–47 (Zitiert auf Seite 53.)
- [Schultz u. a. 1998] SCHULTZ, S. ; WUPPERMANN, K. ; SCHMITZ, B.: Behavioural interactions of the snapping shrimp (*Alpheus heterochaelis*) with conspecifics and sympatric crabs (*Eurypanopeus depressus*). In: *Zoology - Analysis of Complex Systems* 101 (1998), S. 85 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Schuster u. a. 2004] SCHUSTER, Stefan ; ROSSEL, Samuel ; SCHMIDTMANN, Annette ; JÄGER, Ilonka ; PORALLA, Julia: Archer fish learn to compensate for complex optical distortions to determine the absolute size of their aerial prey. In: *Current Biology* 14 (2004), S. 1565–1568 (Zitiert auf Seite 1.)
- [Schuster u. a. 2006] SCHUSTER, Stefan ; WÖHL, Saskia ; GRIEBSCHE, Markus ; KLOSTERMEIER, Ina: Animal cognition: How archer fish learn to down rapidly moving targets. In: *Current Biology* 16 (2006), S. 378–383 (Zitiert auf Seite 1.)



- [Segur u. Oberstar 1951] SEGUR, JB ; OBERSTAR, HE: Viscosity of glycerol and its aqueous solutions. In: *Industrial and engineering chemistry* 43 (1951), S. 2117–2120
- [Skinner u. a. 1992] SKINNER, D. M. ; KUMARI, Sindhu S. ; O'BRIEN, J. J.: Proteins of the Crustacean Exoskeleton. In: *American Zoologist* 32 (1992), Januar, Nr. 3, S. 470–484 (Zitiert auf Seiten 53 und 57.)
- [Slowinski u. a. 1997] SLOWINSKI, J.B. ; KNIGHT, A. ; ROONEY, A.P.: Inferring Species Trees from Gene Trees: A Phylogenetic Analysis of the Elapidae (Serpentes) Based on the Amino Acid Sequences of Venom Proteins. In: *Molecular Phylogenetics and Evolution* 8 (1997), Nr. 3, S. 349–362 (Zitiert auf Seiten 4 und 9.)
- [Slowinski u. Wüster 2000] SLOWINSKI, Joseph B. ; WÜSTER, Wolfgang: A new cobra (Elapidae: *Naja*) from Myanmar (Burma). In: *Herpetologica* 56 (2000), Nr. 2, S. 257–270
- [Smith 1936] SMITH, H.M.: The archer fish. In: *Natural History* 38 (1936), S. 2–11 (Zitiert auf Seiten 1 und 2.)
- [Spawls u. Branch 1995] SPAWLS, S. ; BRANCH, B.: *The dangerous snakes of Africa*. Ralph Curtis Books, Sanibel Island, Florida, 1995 (Zitiert auf Seite 90.)
- [Spawls u. a. 2001] SPAWLS, S. ; HOWELL, K. ; DREWES, R. ; ASHE, J.: *A field guide to the reptiles of East Africa*. Academic Press, London, 2001. – 500 S.
- [Sullivan u. Schmitz 1997] SULLIVAN, J. ; SCHMITZ, B.: The mechanosensory system of snapper and pincer claw in snapping shrimp (*Alpheus heterochaelis*). In: *Proceedings of the 25th Göttingen Neurobiology Conference* Bd. 2, 1997, S. 250 (Zitiert auf Seite 52.)
- [Taub 1966] TAUB, A.M.: Ophidian cephalic glands. In: *Journal of Morphology* 118 (1966), S. 52–542 (Zitiert auf Seite 91.)
- [Tipler 1994] TIPLER, P.A.: *Physik*. 1. Spektrum Akademischer Verlag, 1994. – 1522 S. (Zitiert auf Seite 68.)
- [Triep u. a. 2013] TRIEP, Michael ; HESS, David ; CHAVES, Humberto ; BRÜCKER, Christoph ; BALMERT, Alexander ; WESTHOFF, Guido ; BLECKMANN, Horst: 3D flow in the venom channel of a spitting cobra: Do the ridges in the fangs act as fluid guide vanes? In: *PLOS one* 8 (2013), Nr. 5 (Zitiert auf Seiten 90, 93, 97, und 121.)

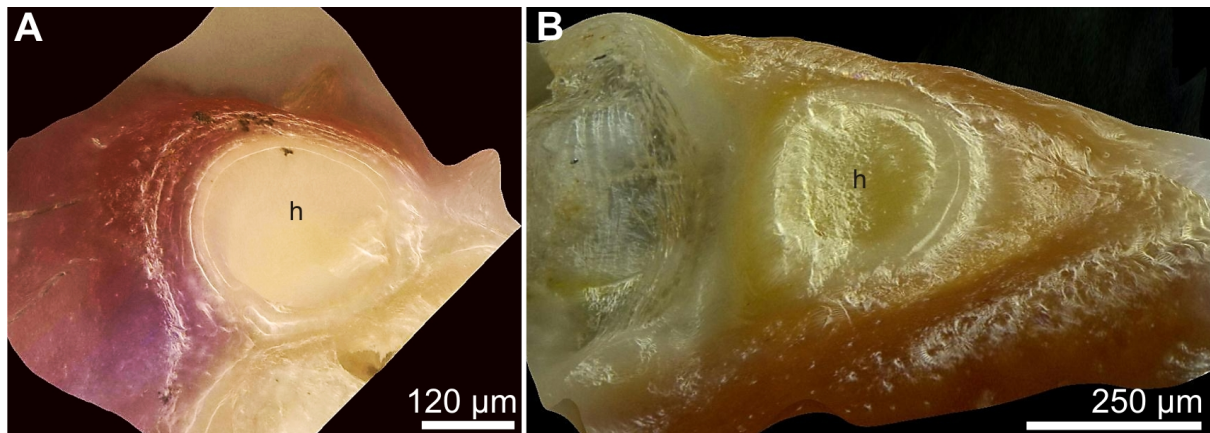
- [Trutnau 1998] TRUTNAU, L.: *Giftschlangen*. Ulmer Verlag, Stuttgart, 1998. – 271 S. (Zitiert auf Seite 10.)
- [Une u. a. 1989] UNE, Yoshie ; UCHINO, Junichi ; HORIE, Takashi ; SATO, Yuji ; OGASAWARA, Kazuhiro ; KAKITA, Akira ; SANO, Fumio: Liver resection using a water jet. In: *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 23 (1989), S. 74–77 (Zitiert auf Seite 8.)
- [Versluis u. a. 2000] VERSLUIS, Michel ; SCHMITZ, Barbara ; HEYDT, Anna von d. ; LOHSE, Detlef: How Snapping Shrimp Snap: Through Cavitating Bubbles. In: *Science* 289 (2000), Nr. 5487, S. 2114–2117 (Zitiert auf Seiten 1, 4, 52, und 54.)
- [Vincent 1990] VINCENT, J.F.V.: *Structural biomaterials*. Princeton University Press, Princeton (NJ), 1990. – 255 S. (Zitiert auf Seiten 53 und 55.)
- [Vincent 2002] VINCENT, Julian F.: Arthropod cuticle: a natural composite shell system. In: *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* 33 (2002), Nr. 10, S. 1311–1315 (Zitiert auf Seiten 53, 55, und 57.)
- [Volz 1938] VOLZ, Peter: Studien über das „Knallen“ der Alpheiden. Nach Untersuchungen an *Alpheus dentipes* (Guerin) und *Synalpheus laevimanus* (Heller). In: *Zoomorphology* 34 (1938), Nr. 2, S. 272–316 (Zitiert auf Seiten 1, 2, 4, 51, und 53.)
- [Warrell u. David Omerod 1976] WARRELL, David A. ; DAVID OMEROD, L.: Snake venom ophthalmia and blindness caused by the spitting cobra *Naja nigricollis* in Nigeria. In: *The American Journal of Hygiene* 25 (1976), Nr. 3, S. 525–529 (Zitiert auf Seite 3.)
- [Westhoff u. a. 2005] WESTHOFF, Guido ; TZSCHÄTZSCH, Katja ; BLECKMANN, Horst: The spitting behavior of two species of spitting cobras. In: *Journal of Comparative Physiology A* 191 (2005), S. 873–881 (Zitiert auf Seite 93.)
- [Wichard u. a. 1995] WICHARD, W. ; ARENS, W. ; EISENBEIS, G.: *Atlas zur Biologie der Wasserinsekten*. Stuttgart : Gustav Fischer Verlag, 1995. – 338 S. (Zitiert auf Seite 15.)
- [Wilson 1903] WILSON, Edmund B.: Notes on the Reversal of Asymmetry in the Regeneration of the Chelae in *Alpheus heterochelis*. In: *Biological Bulletin* 4 (1903), Nr. 4, S. 197–210 (Zitiert auf Seite 13.)

- [Wüster u. Thorpe 1994] WÜSTER, W. ; THORPE, R. S.: *Naja siamensis*, a cryptic species of venomous snake revealed by mtDNA sequencing. In: *Experimentia* 50 (1994), S. 75–79 (Zitiert auf Seite 10.)
- [Wüster 1996] WÜSTER, Wolfgang: Taxonomic changes and toxicology: systematic revision of the asiatic cobras (*Naja naja* species complex). In: *Toxicon* 34 (1996), Nr. 4, S. 399–406 (Zitiert auf Seite 10.)
- [Wüster u. a. 2007] WÜSTER, Wolfgang ; CROOKES, Steven ; INEICH, Ivan ; MANÉ, Yous-souph ; POOK, Catharine E. ; TRAPE, Jean-François ; BROADLEY, Donald G.: The phylogeny of cobras inferred from mitochondrial DNA sequences: Evolution of venom spitting and the phylogeography of the African spitting cobras (Serpentes: Elapidae: *Naja nigricollis* complex). In: *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45 (2007), Nr. 2, S. 437–453 (Zitiert auf Seiten 3, 4, und 9.)
- [Wüster u. Thorpe 1992] WÜSTER, Wolfgang ; THORPE, Roger S.: Dentitional phenomena in cobras revisited: Spitting and fang structure in the asiatic species of *Naja* (Serpentes: Elapidae). In: *Herpetologica* 48 (1992), Nr. 4, S. 424–434 (Zitiert auf Seiten 1, 4, 9, und 92.)
- [Young u. a. 2008] YOUNG, Bruce A. ; BOETIG, Melissa ; WESTHOFF, Guido: Functional Bases of the Spatial Dispersal of Venom during Cobra Spitting. In: *Physiological and Biochemical Zoology* 82 (2008), Nr. 1, S. 80–89 (Zitiert auf Seiten 4, 89, und 92.)
- [Young u. a. 2004] YOUNG, Bruce A. ; DUNLAP, Karen ; KOENIG, Kristen ; SINGER, Meredith: The buccal buckle: the functional morphology of venom spitting in cobras. In: *Journal of Experimental Biology* 207 (2004), Nr. 20, S. 3483–3494 (Zitiert auf Seiten 3, 4, 89, und 91.)
- [Young u. a. 2011] YOUNG, Bruce A. ; HERZOG, Florian ; FRIEDEL, Paul ; RAMMENSEE, Sebastian ; BAUSCH, Andreas ; HEMMEN, J. L.: Tears of Venom: Hydrodynamics of Reptilian Envenomation. In: *Physical Review Letter* 106 (2011), Nr. 19, S. 198103 (Zitiert auf Seite 87.)

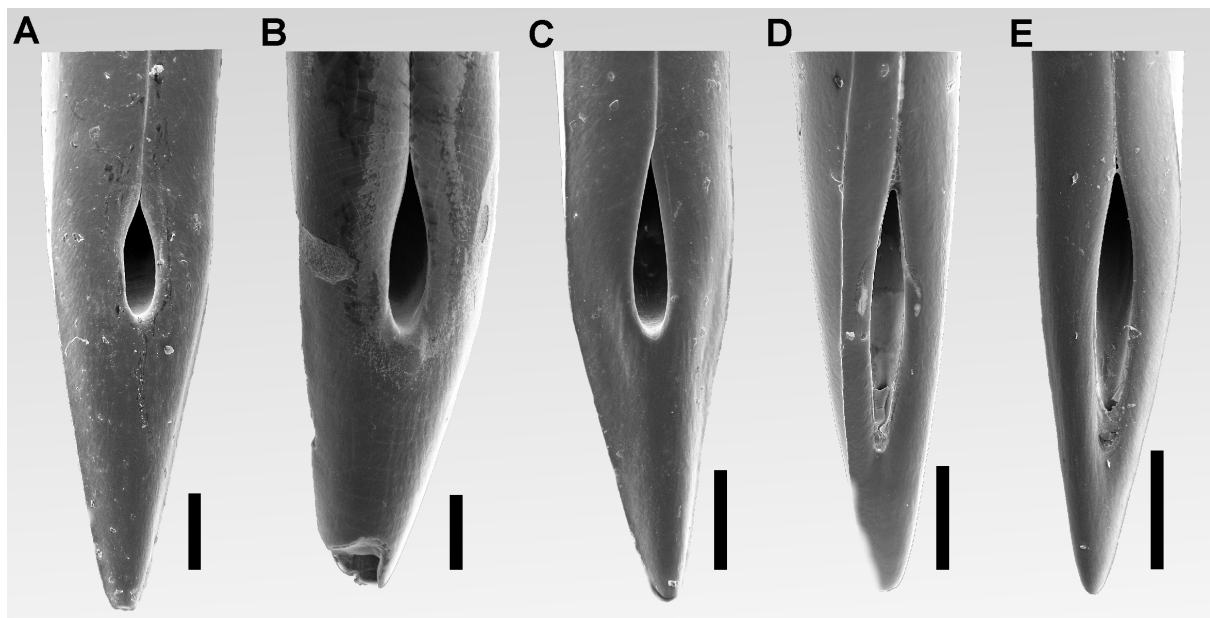


# Anhang

---



**Abbildung 1.:** Aufnahme der Haftscheiben (h) auf Propodus (A) und Dactylus (B) von *A. randalli* mit dem 3d-Mikroskop. Die räumliche Darstellung ist eine Kombination von Einzelbildern die in verschiedenen Ebenen der Probe aufgenommen worden. Die Haftstruktur auf dem Propodus besitzt eine insgesamt leicht konvexe Form, während die Haftstruktur auf dem Dactylus in dieser Darstellung leicht konkav erscheint.



**Abbildung 2.:** REM-Aufnahmen der Austrittsöffnungen der Kobra-Giftzähne. A. *N. pallida*. B. *N. nigricollis*. C. *N. siamensis*. D. *N. kaouthia*. E. *N. naja*. Maßstabsbalken: (A) 500 µm, (B) 400 µm, (C) 300 µm, (D) 300 µm, (E) 500 µm.

## Publikation „3D Flow in the Venom Channel of a Spitting Cobra“

Auf den folgenden Seiten findet sich eine vollständige Kopie einer bereits veröffentlichten Publikation zu einem Teil der Doktorarbeit ([Triep u. a., 2013](#)). Die Publikation erschien 2013 in der Zeitschrift PLOSone und ist frei online verfügbar.

# 3D Flow in the Venom Channel of a Spitting Cobra: Do the Ridges in the Fangs Act as Fluid Guide Vanes?

Michael Triep<sup>1\*</sup>, David Hess<sup>1</sup>, Humberto Chaves<sup>1</sup>, Christoph Brücker<sup>1</sup>, Alexander Balmert<sup>2</sup>, Guido Westhoff<sup>2</sup>, Horst Bleckmann<sup>2</sup>

**1** Institut für Mechanik und Fluidodynamik, TU Bergakademie Freiberg, Freiberg, Germany, **2** Institut für Zoologie, Universität Bonn, Bonn, Germany

## Abstract

The spitting cobra *Naja pallida* can eject its venom towards an offender from a distance of up to two meters. The aim of this study was to understand the mechanisms responsible for the relatively large distance covered by the venom jet although the venom channel is only of micro-scale. Therefore, we analysed factors that influence secondary flow and pressure drop in the venom channel, which include the physical-chemical properties of venom liquid and the morphology of the venom channel. The cobra venom showed shear-reducing properties and the venom channel had paired ridges that span from the last third of the channel to its distal end, terminating laterally and in close proximity to the discharge orifice. To analyze the functional significance of these ridges we generated a numerical and an experimental model of the venom channel. Computational fluid dynamics (CFD) and Particle-Image Velocimetry (PIV) revealed that the paired interior ridges shape the flow structure upstream of the sharp 90° bend at the distal end. The occurrence of secondary flow structures resembling Dean-type vortical structures in the venom channel can be observed, which induce additional pressure loss. Comparing a venom channel featuring ridges with an identical channel featuring no ridges, one can observe a reduction of pressure loss of about 30%. Therefore it is concluded that the function of the ridges is similar to guide vanes used by engineers to reduce pressure loss in curved flow channels.

**Citation:** Triep M, Hess D, Chaves H, Brücker C, Balmert A, et al. (2013) 3D Flow in the Venom Channel of a Spitting Cobra: Do the Ridges in the Fangs Act as Fluid Guide Vanes? PLoS ONE 8(5): e61548. doi:10.1371/journal.pone.0061548

**Editor:** James P. Brody, University of California, Irvine, United States of America

**Received:** January 2, 2013; **Accepted:** March 12, 2013; **Published:** May 6, 2013

**Copyright:** © 2013 Triep et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This study was supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (BR 1494/16-1 and BL 242/17-1). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: Michael.Triep@imfd.tu-freiberg.de

## Introduction

Spitting cobras belong to the Elapidae, a large family of venomous snakes that includes mambas, taipans, and death adders (e.g., [1]). Several species of African and Asian spitting cobras of the genera *Naja* and *Hemachatus* expel their venom as a fast, pulsed stream that leaves the fangs at a nearly right angle [2], [3]. The spitting behaviour of cobras evolved independently among different cobra species [4], [5]. Venom spitting is used as a defensive strategy against vertebrates [2], [3], [6]. The venom stream is aimed at the face of an offender, where the venom causes severe pain if it hits the eyes [7], [8], [9]. Spitting cobras not only aim at a target but in addition adjust their venom distribution to target distance by rapid head movements [10]. The venom delivery system of spitting cobras possesses several morphological adaptations, distinguishing them from non-spitting cobra species. The discharge orifice for example has a more circular shape, enabling them to expel the venom forward rather than downward [2], [6]. Hence, the venom travels through a sharp 90° bend before leaving the fang. Furthermore, the venom channel of the fang has ridges that are unique to spitting cobras. These usually paired ridges span from the last third of the total length of the venom channel to its distal end, and end just before the sharp 90° bend that redirects the flow towards the discharge orifice [11]. Most likely, the ridges are an adaptation to the requirements of venom spitting because they are not found in non-spitting cobras

[9]. Other biological systems where a high-speed jet occurs can be found in the archerfish and the snapping shrimp. The archerfish can shape the tongue in a way that a channel is formed. In a similar manner the claws of a snapping shrimp have a tapered V-shaped structure. Two technical applications of high-speed jets with relevance to our investigations are the medical-surgical water knife and fuel injection systems with a sharp bend. The aim of this study was to investigate the function of the ridges in the venom channel of the spitting cobra *Naja pallida*, to determine how the venom jet is generated and what level of pressure loss must be compensated for by the venom gland contraction to achieve high jet velocities at the exit. Our focus lied on the establishment of secondary flow in the channel, specifically with respect to secondary flow in curved passages (Dean vortices, [12]) and its influence on pressure loss. Next, the fluid-dynamic model of the venom channel is described. Thereafter, the numerical and experimental methods of the present study are delineated. Finally, the results are presented and discussed.

## Materials and Methods

### Investigation of the venom properties and morphology of the venom channel

Adult spitting cobras (*Naja pallida*,  $N=7$ ) were kept in glass containers at a temperature of 20–27°C and a humidity of at least 70%. *Naja pallida* were captive bred. All snakes were regularly fed



**Table 1.** Parameters used for the CFD study.

Geometry	$d_{\text{inlet}} = 500\mu\text{m}$
	$R_{\text{curv}} = 300\mu\text{m}$
	$L_{\text{channel}} = 5\text{mm}$
Flow parameters	Case 1 & Case 2
	$\Delta V_{\text{venom}} = 0.01\text{ml}$
	$\Delta t_{\text{venom}} = 40\text{ms}$

doi:10.1371/journal.pone.0061548.t001

with small to medium sized live rodents and given water ad libitum. An authorization to house the cobras has been obtained. All animals were housed at the Institute of Zoology of the University of Bonn in accordance with regional laws to the keeping of venomous snakes as well as applying rules for laboratory animals. We did not have IACUC approval of experiments which is neither required nor a common procedure for experiments in Europe. All experiments were according to the Principles of Animal Care. Animals were not anaesthetized. Snakes were gently held behind the neck before a jar covered with a para-film was presented in front of their mouth. The snakes readily bit through the para-film injected their venom into the jar. After milking, the venom is immediately transferred into small plastic vessels (Eppendorf GmbH, Germany). The volume of venom yielded in each milking process is measured. Plastic vessels are stored at 10°C to prevent any decay of the venom until measurement. Venomous snakes substitute their fangs every 6–8 weeks. Thus, the snakes' mouths were inspected every 4–6 weeks in order to pick the substituted fang. The substituted fang normally gets lost out of the fang membranes with the snakes next meal. We picked the loose fang out of the membranes with a forceps, cleaned in an ultrasonic cleaner and air-dried for the morphological investigations. For each individual, the viscosity of the venom is measured in a rotational rheometer (Bohlin Gemini 2, Bohlin Ltd., USA). The venom is transferred directly into the specimen chamber of the rheometer. The specimen chamber is immediately closed and sealed with a special solvent trap to prevent dehydration of the venom. For each measurement, a volume of about 150  $\mu\text{l}$  venom

**Table 2.** Parameters of the scaled-up (56:1) model case.

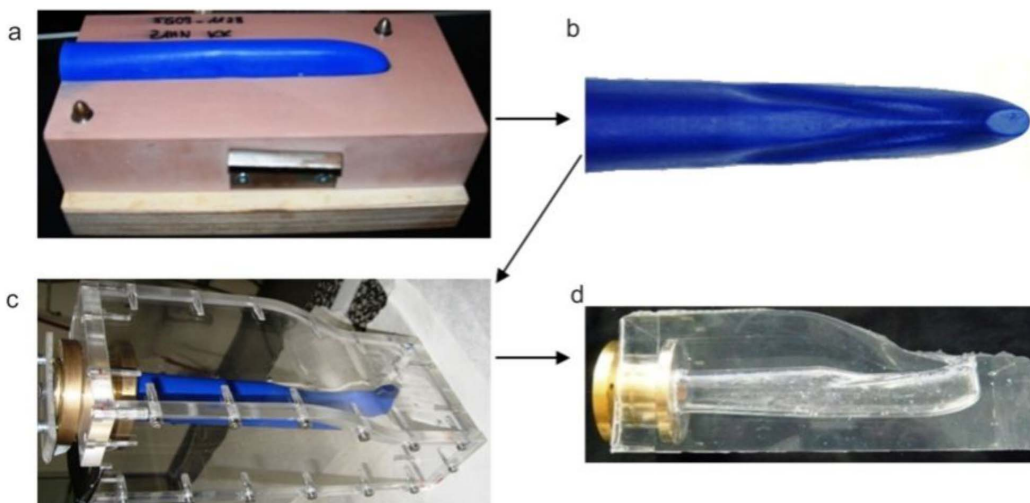
Geometry	$d_{\text{inlet}} = 28\text{mm}$
	$R_{\text{curv}} = 16.8\text{mm}$
	$L_{\text{channel}} = 280\text{mm}$
Medium	$\rho_{\text{water-glycerine, } 20^\circ\text{C}} = 1146\text{kg/m}^3$
	$\mu_{\text{water-glycerine, } 20^\circ\text{C}} = 9.6\text{ mPa}\cdot\text{s}$
Flow velocity	$u_{\text{inlet}} = 0.015\text{ m/s}$

doi:10.1371/journal.pone.0061548.t002

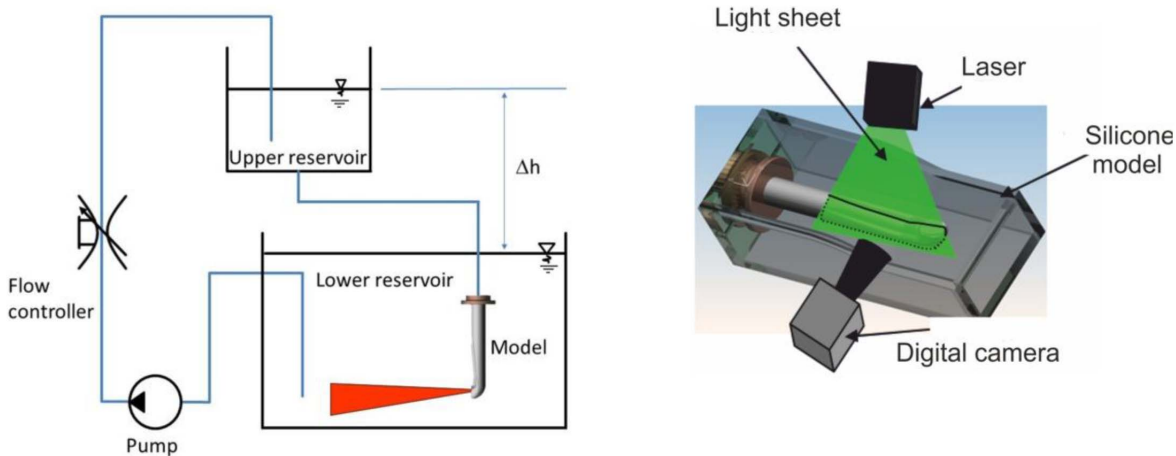
liquid is used. Measurements were conducted at a temperature of 20°C and at continuously increasing shear. Measurements lasted for about 15 minutes. They were repeated three times (with breaks of five minutes in between two measurements) to verify that the values were reproducible.

The surface tension of the venom was measured in a tensiometer (OCA 30, DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt, Germany) at 20°C. About 100  $\mu\text{l}$  of venom was filled into a syringe connected to a cannula (radius 1 mm). Small droplets of venom were pumped out of the cannula to create a hanging droplet. The droplet was photographed with the OCA camera and its surface tension was calculated with the OCA software. Fifteen measurements were made for each of two individuals. In addition, the venom was weighed with a high precision scale (Bp 110 S, Sartorius AG, Germany). Thereafter, the density  $\rho$  of the venom was calculated according to the equation  $\rho = G/V$ , with  $G$  = weight and  $V$  = volume. All measurements were conducted at 20°C room temperature and normal air pressure. Density was expressed in  $\text{g cm}^{-3}$ . Ten measurements were made for each individual ( $N = 2$ ).

The fangs of the spitting cobra were placed in a small plastic vessel and stabilized with cotton wadding. The fangs were scanned from tip to base with a micro-computer tomograph (MCT,  $\mu\text{CT}$  20, Scanco, Bassersdorf, Germany) and visualized in three-dimensions with the software Amira® (Amirasoft Ltd., Germany). Also, scanning electron microscopy (SEM) was used as a control for the resolution of the MCT data. For scanning electron

**Figure 1.** Steps for the generation of the model: mold for wax model (a), cast-wax model (b), Plexiglas casing (c), transparent-silicone model (d).

doi:10.1371/journal.pone.0061548.g001



**Figure 2. Flow circuit (left) arrangement for flow measurements inside the model of the fang (right).**  
doi:10.1371/journal.pone.0061548.g002

microscopy, we prepared a parasagittal section of dried fangs by using a diamond drill to expose the venom channel. The fangs were placed on aluminum stabs using a liquid conductant graphite. Afterwards fangs were sputter-coated with silver and scanned in a Cambridge Stereoscan Microscope (Cambridge Instruments, Oxford, England).

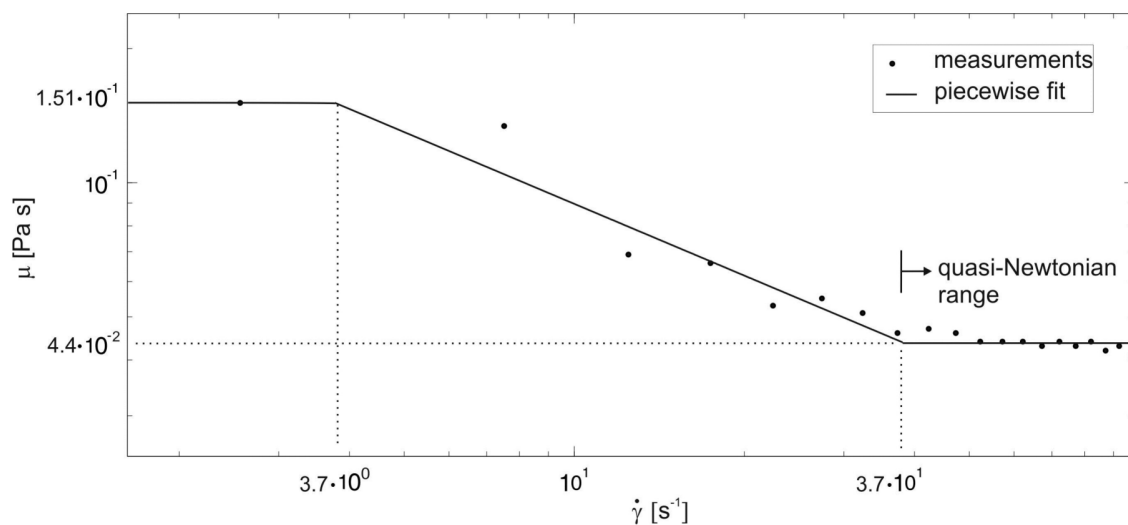
**The fluid-dynamical model of the venom channel**

Venom-gland contraction provides the only force for venom expulsion [13], [14]. Young et al. [15] measured the venom pressure at the fang tips of a spitting cobra (*N. pallida*). While this has been done successfully in the past, it is impossible to measure in vivo the pressure build-up at the entrance of the venom channel. This information – which is important for the analysis of the flow in the fang model – can, however, be obtained with a numerical simulation, provided that the geometry of the venom channel and the flow rates of the venom are known. Therefore, the real venom channel was transferred into a model with the aid of computer micro-tomography. The 3D structure of the channel in

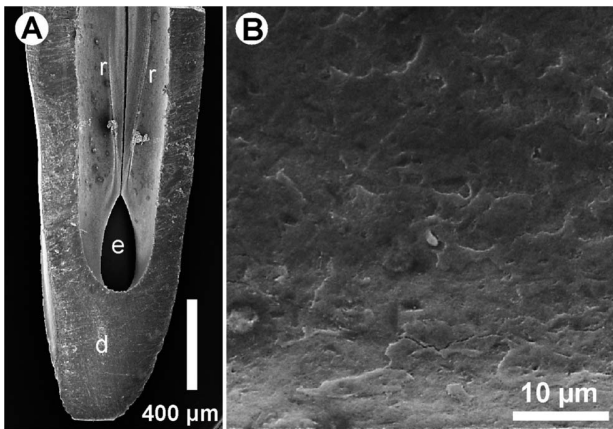
the model was first reconstructed from the images of the cross-sections of a cobra fang and then smoothed mathematically. Due to its complex geometry the channel was subdivided along its long axis into three parts (cf. results section). The 3D computer-aided design model of the venom channel was created and transferred into a computational grid using a grid generation tool (ANSYS 12.1 ICEM CFD, see Appendix S1). The venom was treated as incompressible non-Newtonian fluid. A standard approach to describe the rheological behavior of non-Newtonian media with a shear-thinning behavior is the power-law model [16], which was applied to the current data (see below and Eq. 1) both with lower ( $\mu_{\text{venom min}}$ ) and upper ( $\mu_{\text{venom max}}$ ) bounds for the dynamic viscosity.

Power-law model :  $\mu_{\text{min}} < \mu < \mu_{\text{max}}$  with  $\mu = k \cdot \dot{\gamma}^{(n-1)}$  (1)

Herein,  $\dot{\gamma}$  is the shear rate. The parameters of the model are adapted from the rheological measurements as follows: the minimum and the maximum dynamic viscosity bounds are



**Figure 3. Average viscosities of the venom of *N. pallida* (dots) as function of shear rate  $\dot{\gamma}$  ( $s^{-1}$ ) expressed on a logarithmic scale.** Note that the viscosity decreased with increasing shear rate and remained nearly constant for shear rates  $> 3.7 \cdot 10^1 s^{-1}$ .  
doi:10.1371/journal.pone.0061548.g003



**Figure 4. SEM image of a parasagittal section (d=dentin) of a *N. pallida* fang.** (A) The exit orifice (e) as well as the symmetrical ridges (r) are displayed. (B) SEM image of the inner surface of the channel in high magnification. The surface is smooth in the micron dimension. No microstructures are visible that might affect the venom flow. doi:10.1371/journal.pone.0061548.g004

$\mu_{\text{venom,min}} \approx 44 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  and  $\mu_{\text{venom,max}} \approx 151 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ , the consistency index is  $k = 0.3073$  and the power-law index is  $n = 0.465$ .

The flow regime was assumed to be laminar because the channel geometry was of micro-scale. This is justified by estimation of the maximum Reynolds number defined for a hypothetical Newtonian case when the minimum value of dynamic viscosity  $\mu_{\text{min}}$  is used and the characteristic streamwise velocity  $u_{\text{inlet}}$  at the channel inlet with an equivalent diameter of  $d_{\text{inlet}}$ . The Reynolds number, which defines the ratio of inertial forces to viscous forces in the fluid [17] reads as follows:

$$\text{Re}_{\text{max}} = \frac{\rho u_{\text{inlet}} d_{\text{inlet}}}{\mu_{\text{min}}} < O(10^2) \quad (2)$$

with the characteristic velocity in the channel inlet given by  $u_{\text{inlet}} = \frac{4}{\pi} \cdot \frac{\Delta V_{\text{venom}}}{\Delta t_{\text{venom}} \cdot d_{\text{inlet}}^2}$ . Herein,  $\Delta t$  is the total venom expelling period,  $\Delta V$  is the venom volume during one spit, and  $d_{\text{inlet}}$  is the inlet diameter of the channel when the cross-sectional area is calculated with a circular shape. The parameter  $\rho$  is the density of

the venom. The resulting Reynolds number,  $\text{Re}_{\text{max}}$ , attains values of less than 100 which is well below the critical Reynolds number of  $\text{Re}_{\text{crit}} = 2300$ , where turbulence is observed to start in channel flows [17]. Therefore, no turbulence model needs to be taken into account in the flow simulations.

A further dimensionless number to be taken into account is the so-called Strouhal number which is defined as the ratio of the characteristic time scale of the fluid, the time a fluid element needs to travel along the channel relative to the total expelling time period:

$$\text{Sr} = \frac{L_{\text{channel}}/u_{\text{inlet}}}{\Delta t} \ll 1 \quad (3)$$

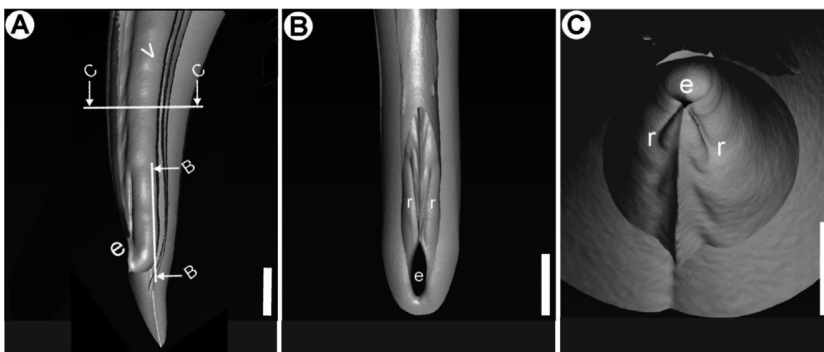
where  $L_{\text{channel}}$  is the length of the venom channel. When the Strouhal number is well below unity [17] the flow process can be regarded as quasi-steady. The Strouhal number for the case of the venom channel flow has a value about  $\text{Sr} = 0.02$ . Therefore, steady-state simulations of the flow were justified. As a consequence, each phase in the flow pulse can be simulated independently. In our simulations we concentrated only on the peak flow situation where the maximum velocity is reached in the venom channel during the spitting process.

An a-priori estimation of the possible existence of secondary flow structures in the venom channel due to the strong curvature of the bend at the distal end can be discussed by means of the so-called Dean number, which has been deduced from the centrifugal flow instability in curved pipe flows [12]. The non-dimensional Dean number ( $\text{Dn}$ ) characterizes the influence of these instabilities on the generation of secondary flows in a curved bend

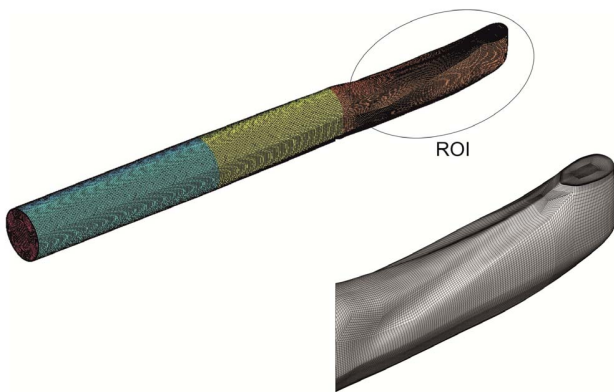
$$\text{Dn} = \text{Re}_{\text{max}} \left( \frac{d_{\text{inlet}}}{2 \cdot R_{\text{curv}}} \right)^{1/2} = O(10^2) \quad (4)$$

where  $R_{\text{curv}}$  denotes the curvature of the bend. The Dean number, in the case of curved venom channel flow, is on the order of 100 when we use the curvature radius of the sharp bend at the distal end of the channel as a representative value (compare Table 1, see below). Because the Dean number is not low, we expect to see secondary flow structures in the results of the simulations.

For a validation of the numerical simulations, a transparent experimental model was created. The model was scaled up 56:1 to ease visualization of flow features. A water/glycerine mixture was



**Figure 5. 3d-reconstruction of a *N. pallida* fang obtained from MCT data.** (A) Lateral view into the venom channel (v). The cutting planes and viewing angles of images B and C are indicated. (B) Dorsal view towards the exit orifice (e). Note the symmetrical ridges (r) above the exit orifice. (C) View from the middle of the venom channel towards the exit orifice, which is oriented downwards in this view. Scale bars: 500 µm (A, B) and 200 µm (C). doi:10.1371/journal.pone.0061548.g005



**Figure 6. Computational domain and mesh topology in the region of interest (ROI) of the venom channel.**  
doi:10.1371/journal.pone.0061548.g006

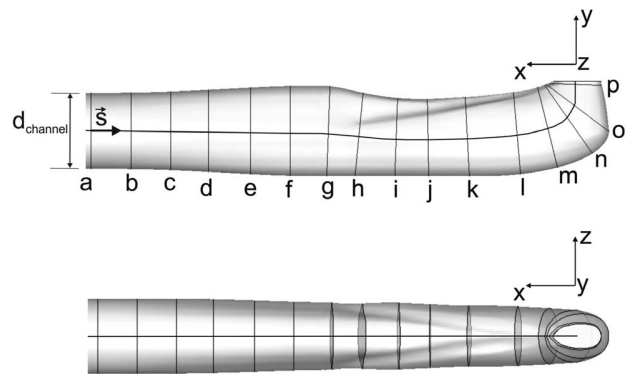
chosen to match the refractive index of the transparent material of the model. The fluid exhibited Newtonian behaviour; therefore, the numerical model described in the last section was validated for the Newtonian case. In order to ensure similarity of the flow structures in the model experiment and the validation simulations, the Reynolds number was set equal. The resulting parameters of the flow in the scaled-up model are summarized in Table 2.

The steps for the generation of the transparent model are given in Fig. 1. With the aid of the MCT-data, a negative form was created out of wax. In a further step, silicon was casted around the wax form and the wax then removed, resulting in a transparent model of the cobra's venom channel. The experimental measurements were carried out in the test facility described in Fig. 2 and below. The facility consisted of an upper and a lower reservoir, which were interconnected on one side by the feed flow and on the other side by the return flow. The silicone model was integrated into the lower reservoir and supplied by the liquid from the upper reservoir. To assure constant inflow and outflow conditions, the height difference  $\Delta h$  between the two reservoirs was kept constant. A light sheet (about 2 mm thick) was generated by a laser (New Wave, Pegasus, high-speed, dual cavity, 10 mJ @1 kHz) and light sheet optics. The particles (Vestosint, Evonik Degussa GmbH, mean diameter 20  $\mu\text{m}$ ) in the flow were illuminated by the laser sheet and filmed with a high-speed camera (Photron, APX RS , 1024 $\times$ 1024pix<sup>2</sup> @ max 3000 fps), which was arranged perpendicular to the light sheet. An area of about 50 $\times$ 50 mm was captured with a separation time of 200  $\mu\text{s}$  at 1000 Hz. The post-processing of all numerical and experimental results was carried out in TECPLOT 360 (Tecplot Inc.).

**Table 3. Boundary conditions used for the simulations.**

boundary	Variable	Type	condition
inlet	velocity	Dirichlet	$\vec{u}_{in} = u$
	pressure	Neumann	$\vec{n} \cdot \nabla p = 0$
outlet	velocity	Neumann	$\vec{n} \cdot \nabla \vec{u} = 0$
	pressure	Dirichlet	$p = 0$
wall	velocity	Dirichlet	$\vec{u}_{wall} = 0$
	pressure	Neumann	$\vec{n} \cdot \nabla p = 0$

doi:10.1371/journal.pone.0061548.t003



**Figure 7. Cross-section positions at various downstream locations: lateral (top) and top view (bottom).** *s* indicates the midline of the channel. Note the curvature of the midline in the top graph.  
doi:10.1371/journal.pone.0061548.g007

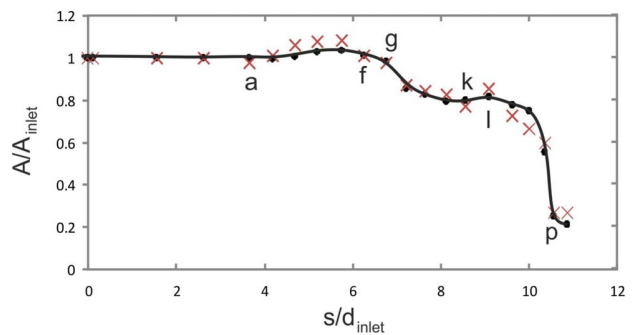
**Results**

**Physical-chemical properties of the venom**

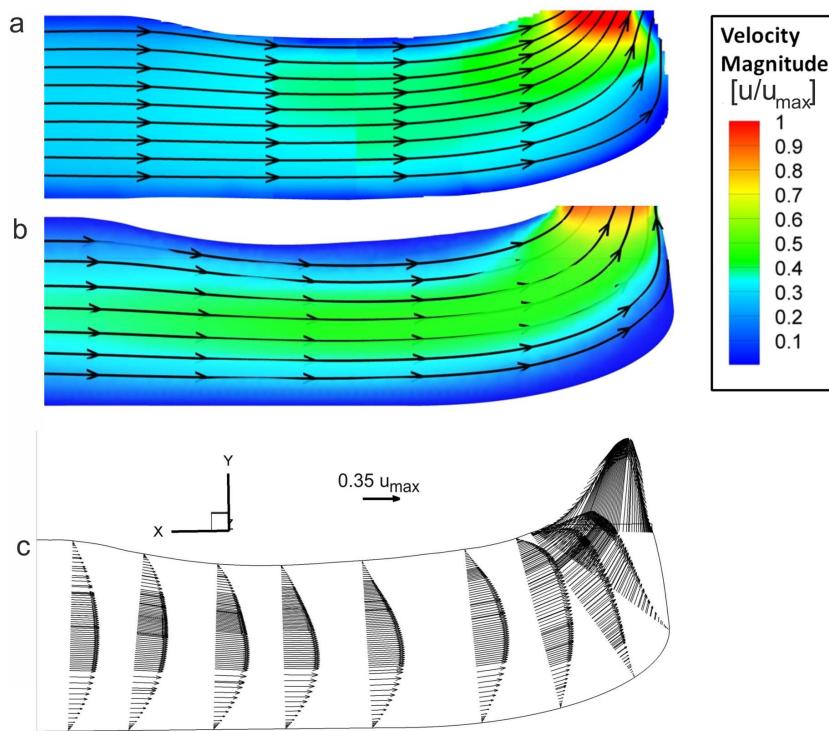
For the determination of the physical-chemical properties of the venom, each cobra ( $N = 7$ ) was milked two to three times. The venom volume obtained in a single milking process was  $0.46 \text{ ml} \pm 0.13 \text{ ml}$ . At low shear rates, viscosity was high, usually between 0.1 and 1.1 Pa s. For shear rates lower than about  $37 \text{ s}^{-1}$ , a shear thinning behavior was observed (Fig. 3). For higher shear rates, the viscosity did not change and remained in a quasi-Newtonian range. The minimum and the maximum dynamic viscosity bounds are  $\mu_{\text{venom,min}} \approx 44 \text{ mPa}\cdot\text{s}$  and  $\mu_{\text{venom,max}} \approx 151 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ . Viscosity values were comparable when successive measurements were performed on the same sample (the time interval between measurements was five minutes). The surface tension of the cobra venom was lower ( $60 \text{ mN/m} \pm 5 \text{ mN/m}$ ) than the surface tension of water ( $20^\circ\text{C}$ ,  $70 \text{ mN/m}$ ). The density of the venom was  $1084 \text{ kg/m}^3 \pm 25 \text{ kg/m}^3$ . This value is close to the density of water ( $1000 \text{ kg/m}^3$ ), whereas the viscosity in the Newtonian range was 44 times higher than the viscosity of water.

**Spitting volume and spitting period**

These data were taken from earlier studies in our group and were cross-checked with new experiments. A single spit of *N. pallida*



**Figure 8. Normalized cross sectional area along the midline (*s*) of the channel.** Solid line/dots: venom channel with ridges; crosses: venom channel without ridges (reference case);  $A_{inlet} = 1.963e-07 \text{ m}^2$ ; a to p: Positions of cross sections are indicated in Fig. 7.  
doi:10.1371/journal.pone.0061548.g008



**Figure 9. PIV measurements of the flow (A) and CFD results of the venom flow (B).** Graphs show sectional streamlines in the mid-coronal cross-section and the contour of the velocity magnitude. (C) CFD result: vectors indicate the streamwise velocity profiles. A transformation of the velocity profile along the venom channel is visible.  
doi:10.1371/journal.pone.0061548.g009

contains at least 2% of the venom gland volume (see also below, [18], [15], [19]). At each milking process, we obtained an average volume of 0.5 ml (see results), which we assumed to be the average venom gland volume. A single spit can therefore have a volume of at least 0.01 ml up to about 0.5 ml that is expelled in 40/70 ms [11], [15]. However, our assumption was that a spitting cobra will not eject all its venom in one spitting act. Therefore, we estimated the maximum volume of a venom jet to be 0.1 ml. An average of 40 ms was taken as a reference value for the spitting time.

### Morphology of the venom channel

The MCT scans delivered a sufficiently high resolution of the venom channel of the cobra fangs. Average voxel size was  $7 \mu\text{m}^3$  with high contrast. All characteristic structures, like the prominent ridges that were visible in the SEM (Fig. 4), were also visible in the MCT Scans (cf. Fig. 5). The venom channel of *N. pallida* featured two internal ridges on the ventral surface and a sharp and tapered turn close to its exit. The ridges were symmetrical and protruded up to  $50 \mu\text{m}$  into the channel lumen. They covered about 1/5 of the channel length. Besides the ridges, the surface of the venom channel was rather smooth and did not contain any microstructures in the SEM (Fig. 4). The 3D structure of the venom channel of a cobra fang was reconstructed from the images of cross-sections and then smoothed mathematically. This geometry of the venom channel is then used for the flow studies as internal channel configuration.

### CFD simulations

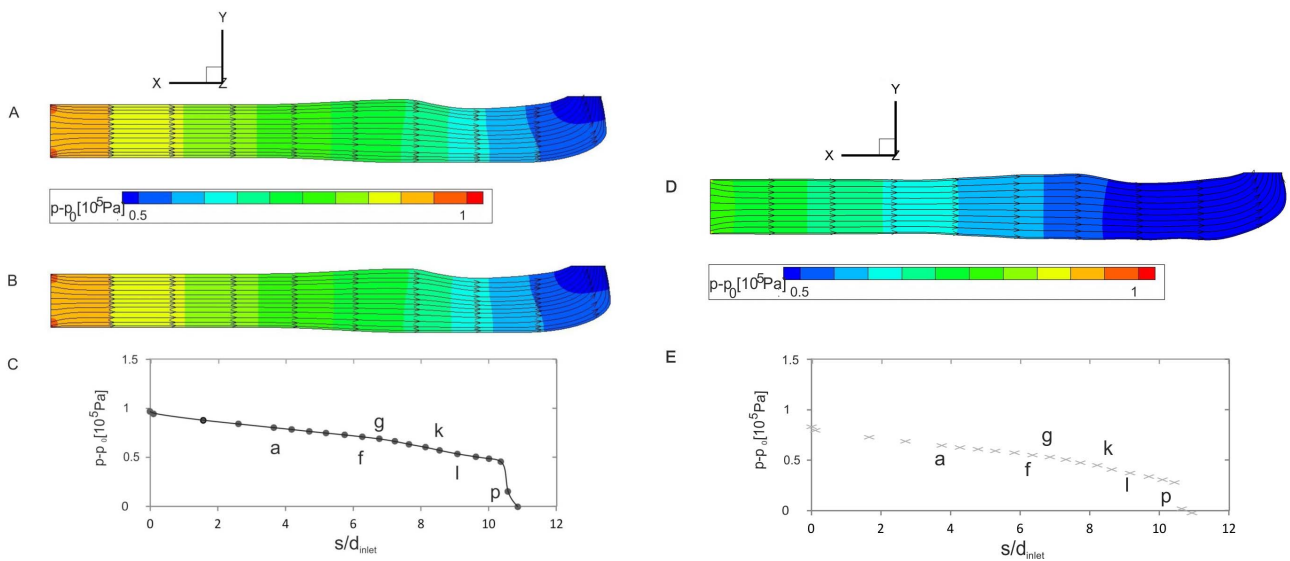
The numerical flow simulation using CFD was performed with the commercial software FLUENT (ANSYS Inc., see Appendix S1). Boundary conditions were applied in agreement with the

experimental investigations and the original case (see Table 3). For a prescribed flow, we obtain the pressure difference  $\Delta p$  between inlet and outlet boundary. In the CFD simulations the outlet pressure is set to zero as a reference value. For the CFD simulations, fluid properties and the mean flow velocities were obtained from the spitting tests (see Table 1). The computational domain, as marked in Fig. 6, includes three segments: a circular inflow tube, a transitional region which fits smoothly the tube with the inlet of the venom channel and finally the venom channel with the region of interest consisting of the two ridges and a tapered bend at the exit to the ambient. This geometry is referenced in the following as Case 1. Another geometry of the venom channel was generated as a reference case (Case 2) where the ridges are removed while keeping all other inner geometries and scales the same as in Case 1. This allows us to compare the flow structures in the venom channel with ridges against the same venom flow channel but without ridges.

**Table 4.** Calculated pressure and velocity values for Cases 1 and 2.

	Case 1	Case 2 (reference)
$\Delta p_{\text{inlet-outlet}}$ ( $10^6$ Pa)	0.1140	0.0960
$ \bar{u}_{\text{max}} $ (m/s)	9.27	7.43
$ \bar{u}_{\text{outlet}} $ (m/s)	6.32	4.98
$\zeta$	4.307	6.207

doi:10.1371/journal.pone.0061548.t004



**Figure 10. Flow along the venom channel.** Case 1: pressure distribution and streamlines in the frontal midplane for the Newtonian (A) and the non-Newtonian case (B). (C) Integral pressure in the sections along the midline  $s$  of the channel for the Newtonian case (cf. Fig. 7). Reference case: pressure distribution and streamlines in the frontal midplane for the Newtonian (Case 2 = reference) case (D). (E) Integral pressure in sections along the midline  $s$  of the venom channel (cf. Fig. 7). doi:10.1371/journal.pone.0061548.g010

Due to its complex geometry, the channel (cf. Fig. 7) was subdivided into three parts:

Part 1 (a–f): comprising transition from circular to quasi-elliptic cross-section.

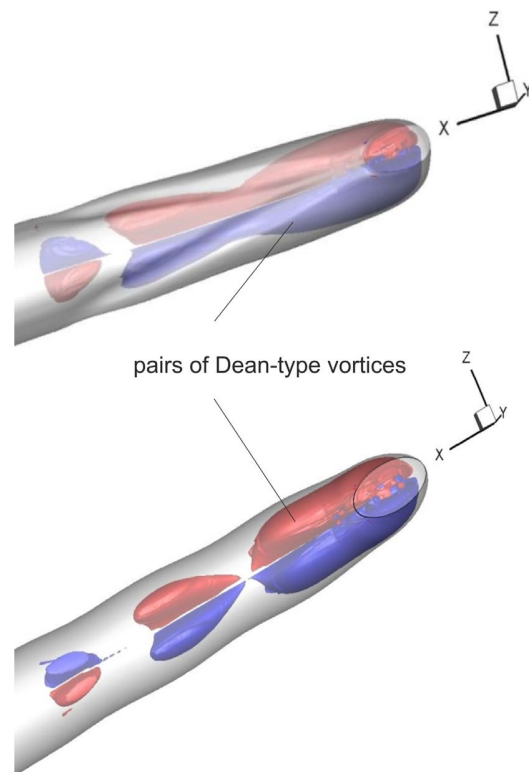
Part 2 (g–k): where the influence of the curvature and the two ridges on the flow is expected.

Part 3 (l–p): including a sharp turn bend with a tapered cross-section.

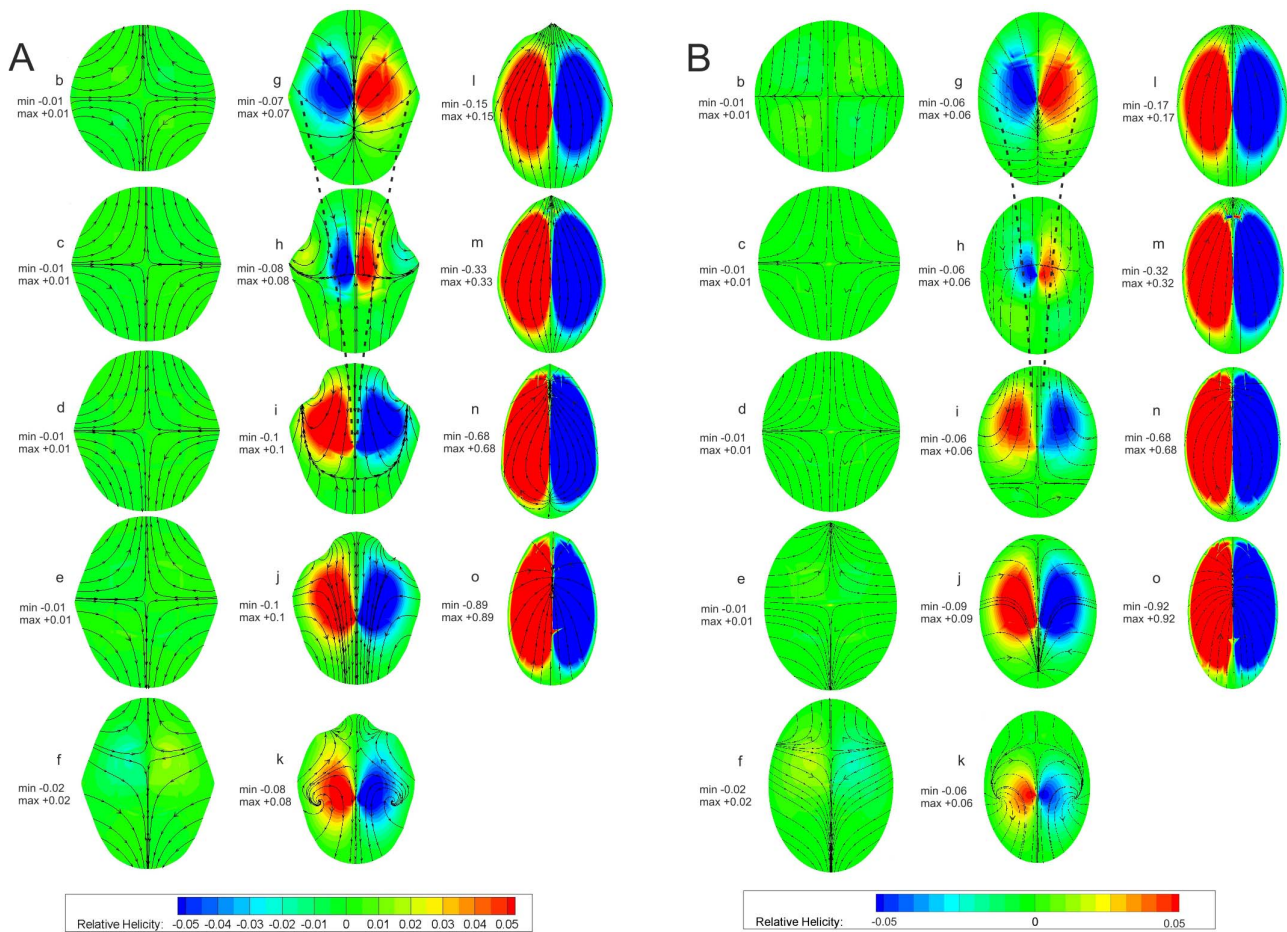
Fig. 8 shows the changes in the cross-sectional area  $A$  of the venom channel. The values are made dimensionless by dividing  $A$  by  $A_{inlet}$  of the cross-section at the inlet. Dots correspond to the discretized locations along the midline of the channel shown in Fig. 7. The graph shows two taperings within the channel: the first tapering corresponds to the drop in the cross sectional area of about 20% in the region between (g) to (i); the second tapering to the drop in the cross sectional area of about 60% in the region between (l) to (p). Crosses correspond to a venom channel that lacks ridges but has an elliptical cross-section of almost equivalent areas (reference case).

Fig. 9A shows the velocity field in the frontal midplane of the fang model obtained in the experiments, and Fig. 9B displays the results from the numerical simulation. Note that the maximum fluid velocity occurred close to the exit orifice plane (cf. Table 4). Similar velocity distributions and sectional streamline patterns were apparent in both cases. The streamlines indicate the jet (expelling) angle distribution along the exit area. The reshaping of the axial velocity profiles can be seen. The typical parabolic profile for pipe flow changed along the venom channel and was influenced by the geometry of the channel.

The values for the pressure build-up and the maximum liquid velocities are summarized in Table 4. From conservation of mass, we expected higher velocities at the exit orifice relative to the values at the inlet due to the decrease of cross-sectional area. As a consequence, pressure of an ideal fluid (zero viscosity, no energy loss) must decrease because of the increase in velocity. However, in real fluids an additional pressure drop is present due to wall friction, generation of secondary flows, and flow separation



**Figure 11. Isosurface plots of regions of concentrated helicity indicating the pre-conditioning and generation of secondary flow structures for Case 1 (top), and 2 (bottom).** The normalized helicity is +0.05 (red) and -0.05 (blue). doi:10.1371/journal.pone.0061548.g011



**Figure 12. Cross-sectional distribution of helicity with sectional streamlines at various downstream locations (cf. Fig. 7): blue  $-0.05$ , red  $+0.05$ .** Min. and maximum values of relative helicity are given. Case 1 (A) and reference case (B). doi:10.1371/journal.pone.0061548.g012

(energy loss). In order to compare the resulting energy loss for the different cases of the flow channel, we introduced a loss coefficient  $\zeta$  defined as:

$$\zeta = \frac{\Delta p_{\text{inlet-outlet}}}{\rho/2 \bar{u}_{\text{outlet}}^2} - \left( 1 - \left( \frac{A_{\text{outlet}}}{A_{\text{inlet}}} \right)^2 \right) \quad (5)$$

This coefficient allows us to compare the energy loss in the different flow channels, because it excludes any influence of the static pressure differences at the orifice due to slightly different cross-sectional areas  $A_{\text{outlet}}$  in Cases 1 and 2. As seen from the results, the loss coefficient is about 30% lower in a venom channel with ridges than in the venom channel without ridges (reference case), which is a major result of our study.

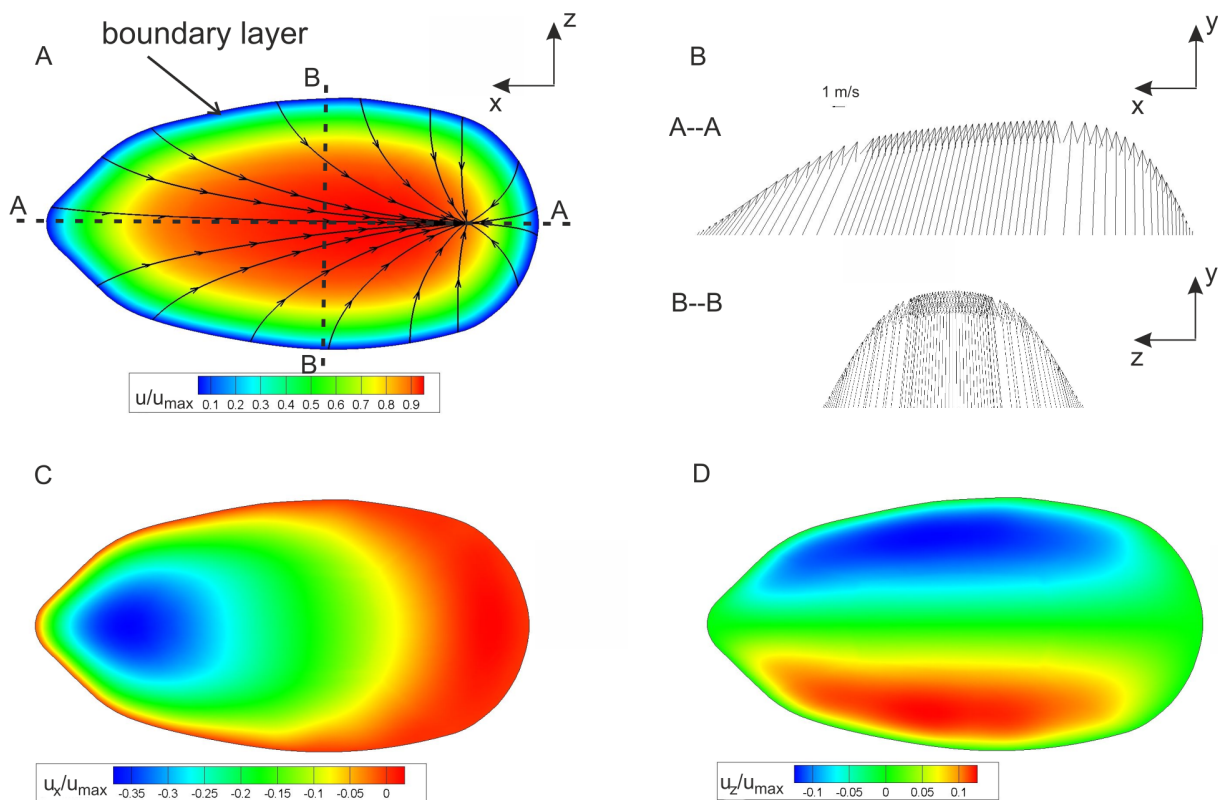
In Fig. 10, the Newtonian case is compared with the non-Newtonian simulation case. No significant differences exist between the two flow regimes. The change of the pressure distribution along the channel in the midplane is shown in Figs. 10C and 10E.

In order to visualize the secondary flow structures, we used the value of helicity. Levy et al. [20] introduced the term helicity, which is used for the detection of streamwise-oriented vortex cores. In normalized form, helicity is defined as:

$$H_n = \frac{\vec{u} \cdot \vec{\omega}}{|\vec{u}| |\vec{\omega}|} \quad (6)$$

with  $\mathbf{u}$  = velocity and  $\boldsymbol{\omega}$  = vorticity vector. Near the vortex center, the angle between these two vectors is small in the case of streamwise-oriented vortices such as the Dean-type vortices, thus the helicity is high. The normalized helicity has limiting values of  $\pm 1$ , where the angles between the velocity and vorticity are zero, and the sign depends on the direction of rotation. To get a 3D picture of the vortical structures within the channel, two surfaces of constant normalized helicity are shown in Fig. 11. A change in the direction of rotation is seen in the region of the ridges.

Figs. 12A and 12B show the flow in the sections defined in Fig. 7. The sectional streamlines are plotted with the normalized helicity that is color-coded. The channel was divided according to its geometry and the appearing flow structures into the segments a–f, g–k and l–o. The development of secondary flow was reflected in flow topology, such as saddle points, spirals, and centers. At the end of segment a–f, which marks the transition of the circular into a quasi-elliptical cross-section of the same cross-sectional area, a saddle point was evident in the center of the channel. It was detected due to a widening in the vertical direction and the resulting slight diffuser effect. Already in section f, the upstream



**Figure 13. Case 1: (A) Flow structures at the outlet.** The velocity magnitude is color-coded. (B) Velocity profile plots in sections A and B from (A). Contours of velocity components (color-coded)  $u_x$  (C) and  $u_z$  (D) at the outlet plane.  
doi:10.1371/journal.pone.0061548.g013

effect of the curvature and the two ridges was present. This is more pronounced in the segment g–k.

#### The functional significance of the venom channel ridges

The comparison of Case 1 (venom channel with ridges) with Case 2 (venom channel without ridges) evidences the effect of the ridges. The ridges (Case 1) cause a smooth and gradual increase of the helicity in magnitude and extent during the generation of the Dean type vortices of the sharp bend (cf. Fig. 12A and 12B, h–k). Section g shows the emergence of two counter-rotating vortices just before the ridges are formed. This was due to the slight clockwise curvature of the channel in this section. From g to h the cross-sectional area was reduced by 20%. This caused a nozzle effect, seen in the path direction of the sectional streamlines. The helicity remained at a low level. The borders of the preconditioning structures generated before the ridges are indicated by the dashed lines. In the segment l–p the level of secondary flow in Case 1 remained low until reaching the exit orifice. Secondary flow was generated due to the centrifugal force in the bend (Dean vortices). These vortices had a sense of rotation equal to the one generated by the ridges. A strong velocity component perpendicular to the streamlines emerged, which was indicating stronger streamwise vortices: in the core, this secondary flow was directed to the outer wall of the bend while along the walls it was directed towards the inner part of the bend. At the outlet, vortices were no longer visible. The high helicity values were mainly caused by the high axial velocity rather than the small radial and tangential velocity components. Compared to the reference case, in Case 1 the gradual decrease of the counter-rotating vortex structures and

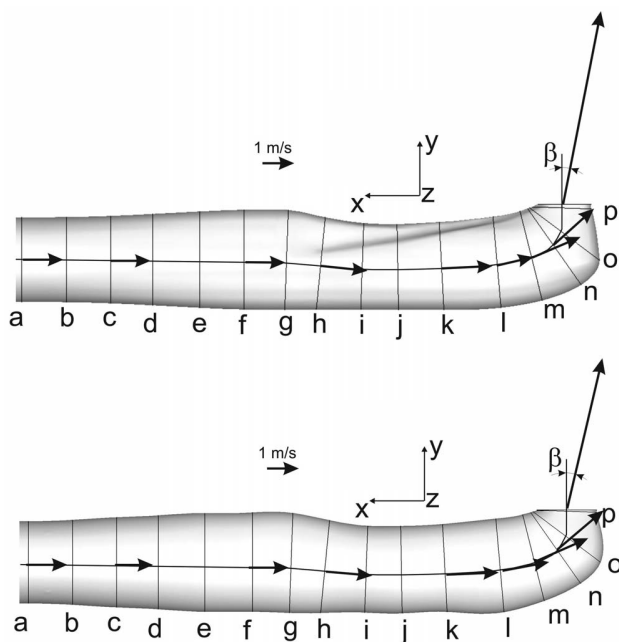
the gradual increase of the subsequent Dean-type vortices was more pronounced. This suggested that the ridges are relevant to the formation of a secondary flow structure upstream of the sharp exit bend in the same sense of rotation as the Dean-type vortices would be formed farther downstream in the bend. Therefore, the ridges effectively enlarge the curvature radius because secondary flow is already formed upstream of the bend.

Another indication of the strength of the secondary vortices and their influence on the flow at the orifice is the so-called slip. This is the deviation of flow direction from the channel axis at the exit. The flow at the exit orifice is mapped in Fig. 13. The velocity profiles in two distinct sections are shown. The slip of the flow is primarily caused by the secondary flow in the bend. A higher slip is synonymous with stronger secondary flows. In order to determine the slip quantitatively, we calculated the mean deviation angle of the velocity vectors  $\beta$  at the outlet cross-section (orifice plane) relative to the center-axis of the orifice plane. The results showed a deviation angle of  $11.1^\circ$  for Case 1 and  $13.2^\circ$  for the reference case (cf. Fig. 14). Hence, the reference case showed a stronger action of secondary flows disturbing the exit flow direction than Case 1 including the ridges. This provides additional confirmation for the higher pressure loss in a channel without ridges and thereby identifies the ridges as the potential source of the reduction in pressure loss.

#### Discussion

The focus of the paper was the analysis of the venom flow in the venom channel of a spitting cobra using PIV and CFD in a model of the channel. First, we measured the rheological behavior of the





**Figure 14. Mean velocity (arrow length) of the liquid in the sections given in Fig. 7 for Case 1 (top) and reference case (bottom).**

doi:10.1371/journal.pone.0061548.g014

venom fluid. The results confirm trends documented by Balmert et al. [21] and Young et al. [22], i.e., that the venom showed a shear-thinning behavior. This implies that flow is less viscous at high shear rates. The shear-thinning property of the venom may be important for cobras, or even for all snake species with closed-grooved fangs: the venom stored in the venom glands and the fangs has a high viscosity, and therefore flows only slowly if no pressure is applied. This prevents the venom from unintentionally leaking out of the fangs. While spitting, the *musculus adductor mandibulae externus superficialis* contracts, thus increasing the pressure in the venom gland [15]. The venom is then pushed through the venom channel and the shear rate rises. Thus, the viscosity of the venom decreases and therefore the venom can be discharged more easily and at higher velocities.

The possible relevance of this non-Newtonian behavior of the cobra venom was studied using CFD with a prescribed power-law of the liquid viscosity approximating the measured rheological properties of the venom. When comparing the CFD results for non-Newtonian and Newtonian behavior, we could detect only marginal differences in flow structure. Therefore, we conclude that for the major time-span of the spitting process, when fluid is already set into motion, non-Newtonian effects do not have any grave influence on the flow structures. Flow structures for Newtonian case are in good qualitative and quantitative agreement when comparing CFD and PIV results.

The internal flow in the venom channel is characterized by the generation of secondary flow structures caused by the combination of the ridges and the bend located farther downstream. The channel terminates into the orifice at an angle of roughly  $90^\circ$  relative to the main axis of the fang. Thus, the bend is rather sharp. Ridges are positioned at the channel wall in line with the plane of the nozzle exit and farther upstream from the bend. In

addition, the channel demonstrates a high degree of planar symmetry to the center plane. The reconstruction of the helicity distribution in the channel shows that the small S-type curvature in a clockwise direction generates a secondary flow structure in form of two counter-rotating streamwise vortices. The sense of rotation of the vortex pair is opposite to the Dean-type vortices generated farther downstream in the sharp bend. Thus, the flow upstream of the bend is pre-conditioned such that it reduces the effect of the sharp bend on the flow at the nozzle exit. This is reminiscent of a mechanism known from serpentine channels in which the direction of the curvature is successively reversed to reduce the effect of secondary flow [23]. A further effect is achieved by the ridges, which form the entrance to the bend. According to our results, the ridges generate a pair of streamwise vortices in the same sense of rotation as the - further downstream in the bend - generated Dean-type vortices. This vortex pair is named in the following the pre-cursor vortex pair to distinguish it from the Dean-type vortex pair. The strength of the vortices seems to be somewhat smaller than those of the Dean-type vortices. As the quantitative results of the pressure drop along the venom channel show, the presence of the pre-cursor vortices due to the action of the ridges decreases the pressure drop. This is also proven by the reduced slip at the exit of the venom channel. Therefore, we claim that the ridges act similar to the function of guide vanes that are used by engineers to reduce pressure loss in a curved bend. As the MCT geometries of the venom channel let recognize (Fig. 5), some of the microscan contours of the cobra fang demonstrate the successive appearance of paired ridges in the channel in 2–3 successions. This indicates that the strength of the pre-cursor vortices could be adapted via the number of ridges and their protrusion into the channel.

The main results can be summarized as follows: No significant effect of the non-Newtonian fluid behavior was seen inside the channel when comparing to the Newtonian case once the flow was established in the channel. The importance of geometry (ridges, sharp tapered bend) has been shown. The two ridges, forming the entrance into the sharp turn, generated - as a precursor - a secondary motion that interacted with the curved flow in the sharp bend in a beneficial way such that pressure loss was reduced by about 30% compared to an identical channel without ridges. The higher mean flow velocity at the outlet orifice helps the cobra to achieve a longer reach of the jet. The ridges therefore play an important role, which could be compared to the method of engineers to reduce pressure loss in curved flows by implementing guide vanes. It is shown from the first developments of Göttingen-type wind tunnels that such vanes in the bends reduce the effect of secondary flows and pressure loss [17].

## Supporting Information

**Appendix S1 Mesh information and equations of conservation of mass and momentum.**  
(DOCX)

## Acknowledgments

We thank Vera Schluessel for commenting on the MS and for stylistic help.

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: MT HC CB HB. Performed the experiments: MT DH AB. Analyzed the data: MT DH HC CB AB GW HB. Wrote the paper: MT DH HC CB AB GW HB.

## References

- Zug G, Vitt L, Caldwell J (2001) Herpetology. An introductory biology of amphibians and reptiles, San Diego: Academic Press. pp. 630.
- Bogert C (1943) Dentitional phenomena in cobras and other elapids, with notes on the adaptive modification of their fangs. *Bull. Am Mus Nat History* 81: 285–360.
- Greene H (1988) Antipredator mechanisms in reptiles. In: *Biology of the Reptilia* 16 (ed. Gans, C. and Huey, R.), New York: Academic Press. pp. 1–157.
- Slowinski J, Knight A, Rooney A (1997) Inferring species trees from gene trees: a phylogenetic analysis of the elapidae (Serpentes) based on the amino acid sequences of venom proteins. *Mol Phylogenet Evol* 8: 349–362.
- Wüster W, Crookes S, Ineich I, Mané Y, Pook CE, et al. (2007) The phylogeny of cobras inferred from mitochondrial DNA sequences: evolution of venom spitting and the phylogeography of the African spitting cobras (Serpentes: Elapidae: Najanigrivicollis complex). *Mol Phylogenet Evol* 45: 437–453.
- Wüster W, Thorpe RS (1992) Dentitional phenomena in cobras revisited: spitting and fang structure in the Asiatic species of *Naja* (Serpentes: Elapidae). *Herpetol* 48: 424–434.
- Warrell DA, Ormerod LD (1976) Snake venom ophthalmia and blindness caused by the spitting cobra (*Naja nigricollis*) in Nigeria. *Am J Trop Med Hyg* 25: 525–529.
- Westhoff G, Tzschätzsch K, Bleckmann H (2005) The spitting behavior of two species of spitting cobras. *J Comp Physiol A* 191: 873–881.
- Berthé RA (2011) Spitting behaviour and fang morphology of spitting cobras. PhD dissertation, Rheinische Friedrich-Wilhelms Universität Bonn.
- Berthé RA, de Pury S, Bleckmann H, Westhoff G (2009) Spitting cobras adjust their venom distribution to target distance. *J Comp Physiol A* 195: 753–757.
- Young BA, Boetig M, Westhoff G (2009) Functional bases of the spatial dispersal of venom during cobra “spitting”. *Physiol Biochem Zool* 82: 80–89.
- Dean WR (1927) Note on the motion of fluid in a curved pipe. *The London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine* 7: 208–223.
- Young BA, Blair M, Zahn K, Marvin J (2001) Mechanics of venom expulsion in *Crotalus*, with special reference to the role of the fang sheath. *Anat. Record* 264: 415–426.
- Horton C (1948) On the mechanics of spitting in the African spitting cobras. *COPEIA* 1: 23–25.
- Young BA, Dunlap K, Koenig K, Singer M (2004) The buccal buckle: the functional morphology of venom spitting in cobras. *J Exp Biol* 207: 3483–3494.
- Bird RB, Stewart WE, Lightfoot EN (2007) *Transport Phenomena*. John Wiley & Sons.
- Prandtl L (1957) *Führer durch die Strömungslehre*. Braunschweig Vieweg.
- Cascardi J, Young BA, Husic HD, Sherma J (1999) Protein variation in the venom spat by the red spitting cobra, *Naja pallida* (Reptilia: Serpentes). *Toxicon* 37: 1271–1279.
- Rasmussen S, Young B, Krimm H (1995) On the ‘spitting’ behavior in cobras (Serpentes: Elapidae). *J Zool* 237: 27–35.
- Levy Y, Degani D, Seginer A (1990) Graphical visualization of vortical flows by means of helicity. *AIAA Journal* 28: 1347–1352.
- Balmert A, Hess D, Brücker C, Bleckmann H, Westhoff G (2010) Spitting cobras – venom spitting as a model for technical applications. In: *Proc. 103th Annual Meeting Deutsche Zoologische Gesellschaft, Hamburg*.
- Young BA, Herzog F, Friedel P, Rammensee S, Bausch A, et al. (2011) Tears of Venom: Hydrodynamics of Reptilian Envenomation. *Phys Rev Letter* 106: 198103.
- Rosaguti NR, Fletcher DF, Haynes BS (2004) Laminar flow in a periodic serpentine channel. In: *Proc. 15th Australasian Fluid Mechanics Conference*.

## Danksagung

Im Folgenden möchte ich mich bei allen Personen und Institutionen bedanken, die mir während meiner Doktorarbeit geholfen haben:

Mein besonderer Dank gilt Prof. Horst Bleckmann, der mir die Möglichkeit gegeben hat, an diesem facettenreichen Thema zu arbeiten. Besonders dafür, dass er engagiert die Rolle des Doktorvaters übernommen hat und mir immer mit Rat und Tat beiseite stand. Dr. Guido Westhoff hat durch seine Vorarbeiten und seine Kenntnisse der Kobras diese Arbeit überhaupt erst ermöglicht. Zudem hat er bei der Gewinnung des Kobragiftes geholfen.

Ich möchte mich bei Prof. Dr.-Ing. habil. Christoph Brücker nicht nur für die Übernahme des Zweitgutachtens bedanken, sondern auch für die stets gute und ergiebige Zusammenarbeit im Projekt „Wasserstrahlschneiden“. Ich danke auch allen weiteren Mitarbeitern in dem Projekt für die gute Zusammenarbeit, namentlich möchte ich hier David Hess, Michael Triep (beide TU Freiberg) sowie Prof. Stefan Schuster und Peggy Gerullis (beide Universität Bayreuth) erwähnen.

Mein Dank gilt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung meiner Arbeit im Rahmen des Projektes „Wasserstrahlschneiden“ (Projekt BL 242/17-1) sowie im Rahmen des Graduiertenkollegs Bionik 1572 „Interaktionen über Grenzflächen zur Außenwelt“.

Ich danke Prof. Erwin Galinski und Priv.-Doz. Dr. Bodo Möseler für ihren Einsatz in meiner Promotionskommission.

Bedanken möchte ich mich bei Marlene Spinner für die gemeinsame Zeit als Partnerin an meiner Seite während meiner Doktorarbeit in Bonn. Sie stand mir auch bei meiner Doktorarbeit stets fachlich und diskussionsbereit bei, insbesondere in Fragestellungen der Statistik, und sie hat die Arbeit Korrektur gelesen.

Bei den aktiven und ehemaligen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Bleckmann möchte ich mich für die Hilfsbereitschaft bei wissenschaftlichen und technischen Fragen sowie für gesellige Stunden fernab der Arbeit bedanken. Namentlich genannt seien hier Dr. André Steiner, Dr. David Klocke, Dr. Ruben Berthé, Maren Frings, Dr. Jens Hellinger, Hendrik Herzog und Dr. Adrian Klein. Stephanie Rabus danke ich für die immer freundliche Hilfe in jeglichen administrativen Angelegenheiten.

Das Institut für Lebensmitteltechnologie sowie das Nees-Institut der Universität Bonn haben mir freundlicherweise einige ihrer Laborgeräte zur Verfügung gestellt. Betreut wurde ich dabei stets freundlich und fachkundig von Hans-Jürgen Ensikat, Wolfgang Roden (beide Nees-Institut) sowie Eva Beierle (Institut für Lebensmitteltechnologie). An der Universität in Kiel haben mir Prof. Stanislav Gorb und Dr. Alexander Kovalev bei der Beurteilung der Haftmechanismen geholfen.

Last but not least gebührt mein Dank unserem Tierpfleger Slava Braun. Er war stets hilfsbereit und hat sich fleißig und gewissenhaft um die Pflege der Kobras gekümmert.

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegt.

Ich erkläre ferner, dass ich bisher noch keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht habe.

Bonn 7. November 2013