

Dipl.-Biol. Felix Reitze

**Elektronenmikroskopische und  
histochemische Untersuchungen  
an Acanthoren, den ersten Larval-  
stadien der Acanthocephala**





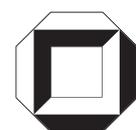
Felix Reitze

**Elektronenmikroskopische und histochemische Untersuchungen  
an Acanthoren, den ersten Larvalstadien der Acanthocephala**



# **Elektronenmikroskopische und histochemische Untersuchungen an Acanthoren, den ersten Larval- stadien der Acanthocephala**

von  
Felix Reitze



---

universitätsverlag karlsruhe

Dissertation, Universität Karlsruhe (TH),  
Fakultät für Chemie und Biowissenschaften, 2005

## **Impressum**

Universitätsverlag Karlsruhe  
c/o Universitätsbibliothek  
Straße am Forum 2  
D-76131 Karlsruhe  
www.uvka.de



Dieses Werk ist unter folgender Creative Commons-Lizenz  
lizenziert: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/de/>

Universitätsverlag Karlsruhe 2006  
Print on Demand

ISBN 3-937300-96-1



---

**Elektronenmikroskopische und histochemische  
Untersuchungen an Acanthoren, den ersten  
Larvalstadien der Acanthocephala**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)  
der  
Fakultät für Chemie- und Biowissenschaften  
der Universität Karlsruhe (TH)  
vorgelegte

**Dissertation**

von  
**Dipl.-Biol. Felix Reitze**  
aus Karlsruhe

**2005**

Dekan: Prof. Dr. M. Kappes  
Referent: Prof. Dr. H. Taraschewski  
Korreferent: Prof. Dr. K. Schmidt  
Tag der mündlichen Prüfung: 28.10.2005

---

---

# INHALT

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>11</b>
<b>2.1</b>	<b>Verwendete Tierarten</b>	<b>11</b>
2.1.1	Parasitische Tierarten	11
2.1.1.1	<i>Macracanthorhynchus hirudinaceus</i> (Klasse: Archiacanthocephala)	11
2.1.1.2	<i>Moniliformis moniliformis</i> (Klasse: Archiacanthocephala)	13
2.1.1.3	<i>Paratenuisentis ambiguus</i> (Klasse: Eoacanthocephala)	15
2.1.1.4	Klasse: Palaeacanthocephala	17
2.1.2	Verwendete Zwischenwirte	17
2.1.2.1	<i>Periplaneta americana</i>	17
2.1.2.2	<i>Gammarus tigrinus</i> (Ord. Amphipoda)	17
2.1.2.3	<i>Gammarus pulex</i> (Ord. Amphipoda)	18
2.1.3	Verwendete Endwirte	19
2.1.3.1	Laborratte ( <i>Rattus norvegicus</i> )	19
<b>2.2</b>	<b>Tierhaltung</b>	<b>19</b>
2.2.1	Haltung von <i>Periplaneta americana</i>	19
2.2.2	Haltung von <i>Gammarus tigrinus</i>	20
2.2.3	Haltung von <i>Gammarus pulex</i>	21
2.2.4	Haltung von <i>Rattus norvegicus</i>	21
<b>2.3</b>	<b>Gewinnung der reifen Acanthocephaleneier</b>	<b>21</b>
<b>2.4</b>	<b><i>In-vitro</i>-Infektion der verwendeten Tierarten</b>	<b>23</b>
2.4.1	Infektion von <i>Periplaneta americana</i>	23
2.4.2	Infektion der verwendeten Amphipoden- und Isopodenarten	24
2.4.3	Infektion von <i>Rattus norvegicus</i>	25
2.4.4	Überlebensfähigkeit der Acanthoren im Ei	26
<b>2.5</b>	<b><i>In-vitro</i>-Versuche zum Schlüpfverhalten der Acanthoren</b>	<b>26</b>
2.5.1	Schlüpfmethode nach EDMONDS (1966)	27
2.5.2	Schlüpfmethode nach EDMONDS (1966) mit vorheriger mechanischer Reizung	27
2.5.2.1	Einsatz eines Tissuepotters	27
2.5.2.2	Verwendung von feinkörnigem Quarzsand bzw. Siliciumoxid	27
2.5.3	Schlüpfmethode nach EDMONDS (1966) mit vorheriger Reizung durch Ultraschall	28
2.5.4	Verdauung der reifen Eihüllen durch Trypsin	28
2.5.5	Trocknung mit anschließender Wiederbefeuchtung	28
2.5.6	Lagerung in verschiedenen Wassertypen	28
2.5.7	Verfüttern der Acanthocephaleneier an ausgewählte Zwischenwirte	29
2.5.8	Lagerung der Parasiteneier in Darmgemischen von ausgewählten Zwischenwirten	29
<b>2.6</b>	<b>Bewegungsanalyse der geschlüpften Acanthoren</b>	<b>29</b>
<b>2.7</b>	<b>Probennahme</b>	<b>29</b>
2.7.1	<i>In-vitro</i> -geschlüpfte Acanthoren	29
2.7.2	Acanthoren, die im Darm von Zwischenwirten geschlüpft sind	30

---

---

<b>2.8 Elektronenmikroskopie</b>	<b>31</b>
2.8.1 Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM)	31
2.8.1.1 Grundlagen der Transmissions-Elektronenmikroskopie	31
2.8.1.2 Probenaufbereitung	32
2.8.1.3 Elektronenmikroskopische Auswertung	34
2.8.2 Raster-Elektronenmikroskopie (REM)	35
2.8.2.1 Grundlagen der Raster-Elektronenmikroskopie	35
2.8.2.2 Probenaufbereitung	35
2.8.2.3 Elektronenmikroskopische Auswertung	36
<b>2.9 Datenanalyse</b>	<b>37</b>
<b>2.10 "Cathepsin L Proteinase" - Nachweis mittels SDS-Page</b>	<b>37</b>
2.10.1 Cathepsin L Proteinase	38
2.10.2 Grundlagen der SDS-Page	38
2.10.3 Eingesetzte Proben	40
2.10.4 Gesamtprotein-Mengenbestimmung	40
2.10.5 Durchführung SDS-Page	41
2.10.6 Grundlagen "Western Blotting"	42
2.10.6.1 Durchführung "Western Blotting"	42
2.10.7 Detektion durch die Enhanced Chemiluminescence (ECL) Technik	43
2.10.8 Berechnung des Probengehaltes an "Cathepsin L Proteinase"	43
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>45</b>
<b>3.1 Die Eihüllen des Archiacanthocephalen <i>M. moniliformis</i></b>	<b>45</b>
<b>3.2 Die Eihüllen des Archiacanthocephalen <i>M. hirudinaceus</i></b>	<b>56</b>
<b>3.3 Die Eihüllen des Eoacanthocephalen <i>P. ambiguus</i></b>	<b>61</b>
<b>3.4 Die Eihülle der Palaeacanthocephala</b>	<b>69</b>
<b>3.5 Die Überlebensfähigkeit der Acanthoren im reifen Ei</b>	<b>75</b>
<b>3.6 Die Stimulation der Acanthoren zum Schlüpfen</b>	<b>76</b>
<b>3.7 Die Eigenbewegung der Acanthoren</b>	<b>79</b>
3.7.1 Der Schlüpfablauf von Archi- und Eoacanthocephalen im Vergleich	88
<b>3.8 Ausstattung des Archiacanthocephalen <i>M. hirudinaceus</i> mit Cathepsin L Proteinase</b>	<b>98</b>
<b>3.9 Experimentelle Laborhaltung</b>	<b>101</b>
3.9.1 Infektionsversuche mit Zwischenwirten von verschiedenen Acanthocephalenarten	101
3.9.2 Parasitierungsrate von <i>P. americana</i> mit dem Acanthocephalen <i>M. moniliformis</i>	102
3.9.3 Parasitierungsrate von <i>R. norvegicus</i> mit dem Acanthocephalen <i>M. moniliformis</i>	102
<b>3.10 Die Gestalt und Morphologie der Acanthoren</b>	<b>103</b>
3.10.1 Überblick über den geschlüpften Acanthor	104
3.10.2 Die apikalen Haken des Acanthors	113
3.10.3 Die Körperstacheln des Acanthors	134
3.10.4 Die Muskulatur des Acanthors	150
3.10.5 Die Oberfläche und das fusionierte Kryptensystem des Acanthors	165

---

---

<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>187</b>
<b>4.1</b>	<b>Die Eihülle der Acanthoren</b>	<b>187</b>
4.1.1	Archiacanthocephala	189
4.1.1.1	Morphologie der Archiacanthocephaleneihüllen	190
4.1.2	Eoacanthocephala	194
4.1.3	Palaeacanthocephala	197
<b>4.2</b>	<b>Überlebensfähigkeit der Acanthoren im reifen Ei</b>	<b>198</b>
<b>4.3</b>	<b>Stimulation der inaktiven Acanthoren zum Schlüpfen</b>	<b>200</b>
4.3.1	Zwischenwirtspezifität	202
<b>4.4</b>	<b>Die Bedeutung der aktiven Eigenbewegung der Acanthoren</b>	<b>204</b>
4.4.1	Bedeutung der Bewegungsfähigkeit während des Schlüpfprozesses	205
4.4.2	Bedeutung der Bewegungsfähigkeit im Darmlumen eines Zwischenwirts	206
4.4.3	Bedeutung der Bewegungsfähigkeit während der Darmwandpenetration	208
4.4.4	Die Lebensspanne aktivierter Acanthoren	210
<b>4.5</b>	<b>Bedeutung der Cysteinproteinase Cathepsin L für die Acanthoren von <i>M. hirudinaceus</i></b>	<b>211</b>
<b>4.6</b>	<b>Parasitierung von Zwischenwirten mit Acanthocephalen</b>	<b>215</b>
4.6.1	Experimentelle Parasitierungsraten von <i>P. americana</i> mit <i>M. moniliformis</i>	215
<b>4.7</b>	<b>Die Gestalt und Morphologie der Acanthoren</b>	<b>218</b>
4.7.1	Überblick über den geschlüpften Acanthor	220
4.7.2	Die apikalen Haken des Acanthors	220
4.7.3	Die Körperstacheln des Acanthors	223
4.7.4	Die innere Organisation des Acanthors	225
4.7.4.1	Die Muskulatur des Acanthors	227
4.7.4.2	Das fusionierte Kryptensystem des Acanthors	230
<b>4.8</b>	<b>Ausblick</b>	<b>233</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>235</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>239</b>
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	<b>251</b>
<b>7.1</b>	<b>Rezeptteil</b>	<b>251</b>
7.1.1	Färbelösungen zum Anfärben von Semidünnschnitten	251
7.1.1.1	Methylenblau mit NaCl	251
7.1.1.2	Stevenel's Blue	252
7.1.2	Fixierlösungen für biologisches Probenmaterial	252
7.1.2.1	4%-Osmiumtetroxidlösung	252
7.1.2.2	5%-Glutardialdehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer	253
7.1.2.3	0.1 M Na-Cacodylatpuffer	253
7.1.3	Einbettungsmedium für biologisches Probenmaterial	253
7.1.3.1	Spurr-Einbettungsmedium (nach SPURR, 1969)	253
7.1.4	Kontrastierlösungen zum Kontrastieren von Ultradünnschnitten	254
7.1.4.1	Uranylacetat (in gesättigter wässriger Lösung)	254
7.1.4.2	Bleicitrat (nach REYNOLDS, 1963)	255
7.1.5	Trägerfilm-Lösung zum Befilmen von Grids	255
7.1.5.1	0.32%-Polyvinylformaldehyd (Formvar)	255

---

---

<b>7.2</b>	<b>Protokoll zur Probenaufbereitung für die TEM</b>	<b>256</b>
<b>7.3</b>	<b>Protokoll zur Probenaufbereitung für die REM</b>	<b>258</b>
<b>7.4</b>	<b>SDS-Page</b>	<b>260</b>
7.4.1	10% SDS	260
7.4.2	1,5 M Tris-HCl pH 8,8	260
7.4.3	0,5 M Tris-HCl pH 6,8	260
7.4.4	10x SDS Laufpuffer	260
7.4.5	10% APS	261
7.4.6	12% Trenngel (10 ml)	261
7.4.7	4% Sammelgel (5 ml)	261
7.4.8	0,5% Bromphenolblau-Lösung	261
7.4.9	Laufpuffer	262
<b>7.5</b>	<b>Western Blot (Semidry)</b>	<b>262</b>
7.5.1	Towbin Transfer Puffer	262
7.5.2	10 x TBS	262
7.5.3	1 x TBS-T	263
7.5.4	5% Magermilch	263
<b>8</b>	<b>Danksagung</b>	<b>265</b>

---

---

## ABKÜRZUNGEN UND BEGRIFFSERKLÄRUNGEN

<b>APS</b>	Ammoniumperoxodisulfat
<b>DER-736</b>	Diepoxid
<b>DMAE (S-1)</b>	2-Dimethylaminoethanol
<b>d.p.i.</b>	day post infectionem
<b>E<sub>0</sub>, E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub></b>	Verschiedene feste Eihüllen der Acanthocephaleneier
<b>ECL</b>	Enhanced Chemiluminescence Reaction
<b>ERL-4206</b>	Vinylcyclohexendioxid
<b>FORMVAR</b>	Polyvinylformaldehyd
<b>G<sub>0</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub>, G<sub>4</sub></b>	Flüssigkeitsgefüllte Zwischenräume der Eihüllen
<b>NBA</b>	Nonenylbernsteinsäureanhydrid
<b>PBS</b>	Phosphate Buffered Saline
<b>REM</b>	Rasterelektronenmikroskop, Rasterelektronenmikroskopie
<b>RPM</b>	Rounds per minute
<b>SDS</b>	Sodiumdodecylsulfate
<b>SDS-Page</b>	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
<b>SPURR</b>	Epoxidharz für die Einbettung von biologischen Proben
<b>TBS</b>	Tris Buffered Saline
<b>TBS-T</b>	Tris Buffered Saline + Tween-20
<b>TEM</b>	Transmissionselektronenmikroskop, Transmissionselektronenmikroskopie
<b>TEMED</b>	N, N, N <sup> </sup> , N <sup> </sup> - Tetramethylethylendiamin
<b>TWEEN 20</b>	Polyoxyethylenesorbitanmonolaurate

---



# 1 EINLEITUNG

## DAS PHÄNOMEN PARASITISMUS

Niemand lebt wirklich allein - Parasiten sind allgegenwärtig. Parasiten sind eine außerordentlich erfolgreiche Organismengruppe, sie sind ein selbstverständlicher Bestandteil der Natur und haben als solcher im Laufe der Evolution besonders ausgeklügelte Systeme, Verhaltensweisen und Überlebensstrategien entwickelt, wie und wo sie am besten sich und ihre Art erhalten und vermehren können. Arbeiten über die Diversität von Parasiten fast aller Vertebratenklassen haben bewiesen, dass Parasiten die Begleiter der meisten freilebenden Organismen sind (ESCH et al., 1990). Bemerkenswert ist, dass die parasitische Lebensstrategie von Organismen nicht auf lokal begrenzte Regionen der Erde beschränkt ist, sondern sich ubiquitär etabliert hat. Parasiten haben sich alle Bereiche des Lebens sowohl zu Wasser, zu Land als auch in der Luft erobert.

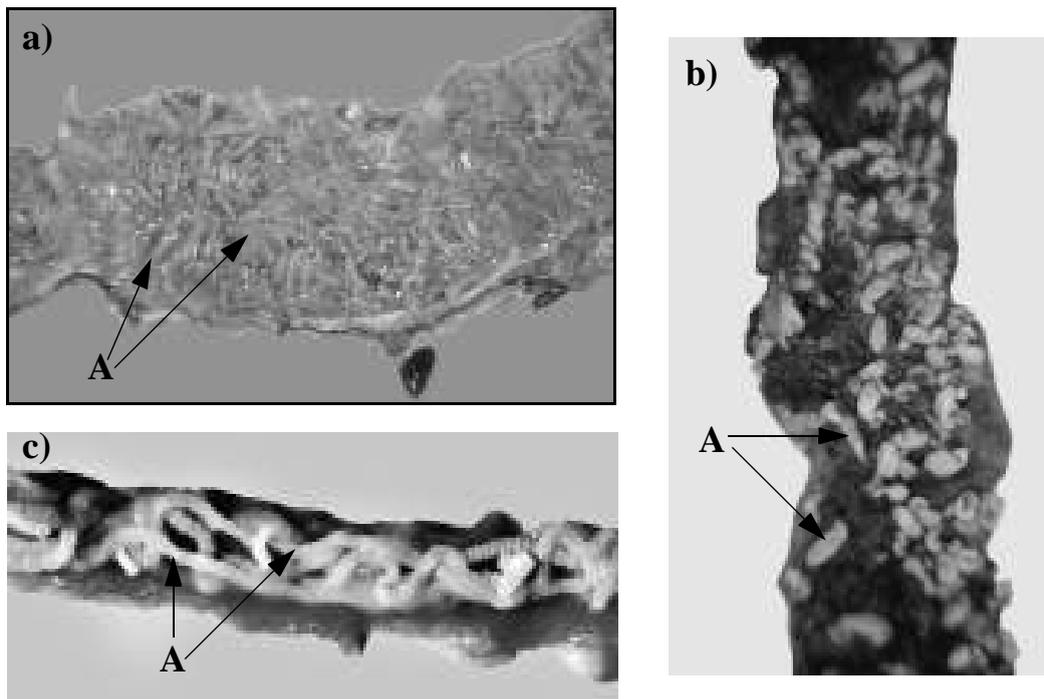
Im Tierreich haben fast alle Organismengruppen, vom Einzeller bis zu den Säugetieren, parasitisch lebende Formen hervorgebracht. Zur Zeit wird davon ausgegangen, dass mindestens 50 % aller bisher bekannten Tierarten eine parasitische Lebensweise führen und sich von der Körpersubstanz, den Körpersäften oder dem Darminhalt ihrer Wirte ernähren (BEGON et al., 1991; KENNEDY & HOLMES, 1995). Jede einzelne Parasitenart hat sich durch faszinierende Anpassungen selbst an extreme Lebensbedingungen ihr ganz spezielles ökologisches Mikrohabitat erschlossen, das ihr das Überleben aufgrund einer mehr oder weniger fein abgestimmten Wirt-Parasit-Interaktion sichert. Dabei gilt für ein gut eingespieltes Wirt-Parasit-Verhältnis, das sich erst im Laufe einer lange andauernden Co-Evolution etabliert, die Devise von "leben und leben lassen" (WEHNER & GEHRING, 1990).

## ACANTHOCEPHALA: EINE BEMERKENSWERTE KLASSE INTESTINALER HELMINTHEN

In der vorliegenden Studie wurde die artenreiche Gruppe der Acanthocephalen (griechisch: *acantha*: Dorn; *cephalae*: Kopf), die ubiquitär verbreitet ist und sowohl ein breites Spektrum an Endwirten (zahlreiche Wirbeltierarten) als auch an Zwischenwirten (Arthropoden) befällt, als Forschungsobjekt ausgewählt (siehe Abbildung 1). Zudem weist die Gruppe der Acanthocephalen insbesondere während ihrer larvalen Entwicklungsphasen ein fein abgestimmtes Repertoire an Parasit-Wirt-Interaktionen auf, das von zahlreichen Parasitenarten in ähnlicher Form bekannt ist.

Durch ihre weite geographische Verbreitung und ihr Vorkommen bei unzähligen Wirbeltierarten (JOHNSTON, 1942; LIAT & PIKE, 1980; HOBERG, 1986; DE-LA-MUELA et al., 2001; KNOFF et al., 2001; SHARPILO et al., 2001; BROCKERHOFF & SMALES, 2002;

WALTER et al., 2002; FOSTER et al., 2003; MORAVEC et al., 2003; SINISALO & VALTONEN, 2003) besteht jederzeit die akute Gefahr, dass neue Acanthocephalenarten mit Hilfe diverser Neozoen nach Europa eingeschleppt werden und sich dort anschließend rasend schnell ausbreiten. So war der Eoacanthocephale *Paratenuisentis ambiguus* bis in das Jahr 1986 einzig aus Amerika bekannt. Nachdem dieser Acanthocephale in Europa angekommen war, konnte sich der Parasit in Deutschland innerhalb weniger Jahre derart stark vermehren, dass der größte Teil der Weseraale bereits kurze Zeit nach seiner Einschleppung mit ihm infiziert war (HAMERS, 1990). Hinzu kommt, dass Acanthocephalen weltweit eine große Bedeutung als Krankheitserreger besitzen.



**Abbildung 1** Adulte Acanthocephalen in geöffneten Därmen verschiedener Wirbeltiere.  
 a) Darm einer Barbe, der mit *Pomphorhynchus laevis* befallen ist.  
 b) Darm einer Eiderente, der einen Befall mit *Proficollis botulus* aufweist.  
 c) Darm einer Ratte, welcher mit dem Acanthocephalen *Moniliformis moniliformis* infiziert ist.  
 A: adulter Acanthocephale

## SYSTEMATIK DER ACANTHOCEPHALA

Bei den Acanthocephalen, die weltweit recht zahl- und artenreich als adulte Parasiten in den Därmen von über 300 Fischarten und anderen Wirbeltieren (Amphibien, Reptilien, Vögel, Säugetiere) anzutreffen sind (JOHNSTON, 1942; NICHOLAS & HYNES, 1958; SCHMIDT & OLSEN, 1964; WARD & NELSON, 1967; BARTON & PICHELIN, 1999; SURES & SIDDALL, 1999; TARASCHEWSKI, 2000; SMALES, 2002), handelt es sich um eine Gruppe intestinaler Helminthen, deren systematische Stellung letztendlich noch nicht eindeutig festgelegt wurde. Im angelsächsischen Raum werden die Acanthocephalen

als Stamm geführt (AMIN, 1985A), wogegen sie in Deutschland wegen ihrer Ähnlichkeiten zu den Rotatorien häufig als Klasse der Nematelminthes angesehen werden (LORENZEN, 1985; WESTHEIDE & RIEGER, 1996).

Zu den Acanthocephalen zählen ausschließlich hochspezialisierte, getrenntgeschlechtliche Tiere. Die Acanthocephalen selbst werden traditionell wegen auffälliger Unterschiede in ihrer Morphologie und ihrem Wirtsspektrum bzw. ihrem Entwicklungszyklus in drei verschiedene Klassen unterteilt (CROMPTON & NICKOL, 1985). In neuerer Zeit wurde noch eine weitere Klasse, nämlich die der Polyacanthocephala, hinzugefügt (AMIN, 1998):

**1. Eoacanthocephala:** Sie repräsentieren eine Gruppe von Parasiten, bei deren Endwirten es sich fast ausschließlich um Fische handelt. Arthropoden, wie Amphipoden oder Copepoden, verkörpern geeignete Zwischenwirte. Als Besonderheit weisen die Tiere in ihrer Epidermis und den Zementdrüsen Riesenkerne auf. Protonephridien fehlen ihnen dagegen. Als typische Vertreter dieser Gruppe sind die Acanthocephalenarten *Paratenuisentis ambiguus* und *Neoechinorhynchus rutili* zu erwähnen.

**2. Palaeacanthocephala:** Ihre Endwirte (Fische, Amphibien, Wasservögel, usw.) sind im Allgemeinen an das Wasser gebunden. Als Zwischenwirte dienen ihnen z.B. Amphipoden und Isopoden. Ihre Epidermiskerne sind meist in Teilkern zerfallen. Auch bei dieser Gruppe kommen keine Protonephridien vor. Charakteristische Vertreter werden durch die Arten *Acanthocephalus anguillae*, *Corynosoma hadweni* und *Echinorhynchus truttae* gestellt.

**3. Archiacanthocephala:** Die Vertreter der Archiacanthocephala besitzen ausschließlich terrestrische Entwicklungszyklen, d.h., ihre Endwirte sind landlebende Säuger. Ihre Larvalentwicklung durchlaufen diese Parasitenarten in terrestrischen Arthropoden, wie z.B. den Larven bzw. Adulti von verschiedenen Schaben- bzw. Käferarten. Ihre Epidermis besitzt gelappte Riesenkerne. Protonephridien sind in dieser Gruppe weit verbreitet. Als repräsentative Vertreter können die Arten *Macracanthorhynchus hirudinaceus* und *Moniliformis moniliformis* genannt werden.

**4. Polyacanthocephala:** Diese, noch neue Klasse, wurde bisher noch wenig erforscht. Ihre Endwirte sind verschiedene Fischarten sowie Krokodile in Südamerika und Afrika (AMIN, 1987). Ein Vertreter dieser Klasse ist *Polyacanthorhynchus kenyensis* (AMIN, 1987).

## MORPHOLOGIE DER ACANTHOCEPHALA

Die Acanthocephalen verkörpern "wurmformige" bzw. länglich-zylindrische, getrenntgeschlechtliche Tiere (siehe Abbildung 2), von denen bis heute etwa 1500 verschiedene Arten beschrieben worden sind (WESTHEIDE & RIEGER, 1996; AMIN, 1998). Die meisten Acanthocephalenarten weisen einen runden Querschnitt auf und ihre durchschnittliche Körperlänge liegt unter einem Zentimeter, es gibt jedoch auch Arten, die eine Länge von bis zu 70 Zentimetern erreichen (MILLER & DUNAGAN, 1985; STORCH & WELSCH, 1991; MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998; BUSH et al., 2001). Die adulten Tiere

sind weißlich bis leuchtend orange gefärbt. Dabei ist auffallend, dass die Weibchen meist größer als die Männchen sind. Wie bereits erwähnt, leben die Vertreter der Acanthocephalen als Adulti im Darm ihres Endwirtes und verankern sich in der Darmwand ihres Wirtes mit Hilfe ihres vorstülpbaren und artspezifisch mit caudalwärts weisenden Haken besetzten Rüssels, der sogenannten Proboscis (CROMPTON & NICKOL, 1985; TARASCHEWSKI, 2000). Diese Proboscis ist das charakteristische Merkmal der Acanthocephala. Sie kann sehr vielgestaltig sein. Ihre Form kann von kurz und gedrungen, mit wenigen Haken bewehrt, bis hin zu länglich zylindrisch, mit vielen Haken bewehrt, variieren (AMIN, 1998). Die Ausstattung der Proboscis mit Haken stellt in Abhängigkeit von Größe, Form, Anordnung und Anzahl der Haken ein wichtiges taxonomisches Bestimmungsmerkmal dar.

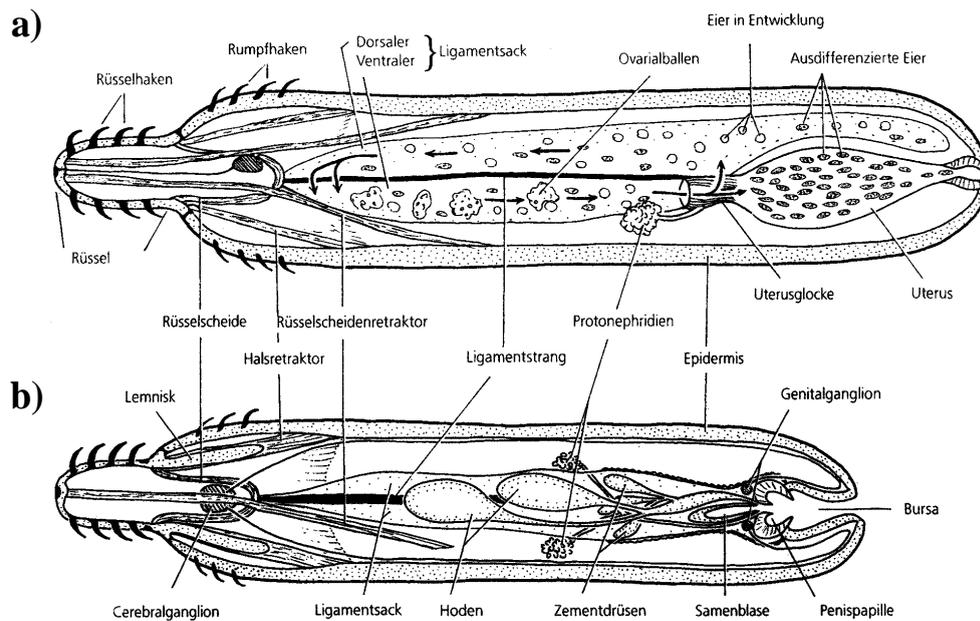
Der schlauchförmige Körper der Acanthocephalen ist bilateralsymmetrisch aufgebaut und unsegmentiert, kann aber in zwei große Bereiche unterteilt werden, das anterior liegende Präsuma sowie das posterior lokalisierte Metasoma (TARASCHEWSKI, 1989). Die gesamte Oberfläche der adulten Parasiten wird durch ein syncytiales Tegument gebildet, das nach außen hin durch einen Glycocalix-Surface-Coat begrenzt wird und von zahlreichen Krypten durchbrochen ist (BRYAM & FISHER, 1974; TARASCHEWSKI, 2000). Die Krypten, die sich in das Innere des Tegumentes fortsetzen, erfüllen eine sehr wichtige Funktion bei der Nahrungsaufnahme und bewirken eine bedeutende Erhöhung der Resorptionskapazität der Körperoberfläche der Adulti um einen Faktor 20-60 (MEHLHORN, 1988). Die untersuchten Parasiten ernähren sich aufgrund eines zeitlebens fehlenden Darmtraktes parenteral, d.h., sie nehmen alle benötigten Nährstoffe über ihr Tegument aus dem Darm ihres Wirtes auf (NICKOL, 1985; TARASCHEWSKI, 1989; MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998; BUSH et al., 2001). Die Hautmuskulatur der Acanthocephalen besteht aus einem Schlauch von Ring- und Längsmuskulatur.

Als morphologische Besonderheit weisen die männlichen Acanthocephalen eine oder mehrere Zementdrüsen auf, mit deren Hilfe sie ein Sekret produzieren, das die Vagina der weiblichen Würmer nach der Kopulation verkittet (MILLER & DUNAGAN, 1985; STORCH & WELSCH, 1991). Dagegen besitzen die weiblichen Acanthocephalen eine sogenannte Uterusglocke, deren Aufgabe es ist, fertig entwickelte Eier, die bereits einen schlüpfähigen Acanthor enthalten und frei in der Leibeshöhle des adulten Acanthocephalen flottieren, von den weniger entwickelten Eiern zu trennen und zur Ablage herauszusortieren (WESTHEIDE & RIEGER, 1996).

In den infektiösen Acanthocephaleneiern sind die inaktiven Acanthoren aller bekannten Acanthocephalensarten äußerst kompakt gelagert. Die stabilen Acanthocephaleneier umgeben die ungeschlüpften Acanthoren zunächst mit vier bis fünf verschiedenen Eihüllen, die jeweils durch einen granulären Zwischenraum voneinander getrennt sind. Diese Eihüllen stellen eine Art "Kontakt-Organ" der Acanthoren zu ihrer Umwelt dar und sind darauf spezialisiert die vollständig embryonierte Acanthorlarve für einen gewissen Zeitraum selbst unter unterschiedlichsten Umgebungsbedingungen vor schädlichen Einflüssen effektiv zu schützen. Die Gesamtheit der Eihüllen muss die Acanthoren insbesondere vor schädlichen mechanischen Belastungen, den Verdauungsenzymen der Endwirte und bei den Archiacanthocephalen auch vor Austrocknung schützen.

---

Da die verschiedenen Acanthocephalenarten sowohl terrestrische als auch aquatische Entwicklungszyklen besitzen, sind die Acanthocephaleneier während eines kürzeren oder längeren Zeitraumes, bis sie von einem geeigneten Zwischenwirt gefressen werden, unterschiedlichen Milieubedingungen ausgesetzt. Daher sind die Acanthocephaleneier der Archi-, Palae- und Eoacanthocephala nicht identisch gebaut, sondern durch die Struktur der einzelnen Eihüllen und deren chemische Zusammensetzung an ihre jeweilige Umgebung adaptiert.



**Abbildung 2** Organisationsschema eines Acanthocephalen (speziell der Klasse der Archiacanthocephala). **a)** Weibliches Tier. **b)** männliches Tier (WESTHEIDE & RIEGER, 1996)

## DER ENTWICKLUNGSZYKLUS DER ACANTHOCEPHALA

Ein auffallendes Merkmal vieler parasitischer Würmer ist ihr komplizierter Lebenszyklus (BURGESS et al., 1990). Der Archiacanthocephale *Moniliformis moniliformis*, der weltweit in zahlreichen Wirbeltieren parasitiert (MEHLHORN, 1988), wird nun als Modellfall für alle übrigen Acanthocephalen herausgegriffen. Anhand dieses Modellorganismus soll der typische Entwicklungszyklus eines Acanthocephalen mit allen seinen unterschiedlichen Entwicklungsstufen (Ei - Acanthor - Acanthella - Cystacanth - Adultus) erläutert werden, um die Bedeutung des Acanthors besser verstehen zu können.

Der adulte Acanthocephale von *M. moniliformis* lebt im Intestinum seines Endwirtes, bei dem es sich in diesem Fall um eine Ratte (*Rattus norvegicus*) handelt, gelangt dort zur Geschlechtsreife und pflanzt sich im Dünndarm dieses Endwirtes fort. Als nicht penetrierender Acanthocephale ist der Parasit *M. moniliformis* mit seiner Proboscis lediglich in der Mucosa des Endwirtes verankert oder dringt höchstens bis zur Tunica propria vor.

Jedes adulte weibliche Tier produziert dort täglich bis zu 5500 reife Eier (CROMPTON & NICKOL, 1985). Die reifen ovoiden Acanthocephaleneier, die das weibliche Tier nach der Befruchtung absetzt, gelangen mit dem Darminhalt und den Fäces des Endwirtes in die Umwelt (TARASCHEWSKI, 2000).

Die reifen Eier von *M. moniliformis* haben eine langgestreckte, ovale Gestalt von 120 µm Länge und 55 µm Durchmesser (MEHLHORN et al., 1993; CROMPTON, 1975). Die Acanthocephaleneier stellen das Verbreitungsstadium im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen dar und enthalten bereits vollständig entwickelte Acanthoren, die für die Zwischenwirte infektiös sind. Diese Acanthoren von *M. moniliformis* sind von vier verschiedenen Eihüllen umschlossen (PETERS et al., 1991), die sie durch ihren Keratingehalt vor einer zu frühen Freisetzung während der Passage durch den Verdauungstrakt des Zwischenwirtes bewahren (ARNOLD & CROMPTON, 1987). Im Freien entwickelt sich die in der Eikapsel verbleibende Hakenlarve nicht weiter, sondern stellt ein Wartestadium dar.

Die mit den Fäces der Endwirte abgesetzten embryonierten Eier der Acanthocephalen werden von den Zwischenwirten zusammen mit ihrer Nahrung oral aufgenommen. Als Zwischenwirte für die Acanthocephalen fungieren weltweit normalerweise zahlreiche Crustacea, Insecta oder Myriapoda (MAYNARD et al., 1998; BARGER & NICKOL, 1999; DEZFULI & GIARI, 1999; DEZFULI, 2000; DEZFULI et al., 2000; TARASCHEWSKI, 2000; BOLLACHE et al., 2002; NICKOL et al., 2002; LEVRI & COPPOLA, 2004; ROYAL et al., 2004).

Bei einigen Arten der Eo- und Palaeacanthocephalen enthält die Eischale unter anderem Polysaccharide, so dass die Eier als Nahrung für die Zwischenwirte attraktiver werden (WESTHEIDE & RIEGER, 1996). Ist ein Zwischenwirt durch die orale Aufnahme von Acanthocephaleneiern erfolgreich von einem Acanthocephalen infiziert worden, bewirkt in vielen Fällen die durch den Carapax des Krebses durchscheinende Farbe des Cystacanthens selbst eine optische Enttarnung dieses Zwischenwirtes. Außerdem ist bekannt, dass eine Aufhellung bzw. Verdunkelung der an die Umgebung angepassten Farbe eines Zwischenwirtes durch eine Infektion mit Acanthocephalen erfolgen kann. Die Archiacanthocephala reifen in Vertretern der Tracheata (Insecta, Myriapoda) heran (KATES, 1943; BOWEN, 1967; BRENNAN & CHENG, 1975; CARMICHAEL & MOORE, 1991; ALLELY et al., 1992; BOLETTE, 1998). Dem ausgewählten Archiacanthocephalen *M. moniliformis* dient die amerikanische Großschabe, *Periplaneta americana*, als Zwischenwirt (KING & ROBINSON, 1967; LACKIE, 1972; ANUAR & PARAN, 1976; LACKIE & HOLT, 1988).

Die innerste der vier verschiedenen Eihüllen löst sich erst im Mitteldarm dieses Zwischenwirtes auf und die Acanthoren werden in diesem freigesetzt (MOORE & CROMPTON, 1993). Dort durchbrechen die Acanthoren sowohl die peritrophische Membran als auch das posterior gelegene Mitteldarmepithel (VOLKMANN, 1991) mit Hilfe eines bohrenden Mechanismus, dem "aclid-Organ" oder Rostellum (MILLER & DUNAGAN, 1985), das aus mehreren Reihen klingenartiger Haken besteht (SCHMIDT & ROBERTS, 1981; SCHMIDT, 1985). Sobald die Acanthoren die äußere Oberfläche des intestinalen

---

Gewebes erreicht haben, werden sie zunächst von zahlreichen Hämozyten umgeben und eingekapselt (ROBINSON & STRICKLAND, 1969; ROTHERAM & CROMPTON, 1972; VOLKMANN, 1991). Anschließend erfolgt ausschließlich im Hämocoel der Schabe die weitere Entwicklung der larvalen Parasitenstadien zu sogenannten Acanthellen (ROOTHERAM & CROMPTON, 1972). Aus dem Acanthella-Stadium entwickelt sich dann innerhalb von 6 bis 12 Wochen das juvenile, für den Endwirt infektiöse Stadium des Cystacanthen.

Die Befallszahlen im Zwischenwirt *P. americana* können mit bis zu 165 Cystacanthen pro Schabe außerordentlich hoch sein (CROMPTON et al., 1984). Es sind sogar Fälle bekannt, in welchen einzelne Käfer der Art *Popilla japonica* mit über 300 Cystacanthen des Kratzers *M. hirudinaceus* infiziert waren (MEHLHORN, 1988). Frisst ein Endwirt einen solchen infizierten Zwischenwirt, wird der Cystacanth von *M. moniliformis* im Darm frei, verliert seine membranöse Hülle und kann sich oberflächlich an der Mucosa seines Endwirtes festheften. Anschließend beginnt der festgeheftete Cystacanth zum geschlechtsreifen adulten Wurm heranzuwachsen. Im Endwirt dauert der gesamte Entwicklungszyklus etwa 38 Tage. 22 Tage nach der Infektion der Endwirte erfolgt die Bildung der Eier mit den Acanthoren, die schließlich bis zum Tag 38 p.i. heranreifen.

#### PATHOGENITÄT DER ACANTHOCEPHALA

Eine sehr große wirtschaftliche Bedeutung besitzen die Acanthocephalen als Parasiten von Wild-, Besatz- und Farmfischen (SCHÄPERCLAUS, 1979; REICHENBACH-KLINKE, 1980; VALTONEN, 1980; AMIN, 1985B; AMLACHER, 1986; WANSTALL et al., 1986; BATES & KENNEDY, 1990). Ein Massenbefall mit adulten Acanthocephalen kann durch Nahrungsentzug, Entzündungsreaktionen, Reizung der Schleimhaut oder durch Verstopfung bzw. Perforation des Darmes schwerste Erkrankungen der Endwirte hervorrufen (AWACHIE, 1972A, 1972B; RYDLO, 1975; ITÄMIES et al., 1980; REICHENBACH-KLINKE, 1980; TARASCHEWSKI et al., 1989; HAMERS, 1990; AMIN & HECKMANN, 1992; MEHLHORN et al., 1993). Bei *Gobius bucchichii* konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass die adulten Parasiten die allgemeine Fitness ihrer Wirte und den Reproduktionserfolg der weiblichen Wirte stark negativ beeinflussen (SASAL et al., 2001). JÜRGES (1996) konnte bei Blei-exponierten Ratten, die mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis* infiziert waren, eine erhebliche Veränderung der Nierenfunktion feststellen. Des weiteren sind von Ferkeln extreme Durchfälle, Muskelkrämpfe oder Abmagerung als Symptome der Erkrankung bekannt (MEHLHORN et al., 1993). Die adulten Acanthocephalen verankern sich mit ihrer hakenbewehrten Proboscis entweder oberflächlich in der Darmwand ihrer Wirte und wechseln dann häufig ihre Anheftungsstelle oder sie dringen mit ihrer Proboscis tief in die Wirtsdarmwand ein oder durchbohren sie sogar (NELSON & NICKOL, 1986). Dies hat Nekrotisierungen und Eosinophilie zur Folge (ZHAO et al., 1990). Außerdem kann es zu Darmverschlüssen durch eine entsprechend große Anzahl von Parasiten kommen.

Generell kann gesagt werden, dass die Acanthocephalen für Säugetiere pathogener sind als für Fische. Acanthocephaleninfektionen sind von zahlreichen Wirbeltierarten, einschließlich des Menschen, bekannt (GRASSI & CALANDRUCCIO, 1888; MOORE et al., 1969; AL-RAWAS et al., 1977; MEHLHORN, 1988; COUNSELMAN et al., 1989; IKEH et al., 1992; SINGLETON et al., 1993; MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998; TARASCHEWSKI, 2000; BUSH et al., 2001). Auch heutzutage stellt menschlicher Befall mit Acanthocephalen in China und Südostasien, keine Seltenheit dar. Die Infektionen des Menschen erfolgen durch den Verzehr von rohen, infizierten Zwischenwirten der Acanthocephalen, wie z.B. Gammariden, Schaben, Käferlarven oder anderen Wirbellosen (SCHMIDT, 1971). Auch von diversen Palaeacanthocephalenarten, wie z.B. *Acanthocephalus bufonis*, *Acanthocephalus rauschi*, *Bolbosoma* spp. und *Corynosoma strumosum*, sind Infektionen des Menschen bekannt (SCHMIDT, 1971; ADAMS et al., 1997; BUSH et al., 2001).

### STAND DER FORSCHUNG

Die Acanthocephalen sind der Wissenschaft schon seit langem bekannt. Erstmals beschrieben wurden die Parasiten im Jahr 1684 von dem italienischen Arzt Francesco Redi, der weiße Würmer in den Därmen von Aalen entdeckte. Über den Aufbau reifer Acanthocephaleneier, den Körperbau und die Physiologie der adulten Parasiten, ihre effizienten Ausbreitungsmechanismen, zahlreiche Entwicklungszyklen sowie die Wirtsspezifität einzelner Acanthocephalenarten wurden bereits zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, und dabei umfangreiche Erkenntnisse über verschiedenste Acanthocephalenarten gewonnen (CROMPTON, 1970; NICHOLAS, 1973; NICKOL, 1985; SCHMIDT, 1985; TARASCHEWSKI, 1989; KATHOON & BILQEES, 1991; DEZFULI et al., 2000; HERLYN, 2000; TARASCHEWSKI, 2000 & 2001).

Vereinzelt wurden ultrastrukturelle Untersuchungen über das Cystacanth-Stadium der Acanthocephalen, das sich im Entwicklungszyklus dieser Parasiten an das Larvalstadium des Acanthors anschließt, durchgeführt (ANANTARAMAN & RAVINDRANATH, 1973A & 1973B; DEZFULI & GIARI, 1999; HEHN et al., 2001; POULIN et al., 2003). Auch heute wird das Hauptaugenmerk der wissenschaftlichen Untersuchungen noch immer fast ausschließlich auf die Adulti der Acanthocephalen und ihre Endwirte gerichtet. Der Acanthor, insbesondere der geschlüpfte Acanthor, wurde bisher trotz der vielfältigen Erforschung der Acanthocephalen weitestgehend vernachlässigt.

Bis heute wurde der geschlüpfte Acanthor, abgesehen von eigenen Untersuchungen an dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* (REITZE, 1998), noch nie ultrastrukturell erforscht. Die seltenen Untersuchungen zur Morphologie des Acanthors beschränken sich entweder lediglich auf die Erforschung von ungeschlüpfen Acanthoren, die noch von den Eihüllen vor schädlichen Einflüssen geschützt werden, oder es handelt sich bei ihnen ausschließlich um lichtmikroskopische Arbeiten (VAN CLEAVE, 1947; WHITEFIELD, 1971; WRIGHT, 1971; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI et al., 1992; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; ALBRECHT et al., 1997; TARASCHEWSKI, 2000).

---

Acanthoren, die sich noch im reifen Acanthocephalenei befinden, sind äußerst komprimiert gelagert und geben daher selbst bei sorgfältigster Untersuchung wenige Details ihrer morphologischen Ausstattungsmerkmale bzw. ihrer Adaptationen preis.

Im Gegensatz zum Acanthor sind bei den großen Gruppen der übrigen Endohelminthen (Nematoden, Cestoden, Trematoden) die Morphologie, die Physiologie (z.B. Enzymausstattung) sowie das Verhalten der Larven (z.B. Wirtsfindung), die die Darmwand des ersten Zwischenwirtes penetrieren, gut erforscht. So ist zweifelsfrei bekannt, dass die Miracidien der meisten Trematodenarten zwar beeinflusst von Licht- und Temperatureinflüssen im Wasser aus der Eihülle schlüpfen, es andererseits aber auch Trematodenarten (z.B. *Dicrocoelium dendriticum*) gibt, deren Miracidien nach oraler Aufnahme durch Verdauungsenzyme beeinflusst erst im Darm des Zwischenwirtes schlüpfen (MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998). Die ersten Larvalstadien der Cestoden (Oncosphaera) werden in der Regel oral vom Zwischenwirt aufgenommen und dringen dann aktiv in das Wirtsgewebe ein (MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998).

### ZIELSETZUNG DER VORLIEGENDEN ARBEIT

Die Untersuchung der Acanthocephalen unter unterschiedlichsten Gesichtspunkten lässt erwarten, zukünftig ein umfassendes Wissen über die Biologie der Acanthocephalen zu erlangen. Da der Acanthor entscheidende Funktionen (Erkennung des Schlüpfzeitpunktes, Erreichen der Darmwand des Wirtstieres, Penetration der Darmwand) während der Entwicklung des Parasiten zum Adultus erfüllt, stellt der Acanthor ein wichtiges Stadium im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen dar.

Über den Acanthor ist weitaus weniger bekannt als beispielsweise über die ersten Larvalstadien anderer Endohelminthen (Miracidien, Coracidien, Oncosphären, L<sub>2</sub>-Larven). Daher hat die vorgelegte Arbeit das Bestreben Grundlagenforschung zu betreiben und neue Erkenntnisse über den geschlüpften Acanthor zu gewinnen. Die neuen Erkenntnisse sollen sowohl die Morphologie als auch das Verhalten des Acanthors betreffen.

Die Morphologie des geschlüpften Acanthors soll im Vergleich zum ungeschlüpften Acanthor auf der ultrastrukturellen Ebene untersucht werden. Diese Untersuchungen sollen detaillierte Informationen darüber liefern, welche morphologische Ausstattungsmerkmale bzw. Charakteristika den Acanthor in die Lage versetzen seine umfangreichen Aufgaben im Ablauf des Entwicklungszyklus eines jeden Acanthocephalen effizient und erfolgreich zu bewältigen. Die Kenntnis des ultrastrukturellen Aufbaus des Acanthors ist eine wesentliche Voraussetzung für das funktionelle Verständnis physiologischer und pathologischer Abläufe im Organismus. Es soll daher versucht werden zu klären, ob die vorhandenen Strukturelemente generell ein Bestandteil im Aufbau der Acanthoren darstellen oder ob die Acanthoren der einzelnen Acanthocephalenarten spezielle Adaptationen an ihre jeweiligen Wirte aufweisen. So weist die Darmwand der einzelnen Zwischenwirte durchaus einen unterschiedlichen Aufbau bezüglich ihrer Dicke auf. Auch der Aufbau bzw. die chemische Zusammensetzung der peritrophischen Membran der Zwischenwirte, deren Dicke während des Alterns der entsprechenden Tiere zunimmt, ist recht unterschiedlich (PETERS, 1992; WESTHEIDE & RIEGER, 1996).

Ein weiterer Schwerpunkt soll auf das Wirt-Parasit-Verhältnis bzw. die Wirt-Parasit-Interaktionen zwischen dem Acanthor und dem Zwischenwirt gelegt werden. Sind die Invasionsmechanismen der Larvalstadien bzw. die Wirt-Parasit-Interaktionen möglichst vieler Parasitenarten aufgeklärt und verstanden worden, könnten aus diesen grundlegenden Erkenntnissen der Wissenschaft Möglichkeiten und Ansatzpunkte in die Hand gegeben werden, um in der Zukunft gegen die für die Human- und Veterinärmedizin interessanten Parasitenarten möglichst effektive bzw. spezifische Gegenmaßnahmen zu entwickeln.

Da die reifen Acanthocephaleneier kürzere oder längere Zeit dem Umgebungsmilieu des Endwirtes ausgesetzt sein können, bevor sie von einem geeigneten Zwischenwirt gefressen werden, sollen eigene Untersuchungen Aufschluss über die Überlebensfähigkeit des Acanthors im infektiösen Acanthocephalenei liefern. Außerdem soll in *in-vitro*-Schlüpfexperimenten versucht werden herauszufinden, welche Stimulantien für die Aktivierung der von den Eihüllen umschlossenen Acanthoren verantwortlich sind. Bisher konnte nicht detailliert geklärt werden, welche Faktoren das Schlüpfen der Parasitenlarven auslösen. Anschließend sollen lichtmikroskopische Beobachtungen zum Bewegungsverhalten bzw. -vermögen der Acanthoren stattfinden, da der Acanthor nach dem Schlüpfen erst die Darmwand des Wirtes erreichen muss, bevor er diese penetrieren kann.

Auch der eigentliche Penetrationsprozess dieser Parasitenlarve durch die Darmwand eines Wirtstieres ist noch relativ unerforscht. Daher soll untersucht werden durch welche Ausstattungsmerkmale bzw. Adaptationen der geschlüpfte Acanthor in die Lage versetzt wird, die Darmwand eines Wirtstieres innerhalb kurzer Zeit zu penetrieren. Bei diesen Untersuchungen soll versucht werden zu klären, ob die Acanthoren die mechanischen Penetrationsprozesse enzymatisch unterstützen. So konnte EDMONDS (1966) beobachten, dass aktivierte Acanthoren von *M. moniliformis* Chitinase sezernieren. Von verschiedenen Entwicklungsstadien anderer Helminthenarten ist beispielsweise das Vorkommen von Proteinasen, insbesondere der Cathepsin L Proteinase, nachgewiesen, die bei den bisher untersuchten Larvalstadien eine entscheidende Rolle spielen und deren mechanische Penetrationsvorgänge durch histolytische Prozesse effektiv unterstützen (MOCZON, 1994 & 1996; GELDHOF et al., 2000; KONG et al., 2000; BUCKLE et al., 2002; DALTON et al., 2003). Bei der Cathepsin L Proteinase handelt es sich um ein effektives Penetrationsenzym, das eine große proteolytische Aktivität gegenüber einer großen Bandbreite von Strukturproteinen (Kollagen, Elastin, Laminin, usw.) besitzt (SMITH et al., 1993; DOWD et al., 1994). Eine derartige Bandbreite an hydrolysierbaren Proteinen erleichtert Parasitenstadien das Eindringen in Wirtsgewebe enorm. Daher soll eine mögliche enzymatische Beteiligung an dem Penetrationsprozess der Acanthoren exemplarisch anhand der unterschiedlichen Ausstattung verschiedener Entwicklungsstadien des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* mit der histolytischen Cathepsin L Proteinase überprüft werden.

---

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Verwendete Tierarten

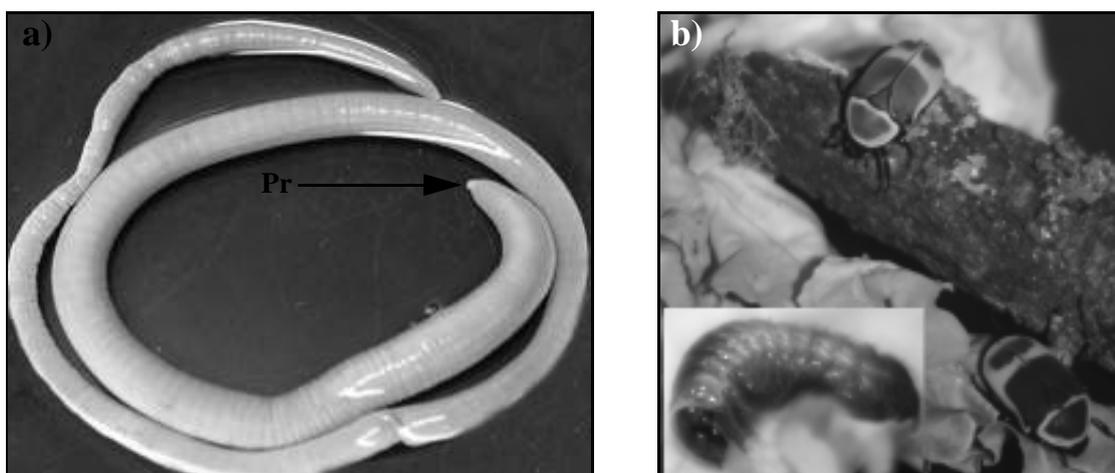
#### 2.1.1 Parasitische Tierarten

##### 2.1.1.1 *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Klasse: Archiacanthocephala)

Als Untersuchungsobjekt wurde unter anderem der sogenannte Riesenkratzer *M. hirudinaceus*, der sich durch eine stark bezahnte, vorstülpbare Proboscis auszeichnet und eine extreme Körperlänge erzielt, ausgewählt (siehe Abbildung 3a). Die Verbreitung des Riesenkratzers erstreckt sich mit der Verbreitung des Hausschweines sowohl in gemäßigten als auch in tropischen Zonen über die ganze Erde (MEYER, 1931).

#### MORPHOLOGIE

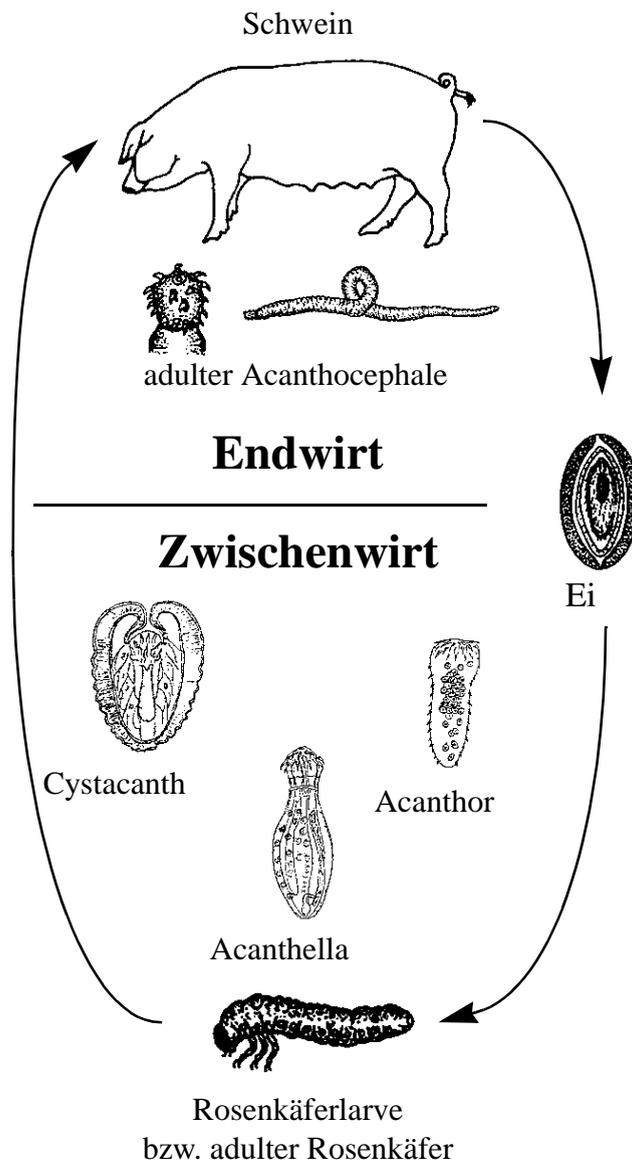
Während die adulten weiblichen Tiere eine Körperlänge von bis zu 100 Zentimeter erreichen, werden die männlichen Adulti nur bis zu zehn Zentimeter lang (MEYER, 1931). Ausgewachsene weibliche Exemplare dieser Acanthocephalenart legen für zehn Monate täglich um die 260.000 infektiöse Eier. Die reifen Acanthocephaleneier weisen eine Größe von etwa 80-100  $\mu\text{m}$  x 50-60  $\mu\text{m}$  auf.



**Abbildung 3** Adulter *M. hirudinaceus* (a) und sein Zwischenwirt *Pachnoda marginata* (b).  
Pr: Proboscis

## FORTPFLANZUNG UND ENTWICKLUNGSZYKLUS

Als Endwirte des Riesenkratzers *M. hirudinaceus* dienen in der Regel Schweine (KATES, 1944; DUNAGAN & MILLER, 1980; ROSE 1981). Im Schweinedarm reifen die dorthin gelangten Parasitenlarven innerhalb von zwei bis drei Monaten zu adulten Acanthocephalen heran (siehe Abbildung 4). Es kann jedoch durchaus vorkommen, dass *M. hirudinaceus* auch Menschen befällt (BARNISH & MISCH, 1987). Der Befall des Menschen ist äußerst schmerzhaft, so dass die Würmer operativ aus dem Darm des befallenen Menschen entfernt werden müssen (RADOMYOS et al., 1989). Als Zwischenwirte dieser Acanthocephalenart dienen die Larven bzw. Adulti verschiedener Käferarten (z.B. Rosenkäfer, siehe Abbildung 3b), die die voll embryonierten abgesetzten Eier mit ihrer Nahrung aus den Fäzes der Endwirte oral aufnehmen (DANGJIN, 1996).



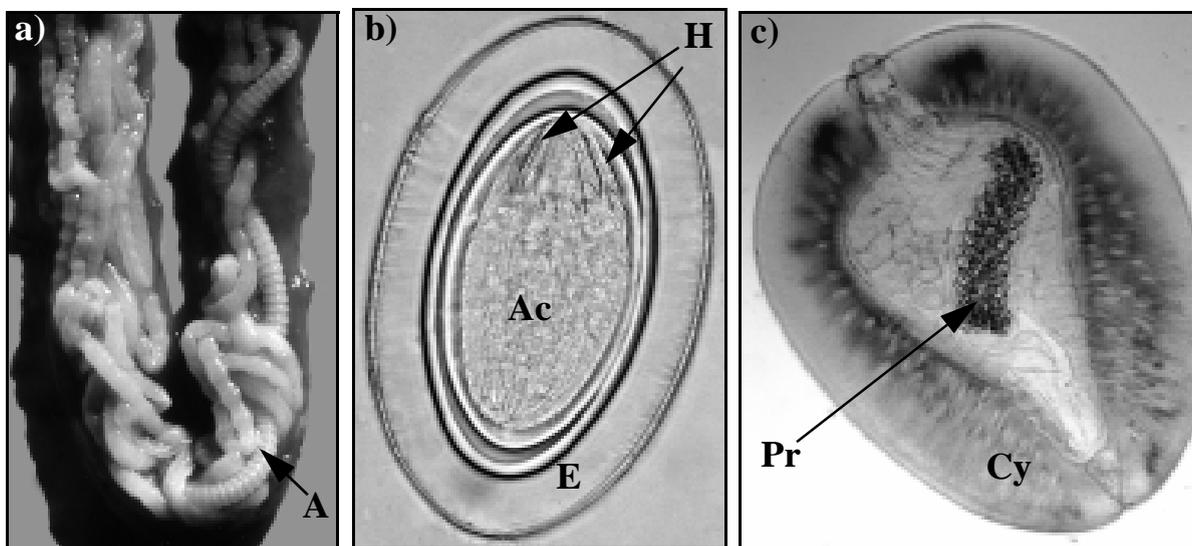
**Abbildung 4** Schemazeichnung des Entwicklungszyklus des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* (verändert nach MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998)

### 2.1.1.2 *Moniliformis moniliformis* (Klasse: Archiacanthocephala)

Als weiterer parasitärer Organismus wurde der Archiacanthocephale *M. moniliformis* ausgewählt. Zunächst musste für die Bearbeitung der Fragestellung ein vollständiger Lebenszyklus dieses Acanthocephalen mit geeigneten Zwischen- und Endwirten im Labor etabliert werden.

#### MORPHOLOGIE

Die adulten Würmer weisen eine langgestreckte, zylindrische Körpergestalt auf und sind von milchig-weißlicher Farbe (siehe Abbildung 5a). Ihre Körperoberfläche bildet in regelmäßigen Abständen kleine Auffaltungen, die ihnen das Aussehen eines Cestoden verleihen. Dies erweckt den Anschein einer Untergliederung des Körpers, tatsächlich sind die Parasiten jedoch unsegmentiert. In der Leibeshöhle von weiblichen *M. moniliformis* flotieren zahlreiche Eier unterschiedlichen Reifungsgrades (siehe Abbildung 5b). *M. moniliformis* weist einen deutlichen Geschlechtsdimorphismus auf. Größenangaben für adulte weibliche *M. moniliformis* werden mit 14 - 27 Zentimeter (MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998) bzw. 30 Zentimetern (MEHLHORN et al., 1993) gemacht. Adulte männliche Tiere dagegen sind mit einer Körperlänge von acht Zentimetern (MEHLHORN et al., 1993) deutlich kleiner. Die Proboscis der adulten Tiere hat ebenfalls zylindrische Gestalt und ist mit langen Reihen gerade angeordneter Haken versehen, deren Spitzen caudalwärts zeigen (siehe Abbildung 5c).



**Abbildung 5** Verschiedene Entwicklungsstadien des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*.

a) Geöffneter Rattendarm mit einigen adulten *M. moniliformis*.

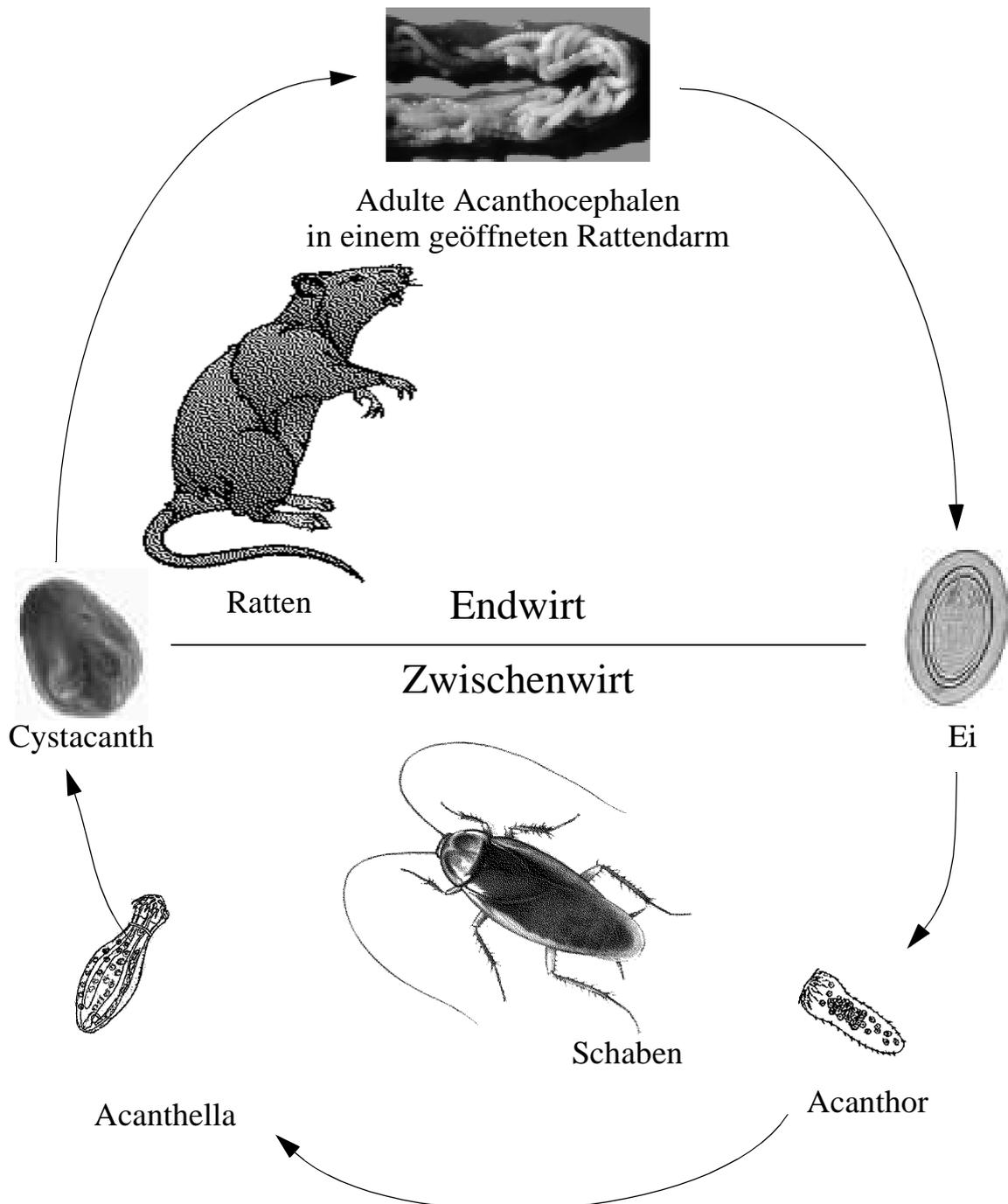
b) Lichtmikroskopische Aufnahme eines reifen Eies von *M. moniliformis*.

c) Lichtmikroskopische Aufnahme eines reifen Cystacanthen aus der Leibeshöhle von *P. americana*.

A: adulter Acanthocephale, Ac: Acanthor, Cy: Cystacanth, E: Eihüllen, H: Haken, Pr: Proboscis

## FORTPFLANZUNG UND ENTWICKLUNGSZYKLUS

Der Lebenszyklus von *M. moniliformis* (siehe Abbildung 6) umfasst, wie bei den meisten anderen Acanthocephalen, zwei Wirte, wobei als Endwirt ein Vertebrat (*Rattus norvegicus*) dient und als Zwischenwirt in der Regel ein Arthropode, z.B. die Schabenart *Periplaneta americana* (LACKIE, 1972; MONKS & NICKOL, 1989; CARMICHAEL & MOORE, 1991; FREEHLING & MOORE, 1993; LIBERSAT & MOORE, 2000).



**Abbildung 6** Entwicklungszyklus des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* (nach MOORE, 1946A)

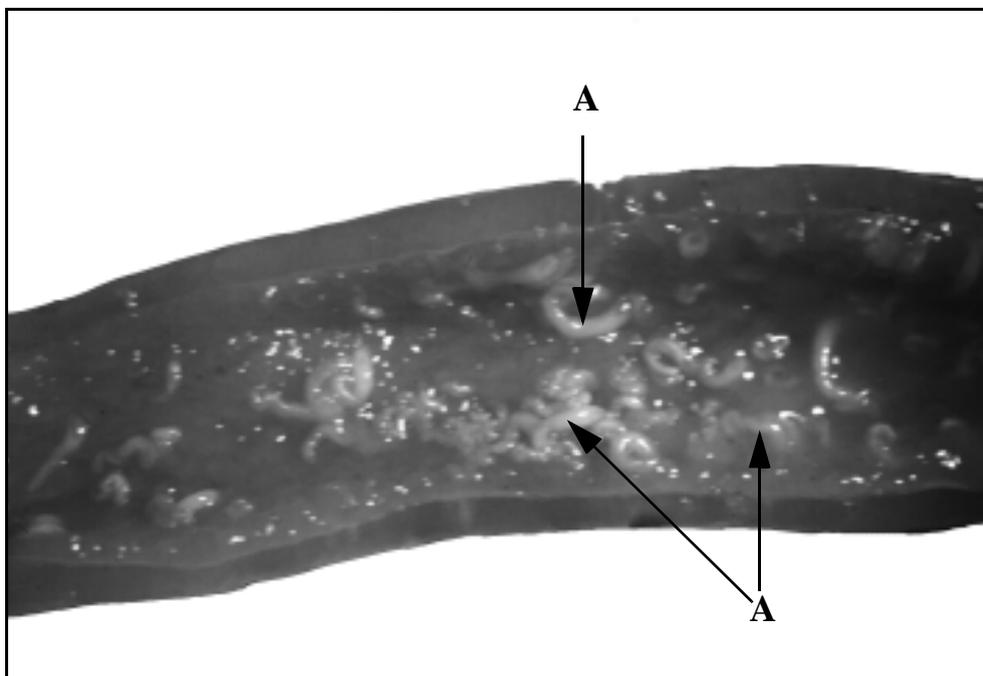
Von den meisten Parasitenarten konnte eine für die Versuche ausreichende Menge an adulten Würmern, die infektiöse Eier enthielten, aus der Natur entnommen werden, so dass von den betreffenden Parasitenarten stets inaktive sowie aktivierte Larvalstadien und deren Schlüpfbedingungen untersucht werden konnten.

Von *M. moniliformis* standen zu Beginn nur sehr wenige weibliche Adulti zur Verfügung. Um eine ausreichende Menge an infektiösen Acanthocephaleneiern zu erlangen, wurde mit dem Aufbau eines Laborzyklusses von *M. moniliformis* begonnen. Erst nach Infektion der Zwischenwirte (*P. americana*) und der Endwirte (*Rattus norvegicus*) waren genug infektiöse Parasiteneier bzw. Parasitenlarven vorhanden, um mit den eigentlichen Untersuchungen der Parasitenlarven beginnen zu können.

### 2.1.1.3 *Paratenuisentis ambiguus* (Klasse: Eoacanthocephala)

Der adulte Parasit ist mit seiner vorstülpbaren Proboscis relativ leicht in der Mucosa von Aalen verankert. Dabei erreicht der weibliche Acanthocephale eine Körperlänge von 10-14 mm, der männliche Wurm dagegen weist eine deutlich geringere Größe von 6-8 mm auf (BULLOCK & SAMUEL, 1975). Die Körperfarbe des Parasiten reicht von weiß bis grünlich-gelb (siehe Abbildung 7).

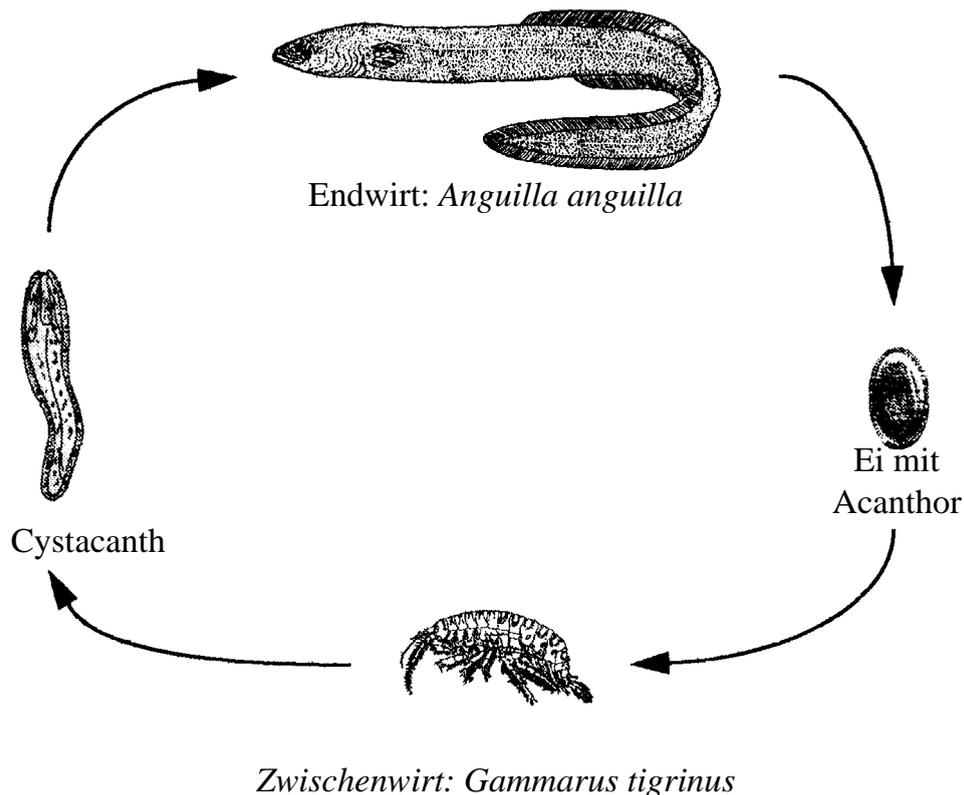
Die reifen Eier des Parasiten sind von ovaler Gestalt und weisen eine charakteristische Ringelung auf, die unter dem Lichtmikroskop ideal zur Überprüfung der Infektiösität der Eier verwendet werden kann.



**Abbildung 7** Geöffneter Aaldarm mit zahlreichen Adulti von *P. ambiguus*.  
A: adulter Acanthocephale von *P. ambiguus*

### FORTPFLANZUNG UND ENTWICKLUNGSZYKLUS

Der Europäische Aal (*Anguilla anguilla*) dient dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* als Endwirt und bildet zusammen mit ihm und seinem einzigen bisher bekannten Zwischenwirt, dem Gammariden *Gammarus tigrinus*, ein Wirt-Parasit-System, das sich seit Ende der 50er Jahre erfolgreich im nördlichen Mitteleuropa verbreitet hat (TARASCHEWSKI et al., 1987).



**Abbildung 8** Entwicklungszyklus des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* (verändert nach HAMERS, 1990)

Das Neozoon *P. ambiguus*, das aus Nordamerika stammt, parasitierte ursprünglich den Amerikanischen Aal *Anguilla rostrata* (SAMUEL & BULLOCK, 1981). Dieser Parasit wurde 1957 unbeabsichtigt zusammen mit seinem Zwischenwirt *G. tigrinus* in die Werra eingebracht. Beabsichtigt war dabei lediglich gewesen, den Gammariden *G. tigrinus* in der Werra auszusetzen, um dort den heimischen Flohkrebs *Gammarus pulex* zu ersetzen, der durch seinen massiven Rückgang den Fischen als Nahrungsgrundlage fehlte (TARASCHEWSKI et al., 1987). Rasch hatte sich der Gammaride *G. tigrinus* aus dem Werra-Weser-Gebiet über den Nord-Ostsee-Kanal bis nach Holland, England, Irland und sogar in den Rhein verbreitet (GRUNER et al., 1993), da er überall dort Vorteile gegenüber *Gammarus pulex* hatte, wo die Salinität des Wassers entweder durch

Industrieabwässer oder durch Küstennähe angestiegen ist. In der Zwischenzeit stellt *G. tigrinus* kein aktuelles Problem mehr dar, da er fast überall wieder ausgerottet worden ist.

#### 2.1.1.4 Klasse: Palaeacanthocephala

Darüber hinaus wurden Untersuchungen zum Schlüpfverhalten bzw. -Stimuli der Acanthoren mit einer Reihe von Palaeacanthocephalenarten (*Acanthocephalus lucii*, *Acanthocephalus ranae*, *Echinorhynchus gadi*, *Pomphorhynchus laevis*, *Profilicollis botulus*, usw.) durchgeführt. Um die entscheidenden Schlüpfstimulantien herauszufinden, wurden reife Acanthocephaleneier verschiedener Acanthocephalenarten unterschiedlichen Milieubedingungen und Behandlungen ausgesetzt. Außerdem fanden Verfütterungsexperimente von infektiösen Parasiteneiern an geeignete bzw. ungeeignete Zwischenwirte (Amphipoden bzw. Isopoden) statt.

Die adulten Tiere der eingesetzten Acanthocephalenarten wurden aus den Gedärmen von freilebenden Endwirten (Fischen, Amphibien, Wasservögeln) der entsprechenden Parasitenart gewonnen. Als Zwischenwirte fungieren generell Arthropoden, wie Amphipoden und Isopoden.

#### 2.1.2 Verwendete Zwischenwirte

Als Zwischenwirte werden solche Tiere bezeichnet, in denen eine ungeschlechtliche Vermehrung oder die Reifung einer Parasitenart abläuft (MEHLHORN & PIEKARSKI, 1998).

##### 2.1.2.1 *Periplaneta americana*

Die als Zwischenwirt für den Rattenkratzer (*M. moniliformis*) verwendete Amerikanische Schabe (*P. americana*) gehört ebenso wie die Küchenschabe (*Blatta orientalis*) und die Deutsche Schabe (*Blattella germanica*) zur großen Familie der Blattidae. Bei *P. americana* handelt es sich um einen erfolgreichen Kosmopoliten, der im 17. Jahrhundert aus Afrika nach Europa eingeschleppt wurde. Die Amerikanische Schabe kommt in Mitteleuropa nur äußerst selten im Freien vor, dafür aber in dauerbeheizten Gebäuden, wie z.B. Krankenhäusern, Bäckereien, Gewächshäusern oder Großküchen.

##### 2.1.2.2 *Gammarus tigrinus* (Ord. Amphipoda)

Dieser Flohkrebs erreicht eine Körperlänge von bis zu 1,2 Zentimetern und weist eine schwarz-grau-weiße Färbung ("Tigerung") auf (siehe Abbildung 9). Der Amphipode bevorzugt in seinem Lebensraum eine leichte Salinität (Brackwasser) und vermehrt sich bei dieser auch am besten. Der Gammaride wurde deshalb bei 3 Promille Salinität gehalten. Zur Herstellung dieses Brackwassers wurde reines Meersalz verwendet.

---

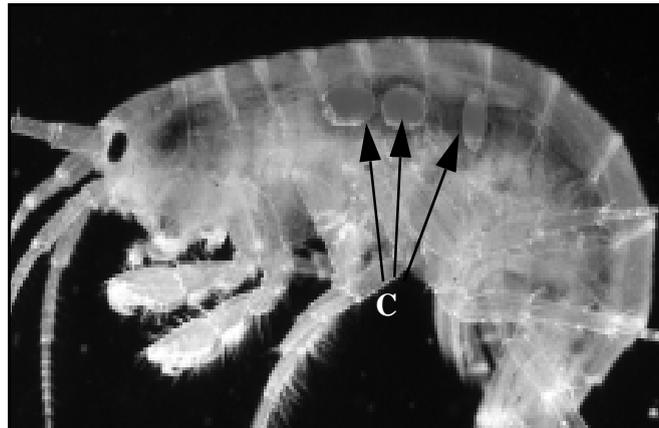


**Abbildung 9** *G. tigrinus*, der mit dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* infiziert ist.  
C: infektiöser Cystacanth des Acanthocephalen *P. ambiguus*

### 2.1.2.3 *Gammarus pulex* (Ord. Amphipoda)

Der Bachflohkrebs *G. pulex* ist der bekannteste Flohkrebs des Süßwassers (siehe Abbildung 10). Diese Art kommt in stehenden und fließenden Gewässern vor. Der Gamma-ride stellt relativ hohe Ansprüche an den Kalkgehalt und die Sauberkeit des Wassers. Deshalb kommt er vorwiegend in den Mittel- und Unterläufen von Bächen und Flüssen der Kalksteinregionen Mitteleuropas vor, die, wenn überhaupt, nur leicht verschmutzt sind (KOHMANN & SCHMEDTJE, 1992). Als Nahrung dienen ihm lebende und abgestorbene Pflanzen, verwesende Insekten und Crustaceen.

Sein Körper ist seitlich abgeflacht und bogenförmig geschwungen. Bei niedrigem Wasserstand bewegt er sich auf der Seite liegend vorwärts. Meist weist er eine grau-gelbe bis orange-braune Färbung auf. Der Krebs kann eine Körpergröße von bis zu 2,4 Zentimetern erreichen und wird mit etwa 3-4 Monaten geschlechtsreif. Die Weibchen können im Sommer jeden Monat ein Gelege mit durchschnittlich 8-30 Eiern produzieren und ziehen bei günstigen Bedingungen innerhalb eines Jahres 6-9 Bruten hoch (GRUNER et al., 1993). Die Lebenserwartung der Tiere beträgt 1-2 Jahre (WESTHEIDE & RIEGER, 1996).



**Abbildung 10** *Gammarus pulex*, der mehrfach mit dem Palaeacanthocephalen *Polymorphus minutus* infiziert ist. C: infektiöse Cystacanthen von *P. minutus*

## 2.1.3 Verwendete Endwirte

### 2.1.3.1 Laborratte (*Rattus norvegicus*)

Weltweit sind vor allem zwei Rattenarten bekannt, die *M. moniliformis* für gewöhnlich als Endwirt dienen, die Wanderratte (*R. norvegicus*) und die Hausratte (*Rattus rattus*). Die Wanderratte (*R. norvegicus*) gehört innerhalb der Ordnung der Nagetiere (Rodentia) zur Familie der Echten Mäuse (Muridae) und bildet die eigene Gattung Rattus. Vor der letzten Eiszeit war die Wanderratte (*R. norvegicus*) ursprünglich in Asien und Australien beheimatet, ehe die Tiere jedoch im Gefolge des Menschen die ganze Welt eroberten.

Die Wanderratte stellt die Urform der Laborratten dar (BULLA, 1990). Von *R. norvegicus* existieren mittlerweile zahlreiche Stämme, die als Laborratten für experimentelle Zwecke käuflich zu erwerben sind. Bei den verwendeten Ratten handelte es sich sowohl um männliche als auch weibliche weiße Wistar-Ratten des CD-M-Stammes (Firma Charles Rivers), der weitestgehend pathogenfrei speziell für Laborexperimente gezüchtet wird.

## 2.2 Tierhaltung

### 2.2.1 Hälterung von *Periplaneta americana*

Einige erste Exemplare der Art *P. americana* wurden freundlicherweise von der Bayer AG in Leverkusen bzw. der Wilhelma in Stuttgart zum Aufbau einer eigenen Schabenzucht zur Verfügung gestellt.

Die Schaben wurden in großen Terrarien, die mit feinmaschigen Gitterdeckeln gegen ein Eintweichen sowohl von Larvalstadien als auch von adulten Tieren gesichert war, gehalten. Um den Tieren möglichst optimale Lebensbedingungen zu bieten, erfolgte die Hälterung der Schaben bei konstanten 28 °C, eine Temperatur, die für die Schaben ideale Lebens- und Entwicklungsbedingungen bietet (CORNWELL, 1968). Zusätzlich erfolgte eine permanente Luftbefeuchtung durch temperaturabhängige Wasserverdunstung aus Vorratsbehältern.

Als Nahrung erhielten die Schaben hauptsächlich fleischhaltiges Dosenfutter für Katzen bzw. Hunde. In regelmäßigen Abständen wurde dieses Nahrungsangebot durch verschiedene Obstsorten bzw. grünen Salat ergänzt. Um eine ausreichende Flüssigkeitsversorgung der Schaben zu garantieren, hatten sie ständig Zugang zu frischem Leitungswasser. Versteckmöglichkeiten standen den Schaben in Form von Eierkartons zur Verfügung.

### **2.2.2 Hälterung von *Gammarus tigrinus***

Die Zucht des Flohkrebse wurde bereits von HYNES (1955) und SCHMITZ (1960) in größeren Aquarien erfolgreich durchgeführt. Das für die eigene Zucht verwendete Aquarium hatte eine Größe von 40 cm x 100 cm x 45 cm. Der Aquarienboden war mit feinem Kies bzw. Sand bedeckt und das Becken wurde gut belüftet. Der pH-Wert des Beckenwassers lag im neutralen Bereich (pH: 7.0) und die Wassertemperatur betrug konstant 20 °C. Bei dieser Temperatur werden die Flohkrebse etwa fünf Wochen nach dem Schlüpfen geschlechtsreif (RUOFF, 1968). Ist die Temperatur zu niedrig oder der Salzgehalt zu gering, vermehrt sich der Amphipode nicht mehr (DORGELO, 1974; PINKSTER et al., 1977).

Wie bereits erwähnt, bevorzugt der Amphipode eine leichte Salinität und vermehrt sich bei dieser auch am besten. Somit pflanzt er sich ununterbrochen fort und es stehen immer genügend Jungtiere für eine Infektion zur Verfügung. Der Gammaride wurde deshalb bei drei Promille Salinität gehalten.

Als Futter wurde den Gammariden weiches Laub vorwiegend von Schwarzerlen und Birken angeboten. Zusätzlich wurden zwei bis drei Pellets Rattenfutter pro Woche und etwas Flockenfutter für Zierfische angeboten. Es wurde darauf geachtet, dass die Tiere ständig genug zu fressen hatten, da sie bei Nahrungsmangel zu Kannibalismus neigen. Als Lebendfutter eignen sich Cladoceren, Tubificiden und Enchyträen (RUOFF, 1968).

Die Flohkrebse entwickelten sich im Gegensatz zu den Angaben von RUOFF (1968) auch ohne die Gabe von frischem Pflanzenmaterial völlig normal und vermehrten sich erfolgreich. Alle vier Wochen wurde etwa ein Drittel des Aquarienwassers ausgetauscht und Mulm abgesaugt.

---

### 2.2.3 Hälterung von *Gammarus pulex*

Für die Zucht des Gammariden wurde ein handelsübliches Aquarium (30 cm x 60 cm x 30 cm) benutzt. Der Aquarienboden war mit feinem Kies bzw. Sand bedeckt. Um eine optimale Sauerstoffversorgung der Zuchttiere zu garantieren, wurde das Aquarium ständig belüftet. Der pH-Wert des Beckenwassers wurde konstant im neutralen Bereich (pH: 7.0) gehalten und die Wassertemperatur betrug 20 °C. Bei Temperaturen unter 5 °C stellt der Flohkrebs seine Vermehrung ein (HYNES, 1955; PINKSTER et al., 1977).

Als Futter wurde den Bachflohkrebsen, wie bei *G. tigrinus*, Laub von Schwarzerlen angeboten. Zusätzlich wurden mehrere Pellets Rattenfutter pro Woche und etwas Flockenfutter für Zierfische als Nahrungsergänzung zugegeben. Pro Woche wurde etwa ein Drittel des Aquarienwassers gegen Leitungswasser ausgetauscht und entstandener Mulm abgesaugt.

### 2.2.4 Hälterung von *Rattus norvegicus*

Es wurden sowohl männliche als auch weibliche Ratten als Versuchstiere verwendet. Die Ratten wurden stets einzeln in handelsüblichen Laborkäfigen gehalten. Sie erhielten frisches Leitungswasser und pelletiertes Standardfutter für Ratten und Mäuse der Marke Altromin *ad libitum*. Zusätzlich bekamen die Ratten in regelmäßigen Abständen trockenes Brot, Löffelbiskuits und frisches Obst als Nahrungsergänzung angeboten, um eine ausreichende Versorgung der Parasiten mit Nährstoffen (z.B. Saccharose) sicherzustellen und dadurch ein optimales Wachstum der Würmer zu garantieren. In dem verwendeten Standardfutter zur Aufzucht von Ratten und Mäusen sind keinerlei verwertbare Kohlenhydrate enthalten.

Als Einstreu der Käfige dienten handelsübliche Holzspäne (Allspan), die zweimal pro Woche erneuert wurden. Der Raum, in dem die Ratten gehalten wurden, hatte eine durchschnittliche Temperatur von 20 °C. Durch eine zeitgesteuerte Beleuchtung wurde ein diurnaler Rhythmus von 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit aufrechterhalten.

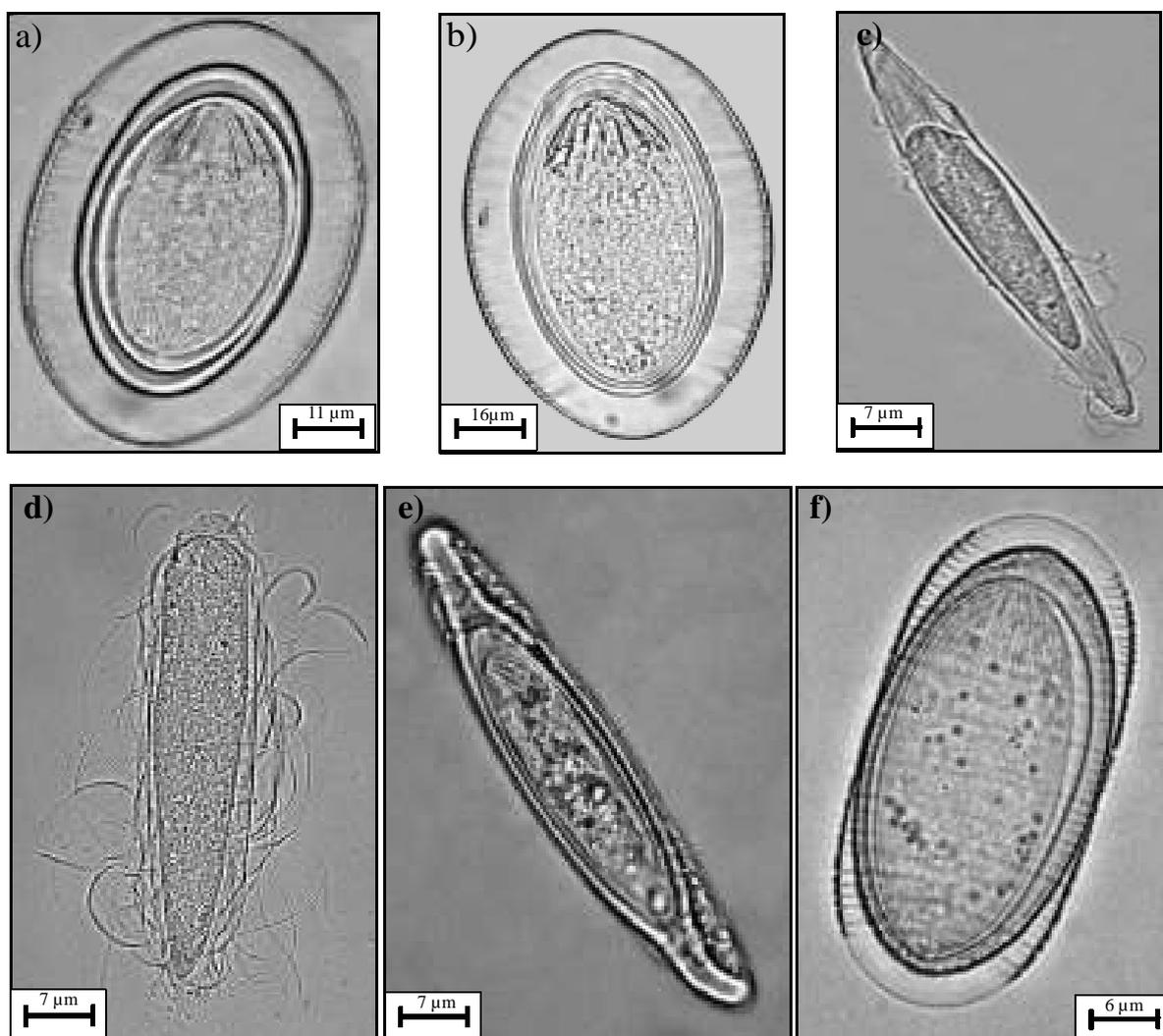
## 2.3 Gewinnung der reifen Acanthocephaleneier

Um an reife Acanthocephaleneier zu gelangen (siehe Abbildung 11), wurden zunächst die Gedärme der frisch geschlachteten Endwirte (Ratten, Schweine, Fische, Vögel usw.) der entsprechenden Parasitenart geöffnet und die vorhandenen Adulti der Acanthocephalen herauspräpariert. Die adulten Parasiten wurden kurz abgespült und in physiologische Lösung überführt.

Bei entsprechender Lagerung (8 °C) der adulten Acanthocephalen und regelmäßigem Medienwechsel behalten Acanthocephaleneier nach eigenen Untersuchungen sowie nach DEGIUSTI (1949) mindestens neun Monate lang ihre Infektiosität für die entspre-

chenden Zwischenwirte bei. Kurz vor dem Versuchsbeginn wurden einzelne weibliche Acanthocephalen in frischer physiologischer Lösung aufgeschnitten und die in ihnen enthaltenen Eier mit einer Pasteurpipette aus dem prall gefüllten Pseudocoel herausgeschwemmt. Die herausgeschwemmten Eier wurden anschließend bis zum Versuchsbeginn in physiologischer Lösung (0.8 % NaCl) gelagert.

Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn wurde der Reifegrad der Acanthocephaleneier nochmals anhand ihres optischen Erscheinungsbildes unter dem Lichtmikroskop überprüft. Dabei wurde auch auf Schäden der Eihülle geachtet. Zur Dokumentation des Reifegrades der Eier der jeweiligen Acanthocephalenarten wurde ein Axiophot der Firma Zeiss benutzt.



**Abbildung 11** Lichtmikroskopische Aufnahme von reifen Eiern verschiedener Acanthocephalen. **a)** Infektiöses Ei des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*. **b)** Infektiöses Ei des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*. **c)** Infektiöses Ei des Palaeacanthocephalen *Acanthocephalus lucii*. **d)** Infektiöses Ei des Palaeacanthocephalen *Acanthocephalus ranae*. **e)** Infektiöses Ei des Palaeacanthocephalen *Pomphorhynchus laevis*. **f)** Infektiöses Ei des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*

## 2.4 In-vitro-Infektion der verwendeten Tierarten

### 2.4.1 Infektion von *Periplaneta americana*

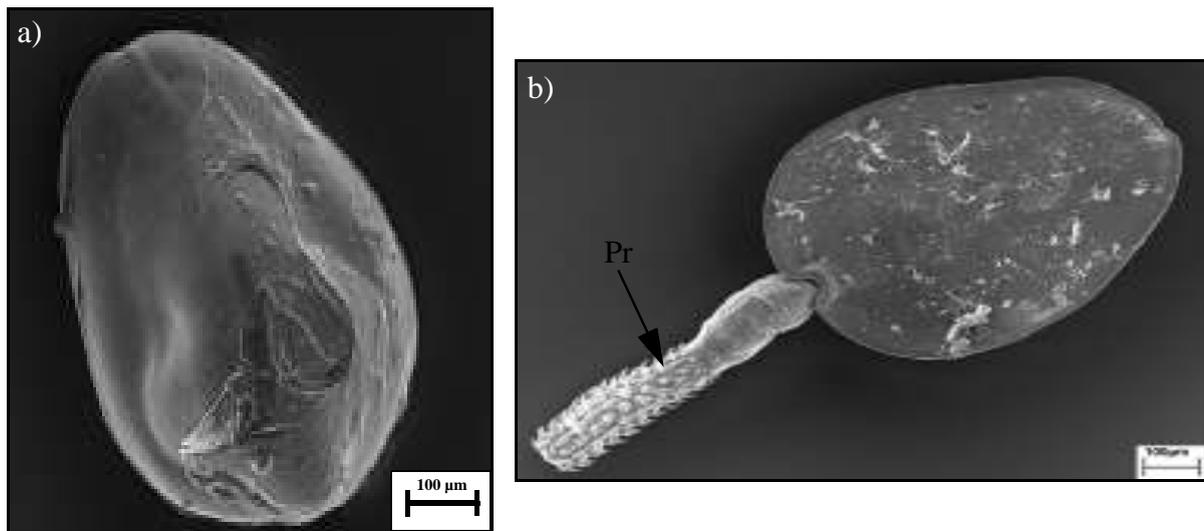
*P. americana* wurde als Zwischenwirt für *M. moniliformis* ausgewählt, da sich mit ihr mit großer Wahrscheinlichkeit hohe Befallsintensitäten erzielen lassen (FREEHLING & MOORE, 1993; MOORE & CROMPTON, 1993).

Vor der eigentlichen Infektion der Schaben mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis* wurden die eingesetzten Tiere separiert und fünf Tage lang ohne Nahrung und Trinkwasser gehalten. Anschließend fand die Infektion der Schaben mit einer Suspension reifer Eier von *M. moniliformis* statt. Jeder einzeln gehaltenen Schabe wurde für 48 Stunden sowohl ein separater Tropfen Acanthocephaleneier-Glucose-Suspension, der mehrere hundert reife Eier des Acanthocephalen enthielt, als auch ein kleines Stück Obst angeboten. Dieses Stück Obst wurde gleich nach seiner Zugabe großzügig mit derselben Acanthocephaleneier-Glucose-Suspension beträufelt. Um eine gleichmäßige Verteilung der Acanthocephaleneier in der Suspension zu erzielen, wurde die Acanthocephaleneier-Glucose-Suspension direkt vor ihrer Zugabe kurz mit einem Vortex-Mixer (Firma neoLab) durchmischt.

Innerhalb der 48-stündigen Isolationsphase der Schaben wurde mehrmals nach Augenschein kontrolliert, ob die Schaben von der angebotenen Acanthocephaleneier-Glucose-Suspension aufgenommen hatten.

Nach Ablauf der zwei Tage wurden die Schaben wieder in großen Terrarien zusammengesetzt. Der Entwicklungsgrad der Parasitenstadien wurde nach 60 Tagen erstmals kontrolliert, da sich diese nach dieser Zeit normalerweise über mehrere Acanthellenstadien zu den für den Endwirt infektiösen Cystacanthen weiterentwickelt haben. Zu diesem Zweck wurden einzelne infizierte Schaben entnommen und abgetötet.

Anschließend wurde die Leibeshöhle dieser Tiere unter einem Binokular (Firma Zeiss) geöffnet und auf das Vorhandensein von reifen Cystacanthen untersucht (siehe Abbildung 12). Falls Cystacanthen vorhanden waren, wurden diese in physiologische Lösung überführt und bei 8 °C bis zur Infektion der Endwirte zwischengelagert.



**Abbildung 12** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Cystacanthen von *M. moniliformis*. **a)** Infektiöser Cystacanth aus der Leibeshöhle einer Schabe (*P. americana*). **b)** Cystacanth aus der Leibeshöhle einer Schabe (*P. americana*), Proboscis ausgestülpt. Pr: Proboscis

#### 2.4.2 Infektion der verwendeten Amphipoden- und Isopodenarten

Die eingesetzten Amphipoden- bzw. Isopodenarten wurden eine Woche vor der Infektion mit den entsprechenden Acanthocephalen in 100-ml-PE-Flaschen einzeln gesetzt und nicht mehr gefüttert. Nach Ablauf der sieben Tage fand die Infektion der ausgehungerten Amphipoden bzw. Isopoden statt. Hierzu wurden zunächst von den adulten weiblichen Würmern der entsprechenden Acanthocephaleneier (z. B. *P. ambiguus*, *E. gadi*, *E. truttae*, *P. botulus*, *P. laevis*) reife Parasiteneier entnommen, in physiologische Lösung überführt und diese Acanthocephaleneierlösung dann mit einem Vortex-Mixer (Firma neoLab) durchmischt. Vor Verfütterung dieser Acanthocephaleneierlösung wurde mit Hilfe eines Lichtmikroskopes die Infektiosität der jeweiligen Acanthocephaleneier überprüft. Zu jedem einzelnen Amphipoden bzw. Isopoden wurde anschließend entweder mit einer Eppendorfpipette ein konstantes Volumen (50 µl) an Acanthocephaleneierlösung oder mit einem Spatel eine kleine Menge eines Gemisches aus infektiösen Acanthocephaleneiern und Fischflockenfutter (Firma Tetra) zugegeben.

Daraufhin hatten die Amphipoden bzw. Isopoden maximal 48 Stunden Zeit von den Acanthocephaleneiern zu fressen und sich so mit der entsprechenden Acanthocephaleneierart zu infizieren (siehe Abbildung 13). Während dieser 48-stündigen Infektionsphase wurden die eingesetzten Amphipoden entweder im Dunkeln oder unter Tageslichteinfluss gehalten. Dadurch war es möglich den Einfluss von Helligkeit auf das Fraßverhalten der Amphipoden zu bewerten.



**Abbildung 13** *G. tigrinus*, der mit dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* infiziert ist.  
Cy: Cystacanth des Acanthocephalen *P. ambiguus* in der Leibeshöhle eines Gammariden

### 2.4.3 Infektion von *Rattus norvegicus*

Die eingesetzten Ratten wurden vor ihrer Infektion mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis* daran gewöhnt, konzentrierte Glucoselösung aus einer Pasteurpipette oral appliziert zu bekommen. Vor der eigentlichen Infektion wurden die Ratten einen halben Tag ohne Zugang zu Trinkwasser oder wasserhaltiger Nahrung gehalten.

Zunächst wurden die aus den infizierten Schaben gewonnenen reifen Cystacanthen, die in physiologischer Lösung bei 8 °C gelagert waren, 24 Stunden vor der eigentlichen Infektion der Ratten wieder an die Raumtemperatur (20 °C) angepasst. Für die Infektion wurden die Cystacanthen direkt vor der eigentlichen Infektion der Ratten in Glucoselösung überführt und anschließend eine definierte Anzahl von Cystacanthen (n = 20) zusammen mit Glucoselösung mit Hilfe einer Pasteurpipette einer Ratte oral verabreicht. Nachdem die Ratten das angebotene Glucoselösung-Cystacanth-Gemisch vollständig oral aufgenommen hatten, wurde mit Hilfe eines Binokulars kontrolliert, dass sich keine Cystacanthen mehr in der verwendeten Pasteurpipette befanden.

Auf diese Art konnte die Infektion der Ratten erfolgreich sichergestellt werden, auch wenn zunächst unklar war, wieviele der verfütterten Cystacanthen in der jeweiligen Ratte angingen und sich zu einem adulten Tier weiterentwickelten.

#### 2.4.4 Überlebensfähigkeit der Acanthoren im Ei

Da die reifen Acanthocephaleneier eine relativ lange Zeit in der freien Natur unbeschadet überstehen müssen, um möglichst große Chancen zu haben von einem geeigneten Wirt gefressen zu werden, wurden auch experimentelle Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit bzw. zur Langlebigkeit der noch von den Eihüllen eingeschlossenen Acanthoren durchgeführt. Bei diesen Experimenten wurden die beiden Acanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* als Vertreter der Archiacanthocephalen und der Acanthocephale *P. ambiguus* als Vertreter der Eoacanthocephalen ausgewählt.

Die reifen Acanthocephaleneier für die Langzeitexperimente wurden direkt aus der Leibeshöhle der entsprechenden Acanthocephalenart entnommen. Anschließend kamen die Eier in physiologische Lösung und wurden mehrmals mit frischer physiologischer Lösung gespült. Infektiöse Eier von jeder eingesetzten Acanthocephalenart wurden in separate PE-Gefäße überführt und diese mit physiologischer Lösung aufgefüllt, so dass die Acanthocephaleneier stets von der Salzlösung bedeckt waren.

Ein Teil der Eierproben wurde bei 8 °C und ein anderer Teil bei einer Raumtemperatur von durchschnittlich 18 °C für die gesamte Versuchsdauer gelagert. In wöchentlichem Rhythmus fand ein vollständiger Austausch der physiologischen Lösung der Probengefäße statt. Das Schlüpfvermögen der Acanthoren wurde regelmäßig überprüft, indem definierte Eimengen aus den Proben entnommen und zum Schlüpfen stimuliert wurden.

### 2.5 *In-vitro*-Versuche zum Schlüpfverhalten der Acanthoren

Da geschlüpfte Acanthoren der einzelnen Acanthocephalenarten untersucht werden sollten, wurden die infektiösen Acanthocephaleneier für bestimmte Zeit verschiedenen Behandlungsmethoden unterzogen, um herauszufinden welche Schlüsselreize die inaktiven Acanthoren der einzelnen Acanthocephalenarten aktivieren und zum Ausschlüpfen animieren.

Für die Schlüpfversuche wurden stets aus der Leibshöhle eines adulten Tieres der entsprechenden Parasitenart gewonnene Acanthocephaleneier verwendet. Die Acanthocephaleneier wurden zunächst mit physiologischer Lösung gewaschen und anschließend den gewünschten Versuchsbedingungen ausgesetzt. Alle Versuchsansätze wurden mit bei 8 °C gelagerten und jeweils zwei Tage vor Versuchsbeginn auf Raumtemperatur (18 °C) erwärmten Parasiteneiern sowohl unter unterschiedlichen Temperatur- (10 °C, 18 °C, 25 °C, 30 °C) und Lichtverhältnissen (Hell, Dunkel) als auch unter verschiedenen pH-Verhältnissen (pH 3, pH 7.5, pH 9) durchgeführt.

---

## 2.5.1 Schlüpfmethode nach EDMONDS (1966)

Bei dieser Methode wurden die noch inaktiven Acanthocephalenlarven rein chemisch durch die Zugabe der beiden Elektrolyte Natriumchlorid (NaCl) und Natriumhydrogencarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) in Kombination mit der Einstellung bestimmter pH-Werte (pH 3, pH 7,5, pH 9) bzw. bestimmter Molaritätsverhältnisse (0,2-0,6 M) zum Schlüpfen stimuliert, da diese Umgebungsbedingungen den Parasitenlarven das Darmmilieu ihrer Wirtstiere vortäuschen.

Zur Verwendung kam normalerweise eine 0,3 molare Natriumhydrogencarbonatlösung.

### ZUSAMMENSETZUNG DER NATRIUMHYDROGENCARBONAT-STANDARDLÖSUNG

- 2, 5 ml Natriumchlorid (NaCl),
- 0,3 ml Natriumhydrogencarbonat (NaHCO<sub>3</sub>),
- 0,2 ml Aqua dest.

Nach Zugabe der Natriumbicarbonatlösung zu den Acanthocephaleneiern wurde in festgelegten Abständen (0,3 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h, 48 h, 72 h) eine konstante Menge (100 µl) der Acanthocephaleneier-Natriumhydrogencarbonat-Lösung entnommen und unter dem Lichtmikroskop nach dem Vorhandensein von geschlüpften Acanthoren bzw. leeren Eihüllen durchmustert. Die letzte Kontrolle des Schlüpfersfolges erfolgte stets nach Ablauf von 72 Stunden.

## 2.5.2 Schlüpfmethode nach EDMONDS (1966) mit vorheriger mechanischer Reizung

### 2.5.2.1 Einsatz eines Tissuepotters

Die Acanthocephaleneier wurden zusammen mit einer geringen Menge an physiologischer Lösung jeweils für eine bestimmte Zeit (1 Min., 2 Min., 4 Min., 6 Min., 8 Min., 10 Min.) in einem Reagenzglas mit einem engsitzenden Glaspistill gerieben.

Nach dieser Zeit, die die Einwirkung der Mundwerkzeuge der Zwischenwirte auf die Eihüllen simulieren sollte, erfolgte eine Weiterbehandlung der Proben, wie unter 2.5.1 beschrieben.

### 2.5.2.2 Verwendung von feinkörnigem Quarzsand bzw. Siliciumoxid

Die Acanthocephaleneier wurden zusammen mit physiologischer Lösung und etwas feinkörnigem Quarzsand bzw. Siliciumoxid in ein Porzellanpistill gegeben, und daraufhin gemeinsam unter Einsatz eines Porzellanmörser für einen festgelegten Zeitraum

(1 Min., 2 Min., 4 Min., 6 Min., 8 Min., 10 Min.) gemahlen. Nach der mechanischen Behandlung der Acanthocephaleneier wurden diese in ein Probengefäß überführt und der Überstand an physiologischer Lösung verworfen.

Daraufhin erfolgte eine Weiterbehandlung der Acanthocephaleneier, wie unter 2.5.1 beschrieben.

### **2.5.3 Schlüpfmethode nach EDMONDS (1966) mit vorheriger Reizung durch Ultraschall**

Acanthocephaleneier wurden für eine festgesetzte Zeit (2 Min., 4 Min., 6 Min., 8 Min., 16 Min.) in einem mit physiologischer Lösung gefüllten Reagenzglas in ein Ultraschallbad (HS7000-T, Clean Sonic) gesetzt.

Anschließend erfolgte eine Überführung der Acanthocephaleneier in ein Probengefäß. Der Überstand an physiologischer Lösung wurde verworfen. Daraufhin kam die Methode von EDMONDS (siehe 2.5.1) zum Einsatz.

### **2.5.4 Verdauung der reifen Eihüllen durch Trypsin**

Einer wässrigen Lösung aus Acanthocephaleneiern wurden verschiedene Konzentrationen (5 %, 10 %, 20 %, 30 %) von menschlichem Trypsin zugesetzt. Die Acanthocephaleneier-Trypsin-Lösung wurde anschließend jeweils für einen begrenzten Zeitraum (0,33 h, 1 h, 2 h, 4 h, 24 h, 48 h, 72 h) in einem Wärmeschrank auf 37 °C erwärmt.

Falls die Acanthoren nicht bereits durch diese Behandlung geschlüpft waren, wurden die Acanthocephaleneier in die Natriumhydrogencarbonatlösung von EDMONDS (siehe 2.5.1) überführt.

### **2.5.5 Trocknung mit anschließender Wiederbefeuchtung**

Ein weiterer Versuchsansatz bestand darin, die reifen Acanthocephaleneier in einem Wärmeschrank bei 25 °C zu trocknen. Nachdem die embryonierten Eier vollständig getrocknet waren, verblieben sie für 3 weitere Tage bei 25 °C in dem Wärmeschrank. Anschließend wurden sie entweder in Leitungswasser, in bakterienhaltiges Teichwasser oder in die Natriumhydrogencarbonatlösung von EDMONDS (vergleiche 2.5.1) überführt.

### **2.5.6 Lagerung in verschiedenen Wassertypen**

Die Acanthocephaleneier wurden bei Raumtemperatur (18 °C) für 2 Wochen in unterschiedlichem Wasser gelagert. Dabei kam Aqua dest., frisches Leitungswasser und bakterienhaltiges Teichwasser zum Einsatz.

---

Während der zweiwöchigen Ruheperiode wurden die Proben alle zwei Tage auf das Vorhandensein von geschlüpften Acanthoren oder leeren Eihüllen überprüft. War nach zwei Wochen noch kein Schlüpfertag der Acanthocephalenlarven zu erkennen, wurden die Eier in die Natriumhydrogencarbonatlösung von EDMONDS (siehe 2.5.1) überführt.

### **2.5.7 Verfüttern der Acanthocephaleneier an ausgewählte Zwischenwirte**

Reife Eier verschiedener Archi-, Eo- und Palaeacanthocephalenarten wurden an eine Reihe von verschiedenen Amphipoden- bzw. Isopodenarten (*G. pulex*, *G. tigrinus*, *Asellus aquaticus*) verfüttert (siehe 2.4.2).

### **2.5.8 Lagerung der Parasiteneier in Darmgemischen von ausgewählten Zwischenwirten**

Die reifen Eier verschiedener Archi-, Eo- und Palaeacanthocephalenarten wurden für maximal 72 Stunden bei 20 °C in zerquetschten Därmen unterschiedlicher Amphipoden- bzw. Isopodenarten gelagert. Anschließend wurden die einzelnen Proben unter einem Mikroskop auf geschlüpfte Acanthoren hin untersucht.

## **2.6 Bewegungsanalyse der geschlüpften Acanthoren**

Die Bewegungsfähigkeit der Acanthoren ist von ausschlaggebender Bedeutung für den erfolgreichen Fortgang des Entwicklungszyklusses aller Acanthocephalenarten. Der Acanthor benötigt für die erfolgreiche Erfüllung jeder einzelnen seiner unterschiedlichen Aufgaben im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen eine gewisse Fähigkeit zur aktiven Eigenbewegung. Ohne diese Beweglichkeit der Acanthoren wäre der Entwicklungszyklus der Acanthocephalen bereits wieder beendet, sobald die reifen Eier den adulten Acanthocephalen verlassen haben.

Deshalb wurde der Bewegungsablauf der Acanthocephalenarten *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus*, die relativ große Acanthoren besitzen, unter einem Lichtmikroskop beobachtet und einzelne Phasen im stereotypen Bewegungsablauf der Acanthoren mit einem Photomikroskop (Axiolab) der Firma Zeiss dokumentiert.

## **2.7 Probennahme**

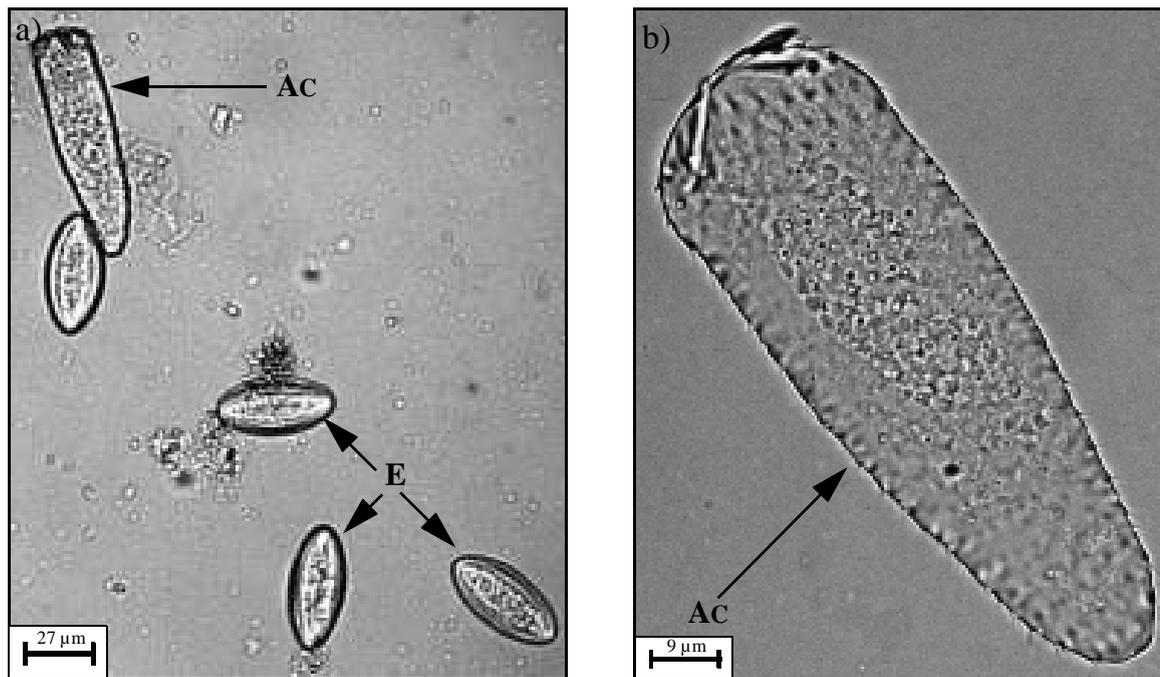
### **2.7.1 *In-vitro*-geschlüpfte Acanthoren**

Nach Beginn der Stimulation der Acanthoren der jeweiligen Acanthocephalenart zum Schlüpfen wurden die Acanthocephaleneier für mehrere Stunden im Dunkeln ruhen gelassen. Anschließend wurde unter dem Lichtmikroskop überprüft, ob bereits Acanthoren geschlüpft waren und sich frei im Medium bewegten.

---

Falls bereits zahlreiche Acanthoren geschlüpft waren, wurden die Eier-Proben der jeweiligen Acanthocephalenarten aus der Schlüpflösung mittels Pasteurpipetten entnommen und sofort mit 5%-Glutaraldehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4, Fluka) für die spätere elektronenmikroskopische Untersuchung fixiert.

Gesonderte Teile der Eier-Proben mit lebenden Acanthoren der entsprechenden Acanthocephalenarten wurden separat für Bewegungsstudien der geschlüpften Acanthoren genutzt.



**Abbildung 14** Lichtmikroskopische Aufnahmen von zum Schlüpfen stimulierten Acanthoren. a) Geschlüpfter Acanthor von *M. moniliformis*. b) Geschlüpfter Acanthor von *M. hirudinaceus*. Ac: geschlüpfter Acanthor, E: reifes Acanthocephalenei

### 2.7.2 Acanthoren, die im Darm von Zwischenwirten geschlüpft sind

Nach Zugabe von infektiösen Acanthocephaleneiern bzw. von kleinen Mengen eines Acanthocephaleneier-Futter-Gemisches hatten die entsprechenden Zwischenwirte ungestört bei abgedunkelten Lichtverhältnissen maximal 48 Stunden Zeit Acanthocephaleneier oral aufzunehmen und sich somit mit der jeweiligen Acanthocephalenart zu infizieren.

Während dieser 48-stündigen Infektionsphase wurden in bestimmten Abständen (3 h, 6 h, 12 h, 24 h, 36 h, 48 h) Zwischenwirte entnommen und getötet. Anschließend wurde der Darm der Zwischenwirte sorgfältig herauspräpariert und sofort in 5%-Glutaraldehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4, Fa. Fluka) überführt. Je nach seiner Größe wurde der Darm entweder in einem Stück belassen oder er wurde unter einer Stereolupe mittels eines Skalpell in mehrere Stücke von 0.5 cm Länge zerschnitten.

## 2.8 Elektronenmikroskopie

### 2.8.1 Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM)

Die Transmissions-Elektronenmikroskopie stellt bezüglich der zu untersuchenden Präparate folgende charakteristische Anforderungen:

- es wird mit totem Probenmaterial gearbeitet,
- die Struktur und Zusammensetzung der verwendeten Proben sollte sich im Vakuum des Elektronenmikroskops nicht verändern, d.h. die Proben dürfen auf keinen Fall Wasser enthalten,
- es müssen außerordentlich dünne Schnitte (50-150 nm) von den zu untersuchenden Proben angefertigt werden, da die einzelnen Proben für Elektronen durchstrahlbar sein müssen,
- die Proben müssen hinreichend Elektronenstrahl-resistent sein, damit sich ihre Struktur und Zusammensetzung bei der Elektronenbestrahlung nicht verändert.

#### 2.8.1.1 Grundlagen der Transmissions-Elektronenmikroskopie

Das Funktionsprinzip der Transmissions-Elektronenmikroskopie ähnelt dem der Lichtmikroskopie. Die Elektronenmikroskopie verdankt ihre Existenz jedoch der Wechselwirkung von Elektronen mit Materie (PLATTNER & ZINGSHEIM, 1987).

In einem modernen Elektronenmikroskop kommt daher normalerweise ein gebogener Wolframdraht als haarnadelförmige Kathode, d.h. als Elektronenstrahlquelle, zum Einsatz (GOODHEW & HUMPHREYS, 1991; FLEGLER et al., 1995). Der Wolframdraht wird durch einen sehr starken Strom auf eine Temperatur von über 2500 °C erhitzt und damit findet eine thermische Emission von Elektronen aus dem glühenden Wolframdraht statt. Diese freigesetzten, hochenergetischen Elektronen werden über eine positive Spannung zur Anode hin beschleunigt. Die Elektronen passieren eine Steuerelektrode (den Wehnelt-Zylinder) und durchlaufen dann mit konstanter Geschwindigkeit eine zentrale Öffnung in der Anodenplatte selbst. Beschleunigt werden die Elektronen dabei in der Regel von einem Hochspannungsgefälle zwischen Kathode und Betrachtungsschirm von 50-200 kV, wozu ein Hochvakuum von  $13 \times 10^{-3}$  bis  $13 \times 10^{-4}$  Pa notwendig ist (KOLB, 1991). Die Elektronen schießen nun so lange auf einer bestimmten Bahn, die durch eine Reihe von kreisförmigen Elektromagneten (Elektrolinsen) festgelegt wird, durch die Mikroskopsäule nach unten bis sie auf Materie stoßen.

Wenn die Elektronen auf das Untersuchungsobjekt stoßen, werden sie durch die Atome des Präparates beeinflusst: entweder durchdringen die Elektronen das Präparat ungehindert oder sie werden elastisch bzw. inelastisch gestreut oder aber sie werden absorbiert (RIEDER & SCHMIDT, 1987). Schließlich verlassen die Elektronen das Projektiv und schlagen auf einem Leuchtschirm auf, der mit einer lumineszierenden Schicht überzogen ist.

Das elektronenmikroskopische Bild entsteht durch denjenigen Anteil der gestreuten Elektronen, deren Ablenkungswinkel aus der ursprünglichen Einstrahlungsrichtung nur gering ist (ROBINSON et al., 1985). Stark gestreute Elektronen werden durch Blenden daran gehindert an der Bildentstehung teilzuhaben und absorbierte Elektronen gelangen überhaupt nicht durch das Objekt hindurch. Somit gelangen diese Elektronen auch nicht auf den Leuchtschirm und dieser bleibt an den entsprechenden Stellen dunkel. Die übrigen Elektronen durchdringen die weniger dichten Objektbereiche und gelangen bis zum Leuchtschirm, auf welchem die entsprechenden Stellen im Endbild hell erscheinen. Es kommt daher im elektronenmikroskopischen Endbild zur Strukturdarstellung durch Helligkeitsunterschiede, die wiederum durch unterschiedlich stark streuende Objekteinzelheiten bedingt sind.

Da Wechselwirkungen zwischen Elektronen und Gasatomen zur Absorption und Streuung der Strahlenelektronen führen würden, muss in der Mikroskopsäule des TEM ein Hochvakuum herrschen, damit auf dem Weg der Elektronen von dem Strahlenerzeugungssystem bis zu ihrem Aufschlag auf dem Leuchtschirm des Elektronenmikroskopes Stöße zwischen Elektronen und Restgasatomen genügend selten vorkommen.

### **2.8.1.2 Probenaufbereitung**

Für die Analyse des inneren Aufbaus der entsprechenden Parasitenlarven und deren Penetrationsprozesse durch die Darmwand des geeigneten Zwischenwirtes wurden sowohl einzelne, geschlüpfte Acanthoren als auch die Gedärme von Zwischenwirten verwendet, an die vorher infektiöse Acanthocephaleneier verfüttert wurden.

Die sofort nach Entnahme des Probenmaterials einsetzende Autolyse wurde durch eine unverzügliche Fixierung gestoppt. Ziel dieser Fixation ist es, die Gewebemorphologie über die kompletten Präparationsschritte hinweg vollkommen naturgetreu bis in die elektronenmikroskopisch untersuchbaren Details zu erhalten (LANGE & BLÖDORN, 1981). Es ist darauf zu achten, dass die Probengröße der zu untersuchenden Gewebe bzw. Organe klein gehalten wird und eine Größe von etwa 1 mm x 1 mm nicht überschreitet, wenn die Homogenität der Fixation garantiert werden soll (RIEDER & SCHMIDT, 1987).

### **CHEMISCHE FIXIERUNG**

Die für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen vorgesehenen Proben wurden nach ihrer Präparation zur Vorfixierung sofort in ein mit 5%-Glutaraldehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4, Fa. Fluka) gefülltes Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt und über Nacht in dieser Lösung bei 4 °C belassen. Anschließend wurde durch mehrmaliges Waschen der Präparate mit 1 % Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4, Fa. Fluka) überschüssiges Fixans entfernt. Daran schloss sich für 2 Stunden eine Nachfixierung des Probenmaterials mit 2 % Osmiumtetroxid (Fa. Fluka) in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4, Fa. Fluka) bei 4 °C an. Nachfolgend wurden die Proben zum Entfernen von überschüssigem Fixans mehrmals mit Aqua dest. gewaschen.

---

### **ENTWÄSSERUNG**

Anschließend erfolgte eine Entwässerung des Probenmaterials mittels einer graduiert aufsteigenden Acetonreihe (siehe 7.2). Vorhandenes Wasser in den Proben würde die Polymerisation des Einbettungsmittels (Spurrsches Standard-Medium) stören und könnte zur Bildung von Bläschen in den Epoxydharzblöckchen führen.

### **EINBETTUNG DER PRÄPARATE IN EPOXIDHARZ**

Durch die Imprägnierung des Probenmaterials mit Epoxidharz kommt es zu einer Stabilisierung der zellulären Strukturen des biologischen Probenmaterials. Ohne solch eine Verfestigung der einzelnen Proben könnten weder Ultra-Dünnschnitte von den Proben angefertigt werden noch würden die zellulären Strukturen dieser Proben im Vakuum eines Elektronenmikroskopes erhalten bleiben.

Die besten Einbettungsergebnisse wurden erzielt, wenn sich das Spurrsche Einbettungsmedium aus 10 Gramm der harten Komponente Vinylcyclohexendioxid (ERL-4206, Serva), 6 Gramm der weichen Komponente Diepoxid (DER-736, Fa. Serva), 26 Gramm des Härterers Nonenylbernsteinsäureanhydrid (NBA, Fa. Serva) sowie 0.4 Gramm des Beschleunigers 2-Dimethylamino-ethanol (DMAE[S1], Fa. Serva) zusammensetzte.

Nach ihrer Entwässerung wurden die Proben in drei Einzelschritten in reines Spurrsches-Standard-Medium (SPURR, 1969) hochgeführt. Dazu wurden die Proben zunächst jeweils für 30 Minuten mit einer 50 % igen und einer 75 % igen Lösung des Einbettungs-Aceton-Gemisches infiltriert. Anschließend verblieben die Proben bei 4 °C über Nacht in einer 100 % igen Lösung des verwendeten Spurrschen Einbettungsmittels.

Für die eigentliche Einbettung wurde das Probenmaterial am nächsten Tag in Beem-Kapseln, Kautschuk-Flacheinbettungs-Formen bzw. in Flacheinbettungsformen aus Aluminiumfolie überführt und dort wie gewünscht positioniert. Die Polymerisation des Spurrschen Mediums erfolgte in einem Wärmeschrank bei 70 °C für drei Tage. Anschließend lagen schneidbare Festkörperproben vor, die zur Anfertigung von Semi- und Ultra-Dünnschnitten geeignet waren.

### **LICHTMIKROSKOPISCHE VORUNTERSUCHUNG VON SEMI-DÜNNschnITTEN**

Die Herstellung der Semi-Dünnschnitte (1 µm) erfolgte mit einem geeigneten Diamantmesser (Fa. Diatome) an einem Ultramikrotom Ultracut (Fa. Reichert Jung) und einem Ultramikrotom Ultracut S (Fa. Leica) mit mechanischem Vorschub. Letzteres war durch einen Isolationstisch (Vibraplane 9100 Series, Fa. Kinetic Systems Inc.) vor Erschütterungen geschützt und wurde durch ein dazugehöriges Steuergerät (Fa. Leica) bedient. Die hergestellten Semi-Dünnschnitte wurden auf einer Heizbank (Fa. Medax) bei 70 °C für 15 Minuten mit Stevenel's Blue bzw. Methylenblau angefärbt (BÖCK, 1984; BURCK, 1982).

---

Zur Auswertung und Dokumentation der Semi-Dünnschnitte wurde ein Photomikroskop (Axiolab) der Firma Zeiss benutzt.

### **HERSTELLUNG VON ULTRA-DÜNNSCHNITTEN**

Die Herstellung der Ultra-Dünnschnitte (60 nm) erfolgte mit einem geeigneten Diamantmesser (Fa. Diatome) an einem Ultramikrotom Ultracut (Fa. Reichert Jung) und einem Ultramikrotom Ultracut S (Fa. Leica) mit mechanischem Vorschub. Letzteres war durch einen Isolationstisch (Vibraplane 9100 Series, Fa. Kinetic Systems Inc.) vor Erschütterungen geschützt und wurde durch ein dazugehöriges Steuergerät (Fa. Leica) bedient.

Die Ultra-Dünnschnitte, deren Streckung im Trog des Diamantmessers mit Xylol erfolgte, wurden mit Hilfe eines Präparatträgers auf mit 0.32%igem Formvar beschichtete Kupfer-Grids (75 Mesh Square, Durchmesser: 3.05 mm, Fa. SCI) überführt.

### **SCHNITTKONTRASTIERUNG**

Da biologische Proben überwiegend aus Atomen niedriger Ordnungszahlen, wie z.B. Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel oder Phosphor bestehen, erzeugen solche Proben im Transmissions-Elektronenmikroskop nur einen sehr geringen Streuabsorptionskontrast. Dieser objekteneigene Kontrast der Proben reicht meist nicht aus, um die Feinstruktur des Objektes erkennen zu lassen (PLATTNER & ZINGSHEIM, 1987; ROBINSON et al., 1985). Es erfolgt deshalb eine Kontrastierung der Proben mit Schwermetallionen (Blei, Osmium, Platin, usw.), die sich an die Oberflächenladungen spezifischer Strukturen, wie z.B. Membranen oder Proteinen, anlagern.

Für diese Arbeit wurde eine Doppelkontrastierung der Ultra-Dünnschnitte sowohl mit wässrigem Uranylacetat als auch mit Bleicitrat (REYNOLDS, 1963) durchgeführt. Zunächst erfolgte für 10 Minuten eine Kontrastierung der Schnitte auf Tropfen von 2 %igem Uranylacetat. Danach wurden die Schnitte mehrmals gründlich mit Aqua dest. gewaschen. Abschließend erfolgte nochmals eine Kontrastierung der Schnitte für fünf Minuten auf Bleicitrat-Tropfen.

#### **2.8.1.3 Elektronenmikroskopische Auswertung**

Die Untersuchungen zum ultrastrukturellen Aufbau der verschiedenen Parasitenlarven wurden mit einem Transmissions-Elektronenmikroskop Leo 912 mit Omega-Filter von der Firma Zeiss und einem Transmissions-Elektronenmikroskop CM-200 von der Firma Phillips durchgeführt.

Zur Dokumentation der Ergebnisse wurde sowohl eine hochauflösende Digitalkamera als auch eine herkömmliche Analogkamera verwendet. Dabei bleibt zu bemerken, dass elektronenmikroskopische Aufnahmen stets schwarz-weiß sind. Der Schwärzungsgrad der Aufnahmen spiegelt die Elektronendichte im durchstrahlten Präparat wieder. Die angefertigten Digitalaufnahmen wurden an einem Personal-Computer ausgewertet und

---

für die Präsentation elektronisch aufbereitet. Die Aufnahmen der Analogkamera, die nur als Negative vorlagen, mussten dagegen vor ihrer Auswertung und elektronischen Aufbereitung erst noch mittels eines Flachbettscanners digitalisiert werden.

## 2.8.2 Raster-Elektronenmikroskopie (REM)

Die Raster-Elektronenmikroskopie ist ein elektronenmikroskopisches Verfahren zur umfassenden strukturellen und mikroanalytischen Charakterisierung von Oberflächen. Die Raster-Elektronenmikroskopie stellt bezüglich der zu untersuchenden Präparate folgende charakteristische Anforderungen:

- es wird mit totem Probenmaterial gearbeitet,
- das Verfahren der Raster-Elektronenmikroskopie eignet sich hervorragend zur Darstellung leitender Oberflächen. Es wird dabei die Oberfläche der verwendeten Probe als Ganzes untersucht,
- die Oberfläche biologischer Proben muss aber vor ihrer Untersuchung durch das Aufdampfen eines Metallfilms (meist Gold oder Platin) leitend gemacht werden, um eine Aufladung des Probenmaterials zu verhindern.

### 2.8.2.1 Grundlagen der Raster-Elektronenmikroskopie

Auch beim REM wird ein Elektronenstrahl, der mit einer Reihe von elektromagnetischen Linsen abgelenkt bzw. gebündelt wird, von einer beheizten Kathode erzeugt. Im Unterschied zur TEM wird die untersuchte Probe jedoch nicht von dem erzeugten Elektronenstrahl durchdrungen, sondern die Oberfläche der Probe wird als Ganzes von dem fein gebündelten Elektronenstrahl zeilenweise Punkt für Punkt abgerastert. Durch das Auftreffen des Elektronenstrahles kommt es zu einer Anregung der Atome der untersuchten Proben, wodurch sogenannte Sekundärelektronen von den einzelnen Probestellen freigesetzt werden. Diese Sekundärelektronen werden von einem seitlich schräg über der Probe angebrachten Detektor aufgefangen. Das erzeugte Signal wird elektronisch verstärkt und auf einem Bildschirm wiedergegeben. Dadurch entsteht ein exaktes Abbild der Oberflächenstruktur des kompletten Präparates.

### 2.8.2.2 Probenaufbereitung

Für die Oberflächenstrukturuntersuchung der unterschiedlichen Parasitenarten wurden bei dem rasterelektronenmikroskopischen Verfahren sowohl reife Acanthocephaleneier als auch *in-vitro*-geschlüpfte Acanthoren verwendet.

## CHEMISCHE FIXIERUNG UND ENTWÄSSERUNG

Die chemische Fixierung (mit Glutaraldehyd und Osmiumtetroxid) und die Entwässerung (Austausch mit Aceton) der Proben für die Raster-Elektronenmikroskopie erfolgte auf die gleiche Weise wie die Behandlung der Proben für die Transmissions-Elektro-

nenmikroskopie. Für die anschließende Trocknung der acetonhaltigen Proben kam die Kritische-Punkt-Trocknung zum Einsatz. Mit Hilfe dieser Methode lassen sich viele biologische Objekte in relativ kurzer Zeit bei einer guten Strukturhaltung trocknen (ROBINSON et al., 1985).

### **KRITISCHE-PUNKT-TROCKNUNG**

Das Wasser im Untersuchungsobjekt muss vollständig gegen ein organisches Medium (z.B. Aceton) ausgetauscht sein. Dann wird das Probenmaterial in eine Druckkammer eingebracht. Durch mehrfaches Spülen der gekühlten Druckkammer kommt es zu einer vollständigen Substitution des verwendeten Entwässerungsmittels (Aceton) durch das eingesetzte flüssige Übergangsmedium (CO<sub>2</sub>). Durch Erhitzen der flüssigen Kohlensäure über die kritische Temperatur geht diese in die gasförmige Phase über, ohne dass es zu Oberflächenspannungen kommt, die Schrumpfungsprozesse des Probenmaterials verursachen könnten. Das Übergangsmedium CO<sub>2</sub> wird anschließend als Gas aus der Druckkammer entlassen. Die Proben sind vollkommen getrocknet.

### **PRÄPARATMONTAGE**

Die getrockneten hydrophilen Proben sollten relativ rasch weiterverarbeitet werden, damit sie keine Feuchtigkeit aus der Luft aufnehmen können.

Die getrockneten reifen Parasiteneier bzw. die *in-vitro* zum Schlüpfen stimulierten Acanthoren verschiedener Acanthocephalenarten wurden auf Objektträger aus Aluminium aufgebracht. Um eine feste Verankerung der Proben mit dem Objektträger während ihrer Untersuchung im Raster-Elektronenmikroskop zu garantieren, wurde die Oberfläche der Objektträger vor der Positionierung der einzelnen Proben mit einer doppelseitigen Klebefolie überzogen.

### **LEITFÄHIGKEITSERHÖHUNG**

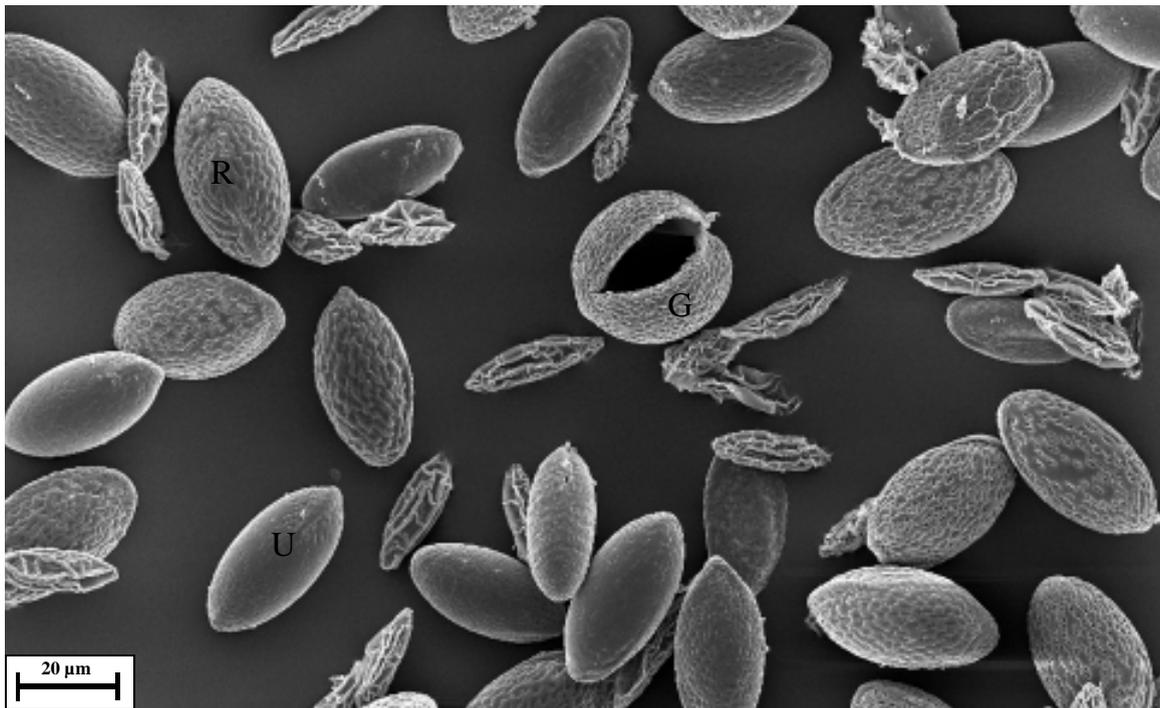
Bei getrockneten biologischen Proben handelt es sich um elektrische Isolatoren, die vor einer Untersuchung im REM elektrisch leitfähig gemacht werden müssen. Daher wird die Oberfläche der Proben mittels einer Kathodenzerstäubung mit leitenden Metallen (Au, Pd) beschichtet. Das Besputtern der Proben geschieht in einer reinen Argonatmosphäre bei einem Druck von 0.2-0.5 mbar.

#### **2.8.2.3 Elektronenmikroskopische Auswertung**

Die Untersuchungen zum ultrastrukturellen Aufbau der Oberfläche der verschiedenen Parasitenlarven und der reifen Eier der unterschiedlichen Parasitenarten wurden mit dem Raster-Elektronenmikroskop Leo 1530 Gemini von der Firma Zeiss durchgeführt.

Zur Dokumentation der Ergebnisse wurde eine Digitalkamera verwendet. Anschließend wurden die angefertigten Aufnahmen an einem Personalcomputer ausgewertet und für die Präsentation elektronisch aufbereitet (siehe Abbildung 15).

---



**Abbildung 15** Zahlreiche Eier des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* mit unterschiedlichem Reifungsgrad. Zwischen den reifen bzw. unreifen Eiern wurde nach geschlüpften Larven des Parasiten gesucht. *G*: reifes Ei, das an der Sollbruchstelle geöffnet ist. Der Acanthor ist bereits ausgeschlüpft, *R*: reife Eier, *U*: unreife Eier

## 2.9 Datenanalyse

Die Auswertung bzw. Vermessung der licht- und elektronenmikroskopischen Aufnahmen der Untersuchungsobjekte der entsprechenden Acanthocephalenarten erfolgte am Personalcomputer mit der Analyse-Software SigmaScan Pro (Fa. SPSS Science).

### 2.10 “Cathepsin L Proteinase” - Nachweis mittels SDS-Page

Das Wort Cathepsin kommt aus der griechischen Sprache und bedeutet soviel wie Verdauung. Cathepsine sind unter anderem für den Abbau von Basalmembranbestandteilen, wie Azocasein, Collagen, Elastin und Laminin, verantwortlich (BARRETT & KIRSCHKE, 1981; BARETT et al., 1982; MASON et al., 1986). Beim Menschen konnten Cathepsine verstärkt bei invasiven und metastasierten Tumoren in unterschiedlichsten Organen gefunden werden (FRIEDRICH et al., 1999). Außerdem wird angenommen, dass Cathepsine an einer ganzen Reihe weiterer Krankheitsprozesse (Osteoporose, Alzheimer, rheumatische Arthritis) beteiligt sind.

Bei den allermeisten Cathepsinen handelt es sich um lysosomale proteolytische Enzyme, die zur bedeutenden und mannigfaltigen Gruppe der Cystein-Proteinase gehören. Unter den Cathepsinen sind vereinzelt auch Serinproteinase (z.B. Cathepsin G) oder Aspartatproteinase (z.B. Cathepsin D). Ausgiebige Struktur- und Sequenzanalysen haben gezeigt, dass alle Cathepsine eine sehr ähnliche Aminosäuresequenz sowie ein vergleichbares Faltungsmuster besitzen (TURK et al., 1998).

### **2.10.1 Cathepsin L Proteinase**

Bei der "Cathepsin L Proteinase" handelt es sich um eine Cystein-Proteinase, die ein Molekulargewicht zwischen 21-38 kDa besitzt (JOSEPH et al., 1988). Zahlreiche Protozoen- bzw. Helminthenarten weisen die "Cathepsin L Proteinase", die Penetrationsprozesse durch das Wirtsgewebe effektiv unterstützt, auf (SMITH et al., 1993; DALTON et al., 1996; CHUNG et al., 1997; PIACENZA et al., 1997; KONG et al., 2000; PARK et al., 2001; DALTON et al., 2003).

Bei der näheren Betrachtung dieser Parasitenarten zeigte sich, dass die "Cathepsin L Proteinase" von allen Entwicklungsstadien der entsprechenden Parasitenarten ausgetrennt wird, wobei die größten "Cathepsin L Proteinase"-Konzentrationen in den larvalen Parasitenstadien nachgewiesen werden konnten. Außerdem handelt es sich bei dieser Proteinase um ein Protein, das in infizierten Tieren hoch allergen ist.

Der Nachweis der "Cathepsin L Proteinase" erfolgte aus einem Zellrohaufschluss. Dieser wurde mittels Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-Page) aufgetrennt und durch "Western Blotting" auf eine Nitrocellulosemembran transferiert. Anschließend wurde die "Cathepsin L Proteinase" über eine Antikörperbindung mit nachfolgender Enhanced Chemiluminescence-Reaktion (ECL) detektiert.

### **2.10.2 Grundlagen der SDS-Page**

Die Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-Page) dient der Auftrennung von Proteingemischen in einem elektrischen Gleichstromfeld. Dabei wird die Wanderung geladener Teilchen in dem elektrischen Feld als grundlegendes Prinzip zur Trennung der komplexen Biomoleküle ausgenutzt. Die Auftrennung der Proteingemische erfolgt in Polyacrylamid-Gelen, die 1959 von RAYMOND & WEINTRAUB erstmals für eine Elektrophorese eingesetzt wurden. Diese Gele zeichnen sich durch eine besondere chemische und mechanische Stabilität aus.

Bei der Grundsubstanz dieser Gele handelt es sich um Polyacrylamid, das als Trägermaterial für die Gelelektrophorese das höchste Auflösungsvermögen besitzt (DECHERT, 2002). Die Polyacrylamidkonzentration der Gele kann zwischen 3 % und 30 % variiert werden (DECHERT, 2002). Das Netzwerk der Gele wird durch radikalische Polymerisation des monomeren Acrylamids und des quervernetzenden bifunktionellen N,N'-Methylen-Bisacrylamids aufgebaut, wobei Proteine die gleichmäßigen Maschen dieses

---

Molekülnetzwerkes passieren können und aufgrund der Siebeffekte des Polyacrylamid-Gels in der Reihenfolge der molaren Massen der einzelnen Proteine in Richtung der Anode aufgetrennt werden (DECHERT, 2002).

Um eine Auftrennung der Proteine zu erreichen, müssen die Proteine die gleiche geometrische Form sowie die gleiche Ladung aufweisen. Native Proteine besitzen eine negative Ladung und wandern daher in einem elektrischen Feld zur Anode hin. Die Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Proteine hängt von ihrer Ladung und ihrer Größe bzw. ihrem Gewicht ab. Um eine Auftrennung ausschließlich nach dem Gewicht der Proteine zu erreichen, werden die Proben mit SDS (Natriumdodecylsulfat) versetzt, welches stark negativ geladen ist. Durch die Beladung mit diesem anionischen Detergenz werden die Eigenladungen von Proteinen so effektiv überdeckt, dass anionische Mizellen mit konstanter Nettoladung pro Masseneinheit entstehen (WESTERMEIER, 1990). Pro zwei Aminosäuren lagert sich ein Molekül SDS an. Dadurch erhält jedes Protein stets ein gleiches Verhältnis von Ladung zu Masse, da an größere Proteine mehr SDS-Moleküle angelagert werden können als an kleinere (LEHNINGER, 1977; STRYER, 1988). Zudem werden durch die Anlagerung der SDS-Moleküle die unterschiedliche Form der Proteine ausgeglichen, da die Tertiär- und Sekundärstrukturen durch Aufspalten der Wasserstoffbrücken und durch Streckung der Proteine aufgelöst werden (WESTERMEIER, 1990). Eine Größenanalyse bzw. Quantifizierung der aufgetrennten Makromoleküle erfolgt durch den Vergleich mit im Gel aufgetragenen Standardproteinen bzw. Standard-DNA-Molekülen bekannter Größe (DECHERT, 2002). Die molaren Massen der meisten Proteine werden bereits routinemäßig durch SDS-Page auf 5 bis 10 % genau bestimmt (VOET & VOET, 1992).

Im Versuch wurde eine diskontinuierliche SDS-Page durchgeführt, d.h. das Polyacrylamidgel wurde nicht auf einmal gegossen, sondern es erfolgte eine Aufteilung in ein Sammelgel und ein Trenngel. Sammel- und Trenngel unterscheiden sich dabei bezüglich ihrer Polyacrylamidkonzentration und ihres pH-Wertes. Die Proteinprobe passiert zunächst ein Sammelgel mit großer Polyacrylamid-Porenweite. Zum Einsatz kommen dabei sowohl ein Sammelgelpuffer als auch ein Elektrophoresepuffer. Während der Sammelgelpuffer Chlorid-Ionen enthält, die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit größer ist als die der Proteinprobe, enthält der Elektrophoresepuffer Glycin-Ionen, die eine geringere elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit besitzen als die Proteinprobe. Dadurch "stapeln" sich die Proteine entsprechend ihrer Geschwindigkeit im Feldstärkegradienten zwischen Ionen mit einer niedrigen und einer hohen Mobilität. Somit wird eine Vortrennung bzw. Aufkonzentrierung der Proteinprobe erzielt (DECHERT, 2002). Das Trenngel besitzt dagegen neben einer geringeren Porenweite eine höhere Salzkonzentration sowie einen höheren pH-Wert im Vergleich zum Sammelgel. Wandern die Probenproteine nahezu gleichzeitig in das engporige Trenngel ein, wird eine sehr scharfe Bande des ursprünglichen Proteingemisches nahezu unabhängig vom Volumen der aufgetragenen Probe erzielt. Im Puffersystem des Trenngels werden die Proteine dann aufgrund des Molekularsiebeffektes entsprechend ihrer Größe getrennt.

### 2.10.3 Eingesetzte Proben

Für die gelelektrophoretischen Untersuchungen wurde ausschließlich der sogenannte "Riesenkratzer" *M. hirudinaceus* verwendet. Von den zur Verfügung stehenden Parasitenarten war einzig dieser Archiacanthocephale groß genug, um die für die enzymatischen Untersuchungen notwendigen Arbeitsschritte durchführbar zu gestalten.

Zu Beginn des Versuches wurden drei verschiedene Kategorien von Untersuchungsobjekten der Parasitenart *M. hirudinaceus* festgelegt, die auf das Vorhandensein von "Cathepsin L Proteinase" überprüft werden sollten:

- 1. Reife Eier des Acanthocephalen *M. hirudinaceus*, die bereits eine vollständige, aber inaktive Parasitenlarve, den Acanthoren, enthalten.
- 2. Aktivierte Acanthoren von *M. hirudinaceus*, die durch die modifizierte Methode von EDMONDS (1966) zum Schlüpfen stimuliert wurden.
- 3. Sowohl weibliche als auch männliche Adulti von *M. hirudinaceus*, deren Körper jeweils in Proboscis, mittlere Körperregion und Körperende aufgeteilt wurden.

Alle Proben wurden vor Versuchsbeginn sorgfältig mit physiologischer Lösung gewaschen.

### 2.10.4 Gesamtprotein-Mengenbestimmung

Vor der Auftrennung der in den Proben enthaltenen Proteine mittels SDS-Page wurde eine Gesamtprotein-Mengenbestimmung durchgeführt.

Je 0,5 Gramm homogenisiertes Probengewebe wurden mit 2,5 Milliliter PBS + SDS in einem 12 ml Polypropylen-Reagenzglas (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) versetzt, wobei die SDS-Endkonzentration 2 % betrug. Die Aufbewahrung dieser Proben erfolgte während der Weiterverarbeitung bei etwa 4 °C in Eiswasser. Dies verhinderte eine zu starke Erwärmung der Proben.

Die Zellen wurden anschließend mittels Ultraschall (Ultraschall-Homogenisator UW 2070, Fa. Bandelin Electronic, Berlin) jeweils 50 Sekunden lang aufgeschlossen. Daraufhin folgte für 15 Minuten ein Zentrifugationsschritt bei 5000 rpm und 4 °C. Der Überstand wurde in 2 ml Mikroröhrchen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) überführt, das Pellet verworfen. Aus diesem Überstand wurde eine Gesamtprotein-Mengenbestimmung mit dem "BCA Protein Assay Kit" der Firma Pierce durchgeführt. Dazu mussten 50 Teile "Reagenz A" mit 1 Teil "Reagenz B" (4 % CuSO<sub>4</sub>-Lösung) zu einer Arbeitslösung vermischt werden, die einen Tag stabil ist und nur innerhalb dieses begrenzten Zeitraumes eingesetzt werden kann.

Für die Proteinbestimmung wurden die einzelnen Proben 1:10 mit PBS + 2 % SDS verdünnt und von diesen Lösungen je 25 µl in 96-Well-Platten (Fa. VWR) gegeben und 200 µl Arbeitslösung zupipetiert. Nach dem gleichen Verfahren wurde mit Standardproteinlösungen bekannter Konzentration eine Eichkurve erstellt. Nach einer Reaktionszeit von 30 Minuten bei 37 °C und einer Abkühlphase von 15 Minuten auf Raum-

temperatur konnten die 96-Well-Platten (Fa. VWR) im Mikrotiterplattenreader (Microplate Reader 550, Fa. Bio Rad, Berlin) ausgemessen werden. Die Extinktion der Probelösungen wurde bei 562 nm gemessen und mit den in der Kalibriergeraden ermittelten Werten der Standardproteinlösungen verglichen. Aus diesen Daten konnten die Proteinkonzentrationen in den eingesetzten Probelösungen ermittelt werden. Anschließend wurden alle Probelösungen so weit mit PBS + 2 % SDS verdünnt, dass sie eine einheitliche Gesamtproteinkonzentration von 1 µg/ml enthielten. Nachdem die Probelösungen auf diese Gesamtproteinkonzentration eingestellt worden waren, erfolgte die SDS-Page.

### 2.10.5 Durchführung SDS-Page

Die Gele für die SDS-Page wurden selbst hergestellt. Zunächst wurden die Trenngele gegossen. Dazu wurde Acrylamid, Wasser, Puffer und 10 % SDS in einem Probenbecher vermischt und anschließend 10 %ige APS-Lösung und TEMED zugegeben. Ammoniumperoxodisulfat (APS) und das tertiäre Amin N,N,N',N'-Tetramethylethylen-diamin (TEMED) fungieren dabei als Radikalstarter, wodurch die Polymerisation ausgelöst wird. Bis zum Aushärten der Gele wurden diese mit Wasser überschichtet.

Anschließend erfolgte die Mischung der Sammelgele. Das überschichtete Wasser wurde abgegossen und die Sammelgellösung mit APS und TEMED vermischt. Dann wurden die Sammelgele aufgegossen und die Kämme für die Probenaschen eingesteckt. Nachdem auch die Sammelgele ausgehärtet waren, konnten die Kämme entfernt werden und die Gele waren einsatzbereit.

Zur Probenvorbereitung mussten die Zellaufschlüsse aufgetaut und je 50 µl in ein 2 ml Mikroröhrchen (Fa. Sarstedt, Nümbrecht) pipettiert werden. Nachdem die gleiche Menge Probenladepuffer zugegeben worden war, erfolgte eine Denaturierung der Proteine durch fünfminütiges Erhitzen (100 °C) der Proben im Wasserbad.

Die ausgehärteten Gele wurden in die Laufkammer eingesetzt und SDS-Laufpuffer eingefüllt. Anschließend wurden in die erste Tasche der Gele 5 µl Proteinmarker (Perfect Stain, Fa. Bio Rad, München) gegeben, in die übrigen Taschen je 20 µl der abgekühlten Probelösungen. Ein Proteinmarker ist ein Gemisch aus hoch- oder niedermolekularen Standardproteinen, deren Molekulargewicht genau bekannt ist. Er wird auf die Gele aufgetragen, um den zu detektierenden Proteinen ihr entsprechendes Molekulargewicht zuzuordnen zu können. Zur Absicherung der Ergebnisse wurde jede Probelösung doppelt aufgetragen. Außerdem liefen auf jedem SDS-Gel Proben von Rinderleber als Positivkontrolle mit, die nachgewiesenermaßen "Cathepsin L Proteinase" enthalten (SMITH et al., 1993).

Die Auftrennung der Probelösungen erfolgte für 75 Minuten bei konstanten 170 Volt.

## 2.10.6 Grundlagen “Western Blotting”

Zur besseren Handhabung wurden die elektrophoretisch aufgetrennten Proteine mit Hilfe des Western-Blot-Verfahrens durch elektrischen Strom aus den Trägerelektroden auf stabile, aber dünne Nitrocellulosemembran (Fa. Bio-Rad Laboratories, München) transferiert. Die Transferzeit betrug etwa eine Stunde. An die spezielle Oberfläche der Nitrocellulosemembran binden die Proteine über hydrophobe Wechselwirkungen.

### 2.10.6.1 Durchführung “Western Blotting”

Die Trägerelektroden, eine Nitrocellulosemembran und zwei dicke Filterpapiere (Fa. Bio Rad Laboratories, München) wurden in Blotpuffer gelegt und darin für zehn Minuten äquili-briert. Auf eine Bio-Rad “Semi Dry Blotting Cell” wurde anschließend als unterste Lage eines der mit Blotpuffer vollgesogenen Filterpapiere plaziert und darauf die Cel-lulosemembran. Auf der Membran wurden die verwendeten Gele angeordnet und ihre Abmessungen mit Bleistift angezeichnet. Das zweite Filterpapier wurde aufgelegt und vorhandene Luftblasen mit einer Rolle unter leichtem Druck herausgerollt. Nach dem Schließen des Deckels erfolgte der Blotvorgang bei 20 Volt für 75 Minuten. Durch den angelegten Strom wandern die Proteine in Richtung Anode. Durch Bindung an die Nitrocellulosemembran erfolgt eine Immobilisierung der aufgetrennten Proteine. Dabei beeinflusst die Porengröße der Nitrocellulosemembran ihre spezifische Oberfläche: je kleiner die Poren sind, desto größer ist die Bindekapazität.

Die auf die Nitrocellulosemembranen übertragenen Proteine sind nach dem “Western Blotting” nicht sichtbar. Ihre Detektion erfolgt mit Hilfe von spezifischen Antikörpern, an die ein spezielles Enzym gekoppelt ist. Zum Einsatz kam bei dieser Untersuchung ein monoklonaler “Anti-Cathepsin L Antikörper” (C2970, Fa. Sigma). Wenn diese Antikörper das “Cathepsin L Protein” auf der Membran erkennen, binden sie daran. Ungebundene Antikörper werden durch mehrmaliges Waschen entfernt.

Die verwendeten Trägerelektroden wurden anschließend verworfen, die Membran auf die Gelgrößen zugeschnitten und für 90 Minuten in 5%-Magermilch in TBS-T in Petri-schalen auf einem Wippschüttler geblockt. Dabei erfolgte eine Absättigung von nicht verwendeten Proteinbindungsstellen durch Milcheiweiße. Anschließend wurden die Membranen dreimal für jeweils zehn Minuten mit TBS-T gewaschen und der Puffer zwischen den einzelnen Waschschritten stets ausgetauscht. Danach wurde zu den in Folie eingeschweißten Membranen jeweils 5 ml der primären Antikörperlösung gegen “Cathepsin L Proteinase” 1:600 verdünnt in Magermilchpulver in TBS-T gegeben. Über Nacht erfolgte auf dem Wippschüttler bei 10 °C die Inkubation. Am nächsten Morgen folgten drei Waschvorgänge mit TBS-T. Darauf wurden die Membranen zusammen mit der Lösung des sekundären Antikörpers gegen Mausimmunglobuline (P0447, Fa. Dako A/S, Dänemark) in Folien eingeschweißt und für 90 Minuten bei Zimmertemperatur inkubiert. Die Antikörper waren dabei 1:2000 verdünnt in 5%-Magermilchpulver in TBS-T. Der sekundäre Antikörper dockt in dieser Lösung an den zuvor gebundenen primären Antikörper an, da dieser aus Mäusen gewonnen wird.

---

### 2.10.7 Detektion durch die Enhanced Chemiluminescence (ECL) Technik

Die Proben wurden erneut dreimal mit TBS-T gewaschen. Anschließend konnte mit der Detektion begonnen werden. Dazu wurde die Enhanced Chemiluminescence (ECL) Technik angewendet, die ein am sekundären Antikörper gebundenes Enzym, die Meerrettichperoxidase, voraussetzt. Die Meerrettichperoxidase setzt als Substrat Luminol über eine Oxidationsreaktion um, wobei Licht emittiert wird. Das emittierte Licht kann mit Hilfe eines Filmes einwandfrei detektiert werden. Dabei wird der verwendete Film an den Stellen geschwärzt, an welchen das gesuchte Protein und somit auch der Antikörper auf der Membran gebunden ist. Der Schwärzungsgrad des verwendeten Films ermöglicht eine semiquantitative Mengenabschätzung des Gehaltes an dem gesuchten Protein innerhalb der einzelnen Proben durch den Vergleich des Schwärzungsgrades mit dem Schwärzungsgrad von Proben bekannter Proteinkonzentration (Standardproteinlösung).

Für die Detektion wurde das "ECL plus Kit" von Amersham (Amersham Pharmacia, Buckinghamshire, UK) eingesetzt. Dazu wurden die gewaschenen Membranen mit einem Gemisch aus gleichen Teilen der Reaktionslösungen 1 und 2 des "ECL plus Kits" (Fa. Amersham Pharmacia, Buckinghamshire, UK) überschichtet, wobei jede Membran ständig mit ausreichend Lösung bedeckt war. Nach Ablauf von drei Minuten wurden die Membranen aus dem Reaktionslösungsgemisch entnommen und auf einer dünnen Plexiglasscheibe angeordnet. Daraufhin wurden alle Membranen mittels Haushalts-Frischhaltefolie vollständig bedeckt und möglicherweise vorhandene Luftblasen vorsichtig mit dem Fingerrücken von den Membranen entfernt. Anschließend wurde die Haushalts-Frischhaltefolie auf der Rückseite der Plexiglasplatte umgeschlagen. In einer Dunkelkammer wurde die Plexiglasplatte in eine Röntgenkassette hineingelegt und ein Hyperfilm (Fa. Amersham Pharmacia, Buckinghamshire, UK) aufgelegt.

Nach einer geeigneten Belichtungszeit von mehreren Minuten konnte der Hyperfilm entnommen, entwickelt und fixiert werden. Dabei wurden von jeder Membran mehrere verschieden lange Belichtungen angefertigt, von denen die mit den am besten zu erkennenden Banden weiterverwendet wurde. Anschließend wurden die Hyperfilme getrocknet. Nach der Trocknung erfolgte die Kennzeichnung und Beschriftung der Markerbanden.

### 2.10.8 Berechnung des Probengehaltes an "Cathepsin L Proteinase"

Die belichteten Filme wurden mittels eines Durchlichtscanners (GT9600, Fa. Epson) mit 300 dots per inch digitalisiert. Anschließend wurden die Schwärzungsgrade der einzelnen Banden der jeweiligen Proben mit Hilfe des Computerprogrammes "GelScan V4.0" (Fa. BioSciTec, Marburg) errechnet. Die ermittelte Schwärzung einer Bande ist dabei proportional zu der in der Probe enthaltenen Enzymkonzentration.

---

Für die densitometrische Vermessung der einzelnen Banden wurde manuell um jede Bande ein Rechteck von konstanter Größe gelegt. Die exakt gleiche Größe der einzelnen Rechtecke ist unverzichtbar, damit die Schwärzungsgrade der verschiedenen Banden bzw. Gele auch miteinander verglichen werden können. Die Software "GelScan V4.0" (Fa. BioSciTec, Marburg) summierte alle Schwärzungsgrade innerhalb eines jeden Rechteckes auf.

Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse der unterschiedlichen Gele garantieren zu können, musste weiterhin der Schwärzungsgrad der einzelnen Banden auf eine feste Bezugsgröße normiert werden. Als solche wurde die Positivkontrolle verwendet, die auf alle Gele aufgetragen wurde und stets mitlief. Deshalb wurde zunächst ein Mittelwert aus den gemessenen Schwärzungsgraden aller Positivkontrollen gebildet. Anschließend wurde der für jedes einzelne Gel charakteristische Schwärzungsgrad durch den Mittelwert aller gemessenen Positivkontrollen dividiert, um den Faktor zu erhalten, um den die einzelnen Gele vom Mittelwert der Positivkontrollen abweichen. Um vorhandene Intergelvariationen des Schwärzungsgrades zu minimieren, wurden alle anderen Messwerte des entsprechenden Gels mit diesem errechneten Faktor multipliziert. Die dadurch erhaltenen Werte wurden anschließend durch den entsprechenden Wert der jeweiligen Negativkontrolle dividiert, so dass eventuelle Intragelvariationen keinen Einfluss auf die Vergleichbarkeit der einzelnen Probandaten hatten.

Der Mittelwert der Kontrollgruppe wurde als 100%-Enzymkonzentration festgelegt. Auf diesen Wert wurden die Enzymkonzentrationen aller anderen Versuchsgruppen bezogen und als prozentuale Differenz graphisch dargestellt. Um aussagefähige Ergebnisse zu erhalten, wurden die Ergebnisse der Doppelbestimmungen der aufgetragenen Proben gemittelt.

---

## 3 ERGEBNISSE

### 3.1 Die Eihüllen des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*

Die infektiösen Eier des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* sind von ovaler Gestalt und 55-70  $\mu\text{m}$  x 45-55  $\mu\text{m}$  groß. Die inaktiven Acanthoren des Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* werden von vier verschiedenen Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  umhüllt, die durch granuläre Zwischenräume  $G_1$ - $G_4$  voneinander getrennt sind (siehe Abbildung 16, 17d-e, 25, 28). Diese Gesamtheit der Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* ist deutlich dicker als die Gesamtheit der Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  der Eoacanthocephalenarten sowie die der meisten Palaeacanthocephalenarten.

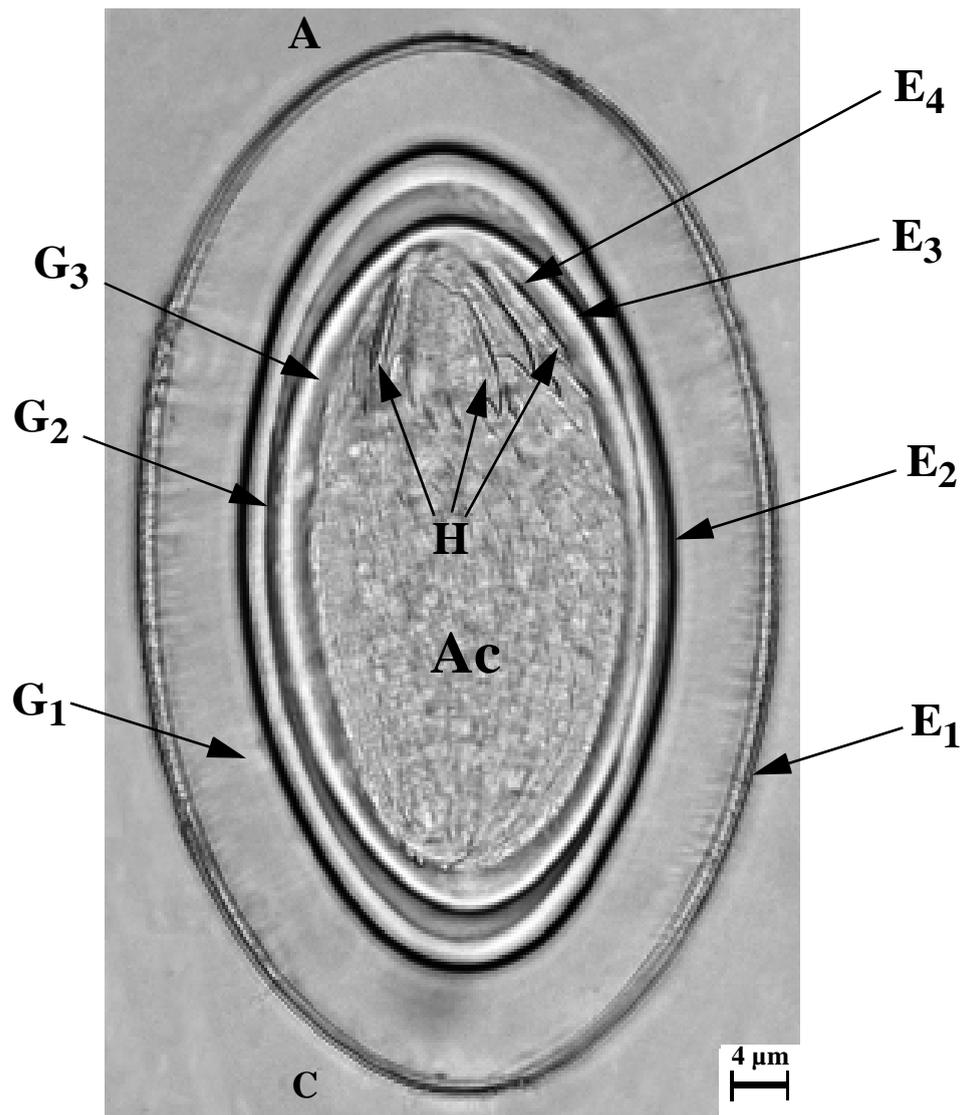
Alle Angaben zur Größe bzw. Dicke der untersuchten Archi-, Palae- oder Eoacanthocephaleneier bzw. einzelner Eihüllen von diesen stammen von Acanthocephaleneiern, die drei Tage bei 8 °C in physiologischer Lösung gelagert wurden. Anschließend wurden die Parasiteneier mit Hilfe von allgemein üblichen Laborverfahren für die elektronenmikroskopische Untersuchung aufbereitet.

Bei der Eihülle  $E_1$  von *M. moniliformis* handelt es sich um eine hauchdünne, sehr empfindliche Membran, die 240 nm dick ist (siehe Abbildung 17a-c). Diese Membran ist oberflächlich glatt und nahezu strukturlos. Nur äußerst selten konnten Archiacanthocephaleneier detektiert werden, die noch vollkommen von der Eihülle  $E_1$  umgeben waren (siehe Abbildung 17a). Die meisten Eier von *M. moniliformis* wiesen entweder überhaupt keine Eihülle  $E_1$  auf oder nur sehr kleine Reststücke, die stellenweise noch außen auf der Eihülle  $E_2$  vorhanden waren (siehe Abbildung 17b). Dies deutet darauf hin, dass sich die Eihülle  $E_1$  ablöst, sobald die Eier von *M. moniliformis* ins Freie gelangt sind.

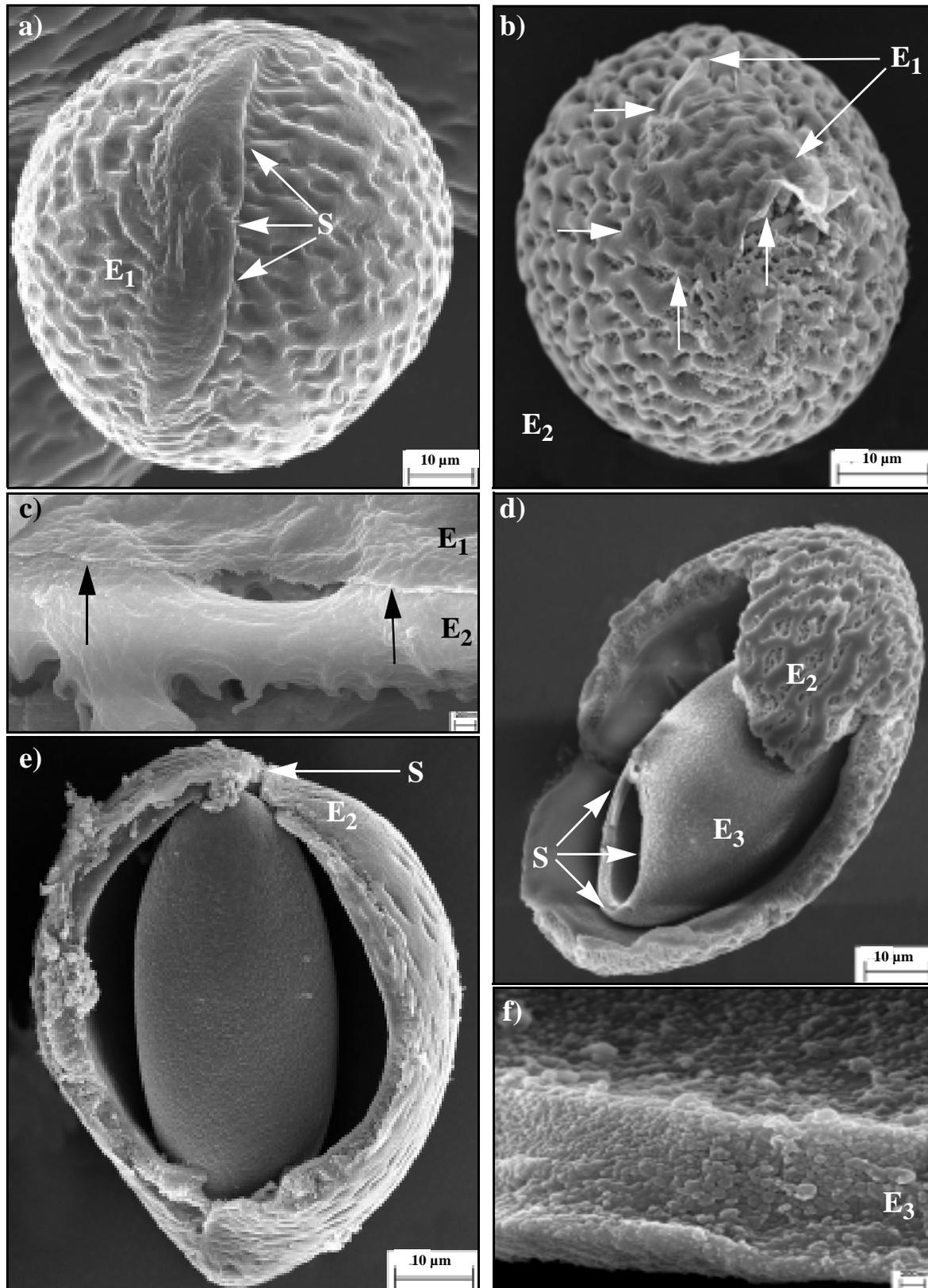
Durch die verletzbare Eihülle  $E_1$  schimmert eine massive Eihülle  $E_2$  des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* hindurch, die 6.5  $\mu\text{m}$  dick ist und im Gegensatz zu der des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* einen dreischichtigen Aufbau besitzt. Nach außen wird die Eihülle  $E_2$  von einem durchbrochenem Geflecht 2.0  $\mu\text{m}$  dicker Wulste abgeschlossen, die ein Eindringen von Fremdkörpern erschwert und gleichzeitig die restliche Eihülle  $E_2$  zusammenhält (siehe Abbildung 17b, 18c, 19). Daran schließt sich der mittlere Teilbereich von  $E_2$  an, der durchschnittlich 3.7  $\mu\text{m}$  dick ist und als "Dämmschicht" fungiert. Diese mittlere Schicht von  $E_2$  besteht aus einem verzweigten, feingliedrigem "Geästel", das einer etwa 0.8  $\mu\text{m}$  dicken inneren Teilschicht von  $E_2$  entspringt (siehe 18a-b). Diese strukturlose, innere Schicht schließt die Eihülle  $E_2$  nach innen eben ab (siehe Abbildung 18a, 18b, 18e).

Das Charakteristikum der Eihülle  $E_2$  der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* ist die Ausbildung eines exakt vorbestimmten "Schlüpfpunktes", durch den die aktivierte Parasitenlarve die Eihülle  $E_2$  stets verlässt (siehe Abbildung 17a, 17e, 18c-e). Dieser "Schlüpfpunkt" entsteht dadurch, dass sich die Eihülle  $E_2$  in diesem Bereich weitläufig überlappt (siehe Abbildung 17a, 18d).  $E_2$  ist daher nicht vollkommen geschlossen, sondern die beiden überlappenden Bereiche von  $E_2$  schmiegen sich eng aneinander (siehe Abbildung 18c-e, 20a). In der Regel ist der Schlüpfpunkt solange geschlossen bis die Archiacanthocephaleneier von einem geeigneten Zwischenwirt oral aufgenommen wurden (siehe Abbildung 17a, 21). Im Magen-Darm-Trakt des Zwischenwirtes beginnt die Eihülle  $E_2$  aufgrund der osmotischen Verhältnisse aufzuquellen. Dadurch weichen die überlappenden Bereiche von  $E_2$  automatisch auseinander und der "Schlüpfpunkt" öffnet sich (siehe Abbildung 20a-b).

---



**Abbildung 16** Lichtmikroskopische Aufnahme eines infektiösen Acanthocephaleneis von *M. moniliformis*. A: apikal, Ac: Acanthor, C: caudal,  $E_1$ : äußerste Eihülle,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle,  $G_1$ : äußerster granulärer Zwischenraum,  $G_2$ : zweitäußerster granulärer Zwischenraum,  $G_3$ : drittäußerster granulärer Zwischenraum, H: Haken am apikalen Pol des Acanthors



**Abbildung 17** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf die Eihülle von reifen Eiern des Archicanthocephalen *M. moniliformis*

**Legende Abbildung 17:** **a)** Apikaler Pol eines reifen Eis mit der Sollbruchstelle der Eihülle, dem sogenannten Schlüpfpunkt. **b)** Caudaler Pol eines reifen Eis, dessen äußerste Eihülle sich größtenteils abgelöst hat. **c)** Detailaufnahme der beiden äußersten Eihüllen  $E_1$  und  $E_2$ . **d)** Aufgebrochenes Archiacanthocephalenei (der Acanthor ist geschlüpft). **e)** Aufgebrochenes Acanthocephalenei: der Acanthor ist noch nicht geschlüpft und wird von der Eihülle  $E_3$  noch vollständig umschlossen, **f)** Aufsicht auf die Sollbruchstelle der Eihülle  $E_3$ , vergrößerter Ausschnitt der Abbildung 17d).  $E_1$ : äußerste Eihülle,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle,  $S$ : Schlüpfpunkt der Eihülle bzw. Sollbruchstelle

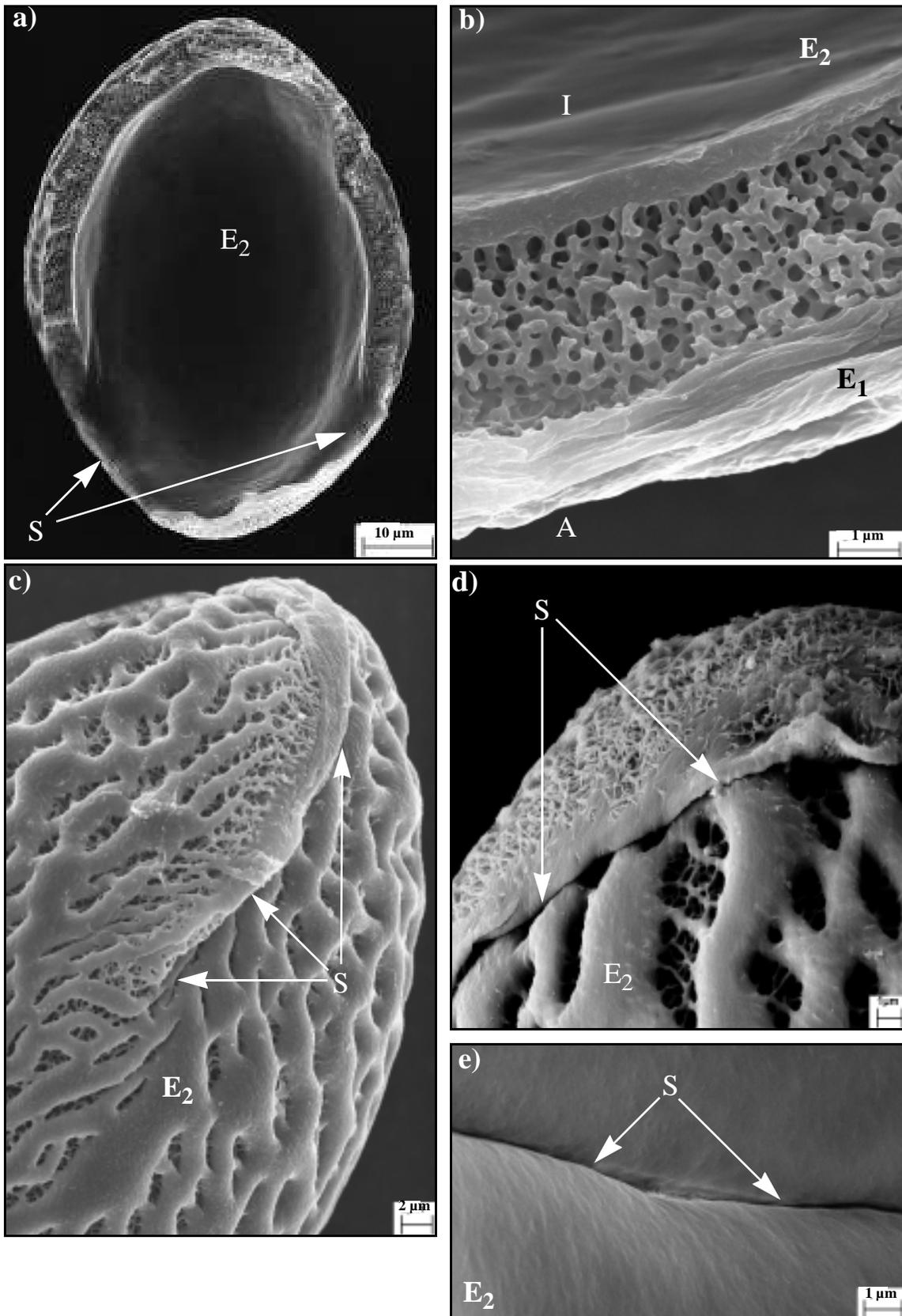
---

Innerhalb der Eihülle  $E_2$  hat der Acanthor, der noch von der Eihülle  $E_3$  und  $E_4$  umschlossen wird, ein wenig Spiel, so dass der Acanthor vor Erschütterungen, denen die Acanthoren bei der Verbreitung der Eier durch Windböen ausgesetzt sind, geschützt ist (siehe Abbildung 17d-e). Bei der drittäußersten Eihülle  $E_3$  von *M. moniliformis* handelt es sich um eine stabile Eihülle, die von ihrer Struktur an Hühnereier erinnert (siehe Abbildung 17d-f). Die Eihülle  $E_3$  des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* ist durchschnittlich  $1.3 \mu\text{m}$  dick (siehe Abbildung 17f). Ist der Acanthor ausgeschlüpft, bleibt ein kreisrundes Loch in der drittäußersten Eihülle  $E_3$  zurück, das von dem Acanthoren vermutlich durch eine aktive Verwendung der zahlreichen apikalen Haken erzeugt wird (siehe Abbildung 17d).

Die innerste Schutzschicht des inaktiven Acanthors von *M. moniliformis* wird von der Eihülle  $E_4$  gebildet, die sich aufgrund der kompakten Lagerung des Acanthors im reifen Ei eng an den Acanthoren anschmiegt (siehe Abbildung 20c). Dabei werden sowohl die zahlreichen, kleineren Körperstacheln als auch die großen Haken am apikalen Pol des Acanthors von der relativ dünnen Eihülle  $E_4$  umschlossen (siehe Abbildung 20c, 21, 22, 23). Abbildung 22b widerlegt eindeutig, dass es sich dabei um Fixierungs- bzw. Schrumpfungartefakte handelt. Die Eihülle  $E_4$  würde im Fall eines Fixierungs- bzw. Schrumpfungartefaktes zwar außen auf der Körperoberfläche (einschließlich der apikalen Haken bzw. Körperstacheln) anliegen,  $E_4$  würde die Haken und Körperstacheln jedoch nie ringsherum umschließen.

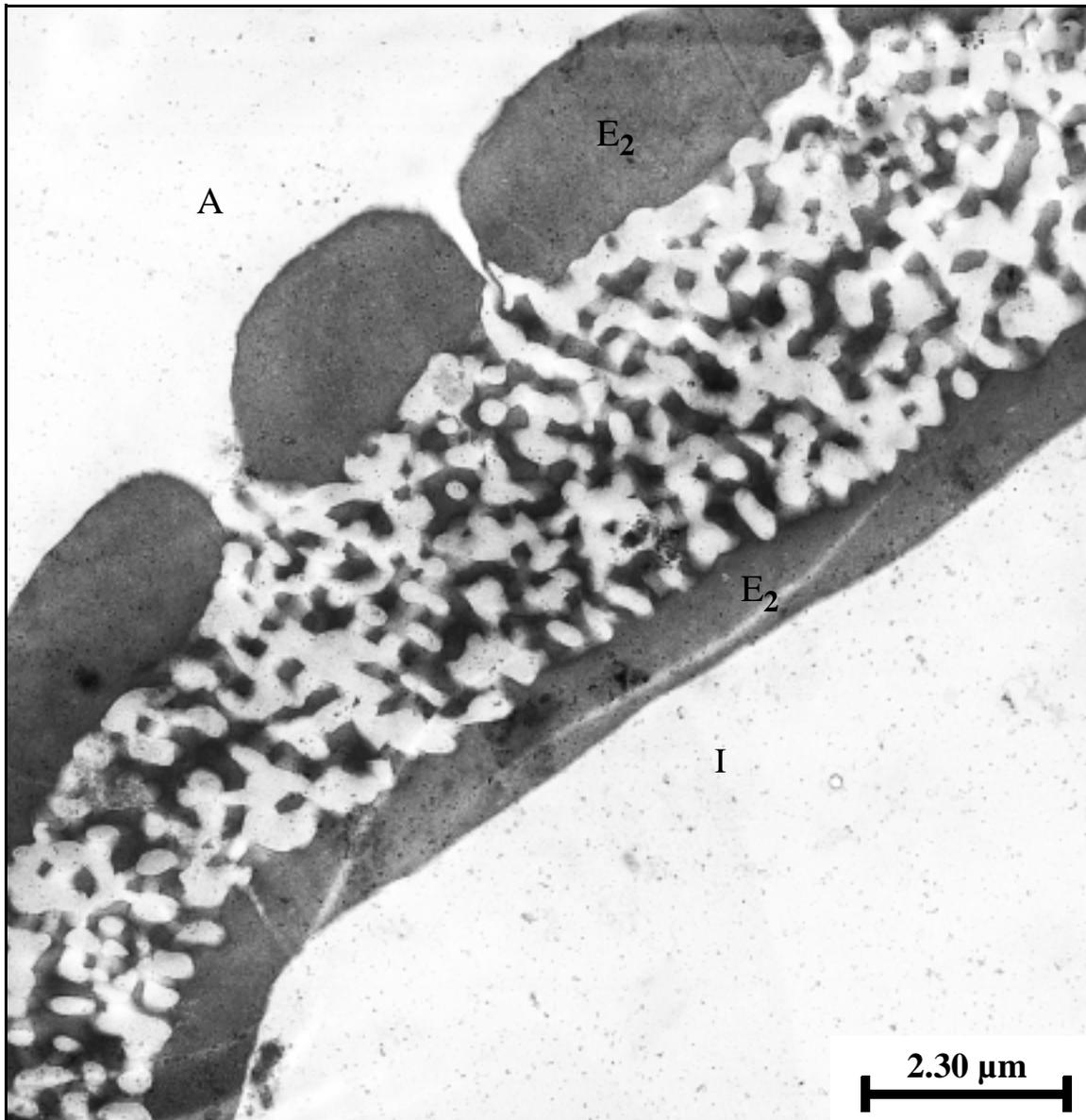
Dem Acanthor genügen daher während des Schlüpfvorganges geringste Bewegungen mit den apikalen Haken bzw. den weiter hinten angeordneten Körperstacheln, um die innerste Eihülle  $E_4$  mechanisch zu zerreißen, zumal der Acanthor im inaktiven Zustand die großen, apikalen Haken durch seitliches Umklappen eng an den Körper anlegt (siehe Abbildung 20c, 25c). Sobald der Acanthor aktiviert wurde, richten sich die Haken rings um den apikalen Pol des Acanthors auf. Durch diese Änderung der Hakenstellung kommt es zu einer deutlichen Vergrößerung des Durchmessers des apikalen Pol des Acanthors, die bereits die innerste Eihülle  $E_4$  mechanischen Belastungen aussetzt (siehe Abbildung 23, 24, 41, 43, 44, 45). Wenn die zentralen Hakenpaare im 90 Gradwinkel seitwärts vom Acanthor abgespreizt sind, ragen die Hakenspitzen weit über den Körper der Acanthoren hinaus (siehe Abbildung 24, 45b-c, 62a).

---

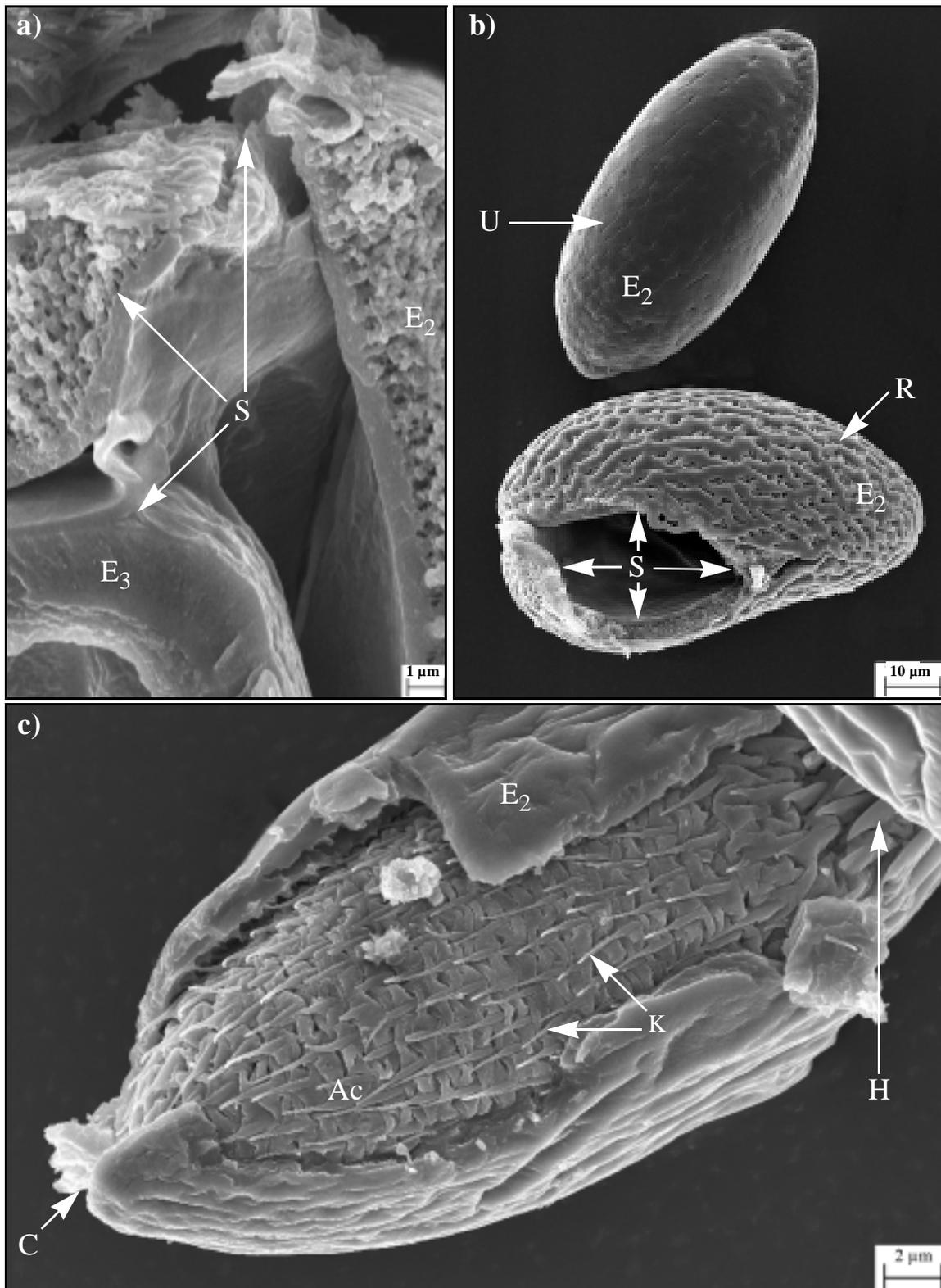


**Abbildung 18** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Eihülle E<sub>2</sub> des Acanthocephalen *M. moniliformis* und ihr Schlüpfpunkt

**Legende Abbildung 18:** a) Blick auf die Innenseite der Eihülle  $E_2$  eines aufgebrochenen Eies. b) Detailaufnahme der Wandstruktur der Eihülle  $E_2$ . c) Aufsicht auf den Schlüpfpunkt der Eihülle  $E_2$ . d) Aufsicht auf den Schlüpfpunkt der Eihülle  $E_2$  und ihre Überlappung. e) Blick von innen auf den Schlüpfpunkt der Eihülle  $E_2$ . A: Außen,  $E_1$ : die äußerste Eihülle,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle, I: Innen, S: Schlüfpunkt bzw. Sollbruchstelle der Eihülle  $E_2$

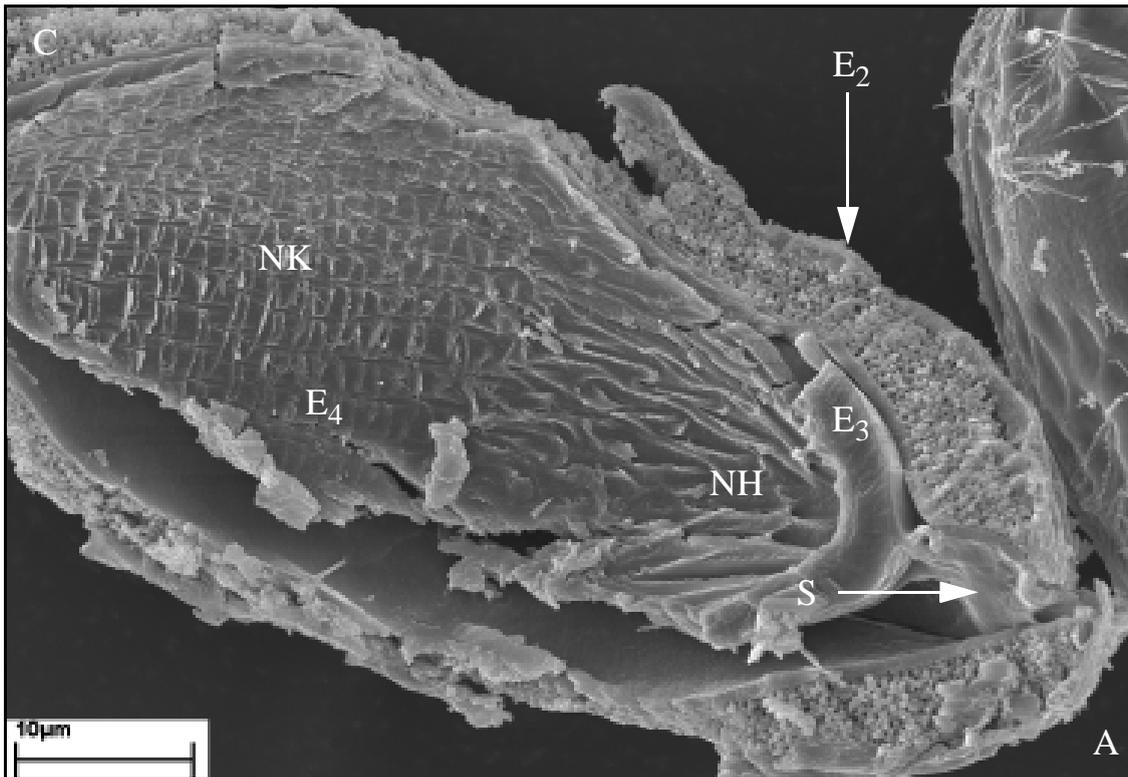


**Abbildung 19** Querschnitt durch die Eihülle  $E_2$  des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*. A: Außenseite,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle, I: Innenseite

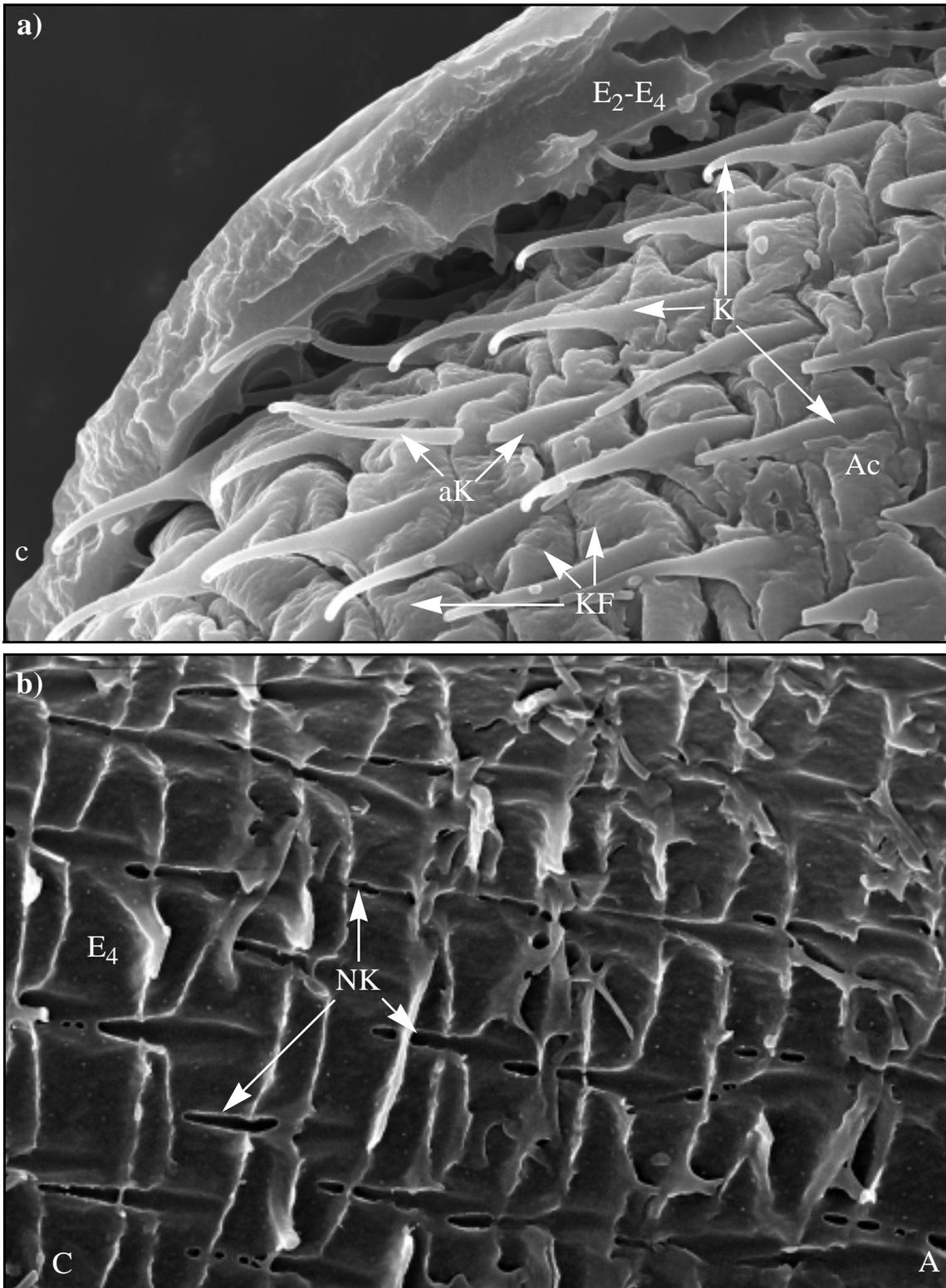


**Abbildung 20** Der Acanthor von *M. moniliformis* im Bezug zum reifen Acanthocephalenei

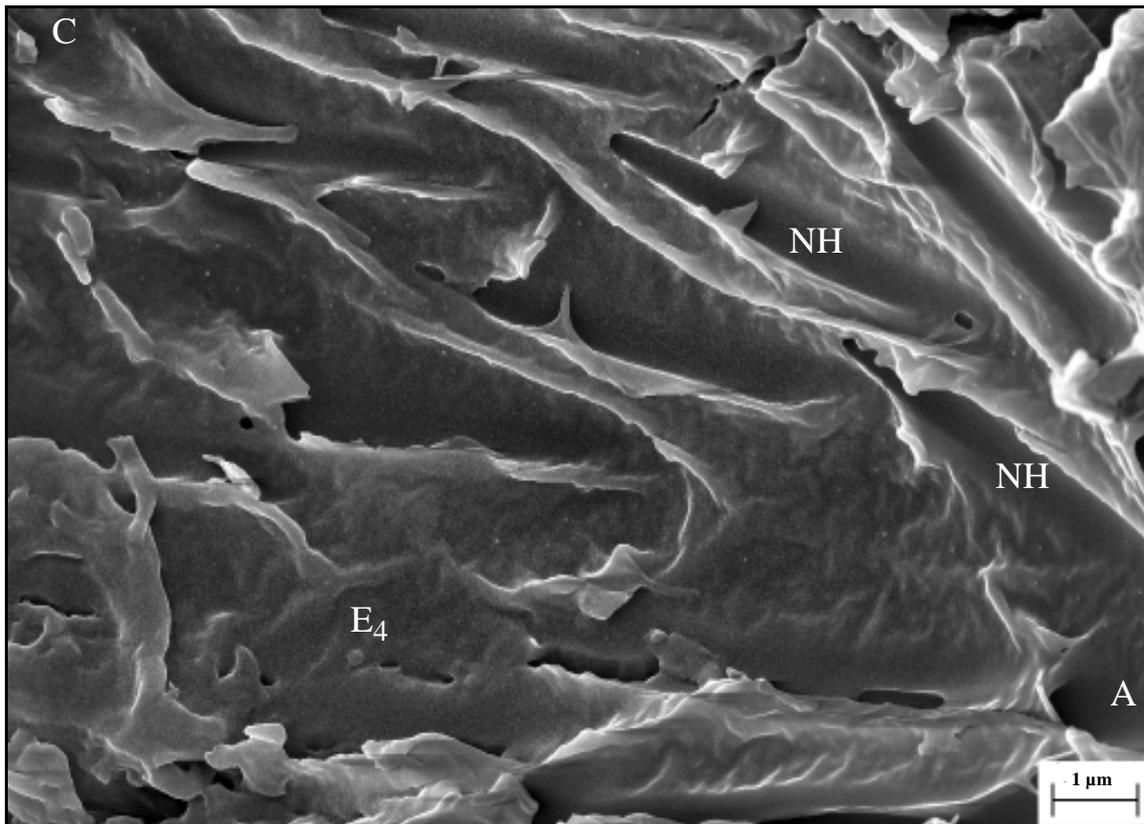
**Legende Abbildung 20:** **a)** Detailaufnahme (REM) zum Strukturaufbau der Sollbruchstelle der Eihüllen  $E_2$ . Der Schlüpfpunkt hat sich bereits etwas geöffnet. Es handelt sich um eine Ausschnittsvergrößerung von Abbildung 21. **b)** Rasteraufnahme eines unreifen Eis (U) und eines reifen Eis (R). Aus dem reifen Acanthocephalenei ist der Acanthor bereits geschlüpft. Da die Eihüllen  $E_2$ - $E_4$  maximal gequollen sind, ist der Schlüpfpunkt weit geöffnet. **c)** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf ein reifes, aufgebrochenes Ei von *M. moniliformis*, in dem der ungeschlüpfte, kompakt gelagerte Acanthor eindeutig zu erkennen ist. *Ac*: Acanthor, *C*: caudaler Pol,  $E_2$ : zweite Eihülle,  $E_3$ : dritte Eihülle, *H*: Haken, *K*: Körperstachel, *R*: reifes Ei, *S*: Schlüpfpunkt bzw. Sollbruchstelle der Eihülle, *U*: unreifes Ei



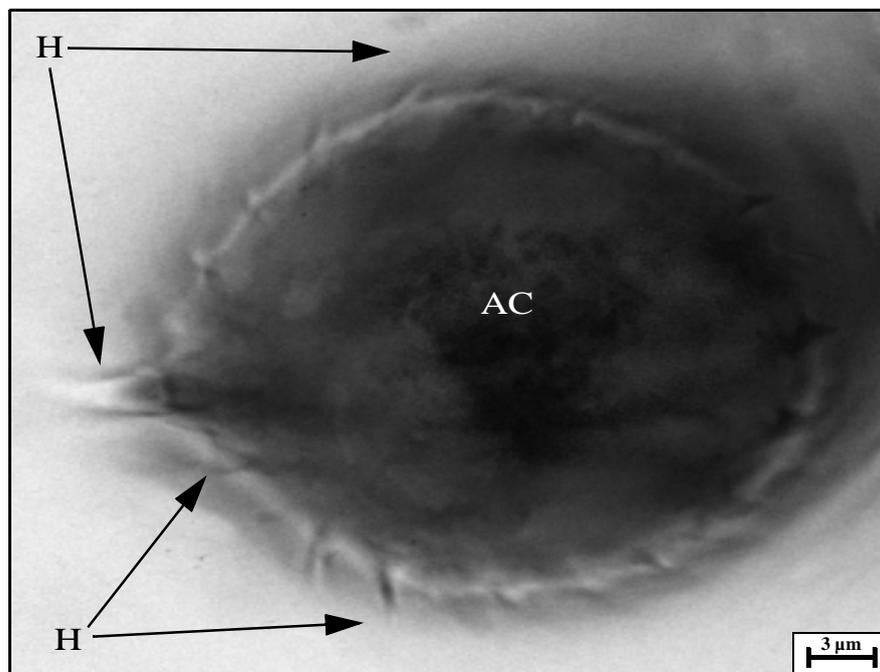
**Abbildung 21** Rasterelektronenmikroskopischer Blick von innen auf die leere Eihülle  $E_4$  von *M. moniliformis*. Die Sollbruchstelle der Eihülle  $E_2$  ist noch nahezu vollkommen geschlossen. *A*: apikal, *C*: caudal,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittinnerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle, *NH*: Negativabdruck der apikalen Haken des Acanthors in der innersten Eihülle, *NK*: Negativabdruck der Körperstacheln des Acanthors in der innersten Eihülle  $E_4$ , *S*: Schlüpfpunkt



**Abbildung 22** Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahmen des Acanthors von *M. moniliformis*, der teilweise noch von den Eihüllen  $E_2$ - $E_4$  umschlossen wird. **a)** Die Körperstacheln des Acanthors in der Nähe seines caudalen Pols. **b)** Blick auf die leere Eihülle  $E_4$  von innen. Der Acanthor ist geschlüpft. *aK*: abgebrochener Körperstachel, *A*: apikal, *Ac*: Acanthor, *C*: caudal,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle, *K*: Körperstachel des Acanthors, *KF*: Körperfalte des Acanthors, *NK*: Negativabdruck der Körperstacheln des Acanthors in der innersten Eihülle



**Abbildung 23** Rasterelektronenmikroskopischer Blick von innen auf die leere Eihülle  $E_4$  in der Nähe des apikalen Pols des Acanthors. A: apikal, C: caudal,  $E_4$ : innerste Eihülle, NH: Negativabdruck der apikalen Haken des Acanthors in der innersten Eihülle



**Abbildung 24** Lichtmikroskopische Aufnahme eines geschlüpften Acanthors von *M. moniliformis* von vorne. AC: Acanthor, H: Haken

### 3.2 Die Eihüllen des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*

Die Gesamtheit der Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* weist den gleichen Aufbau wie die Gesamtheit der Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  des Acanthocephalen *M. moniliformis* auf. Dies ist nicht verwunderlich, da beide Acanthocephalenarten einen terrestrischen Entwicklungszyklus besitzen und zur Gruppe der Archiacanthocephalen gehören.

Auch der Acanthor von *M. hirudinaceus* ist von vier verschiedenen Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  umgeben, die durch vier verschiedene granuläre Zwischenräume  $G_1$ - $G_4$  getrennt sind (siehe Abbildung 25). Im inaktiven Zustand hat der Acanthor sowohl die apikalen Haken als auch die zahlreicheren Körperstacheln eng an den Körper angelegt (siehe Abbildung 25c).

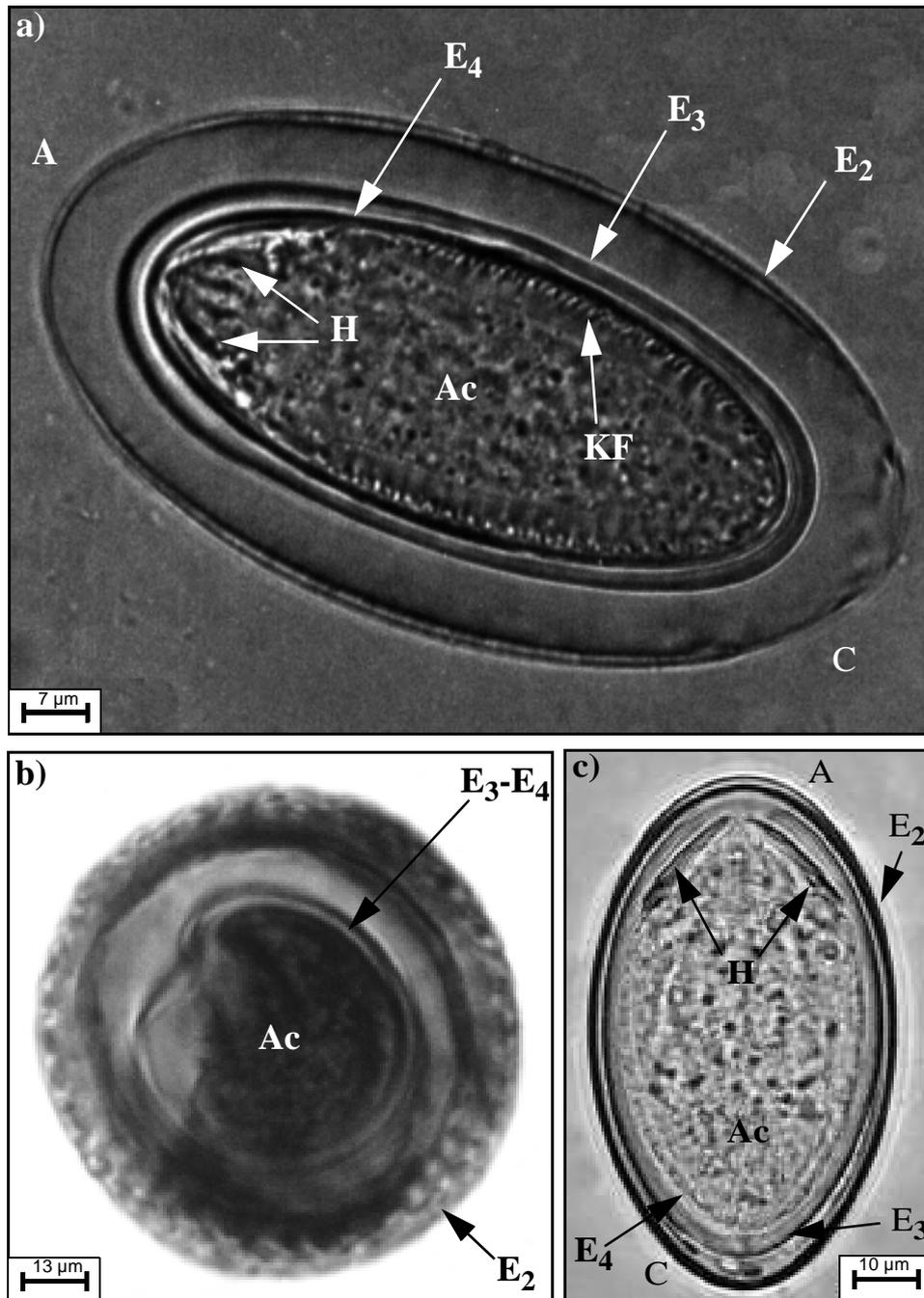
Die infektiösen Eier von *M. hirudinaceus* sind 80-100  $\mu\text{m}$  x 50-60  $\mu\text{m}$  groß. Die Eihülle  $E_1$  von *M. hirudinaceus* ist 170 nm dünn, oberflächlich glatt und strukturlos (siehe Abbildung 26a, 28a). Unter natürlichen Bedingungen löst sich die Eihülle  $E_1$  von den übrigen Eihüllen  $E_2$ - $E_4$  ab, sobald die Parasiteneier ins freie Umgebungsmilieu der terrestrisch lebenden Endwirte gelangen. Bei den *in-vitro*-Experimenten war die Eihülle  $E_1$  meistens selbst dann nicht mehr auffindbar, wenn die Parasiteneier direkt aus der Leibeshöhle der Adulti in physiologische Lösung bzw. Fixans überführt wurden.

Solange die Eihülle  $E_1$  noch vorhanden ist, ist die Eihülle  $E_2$  nicht gequollen. Die Wulste der äußersten Schicht von  $E_2$  sind noch dicht zusammengepresst, so dass sie eine geschlossene Schicht bilden (siehe Abbildung 26a). Erst durch das Aufquellen der Eihülle entsteht das charakteristische durchbrochene Erscheinungsbild der äußersten Teilschicht von  $E_2$  (siehe Abbildung 26b-f, 27a-b, 28a-b).

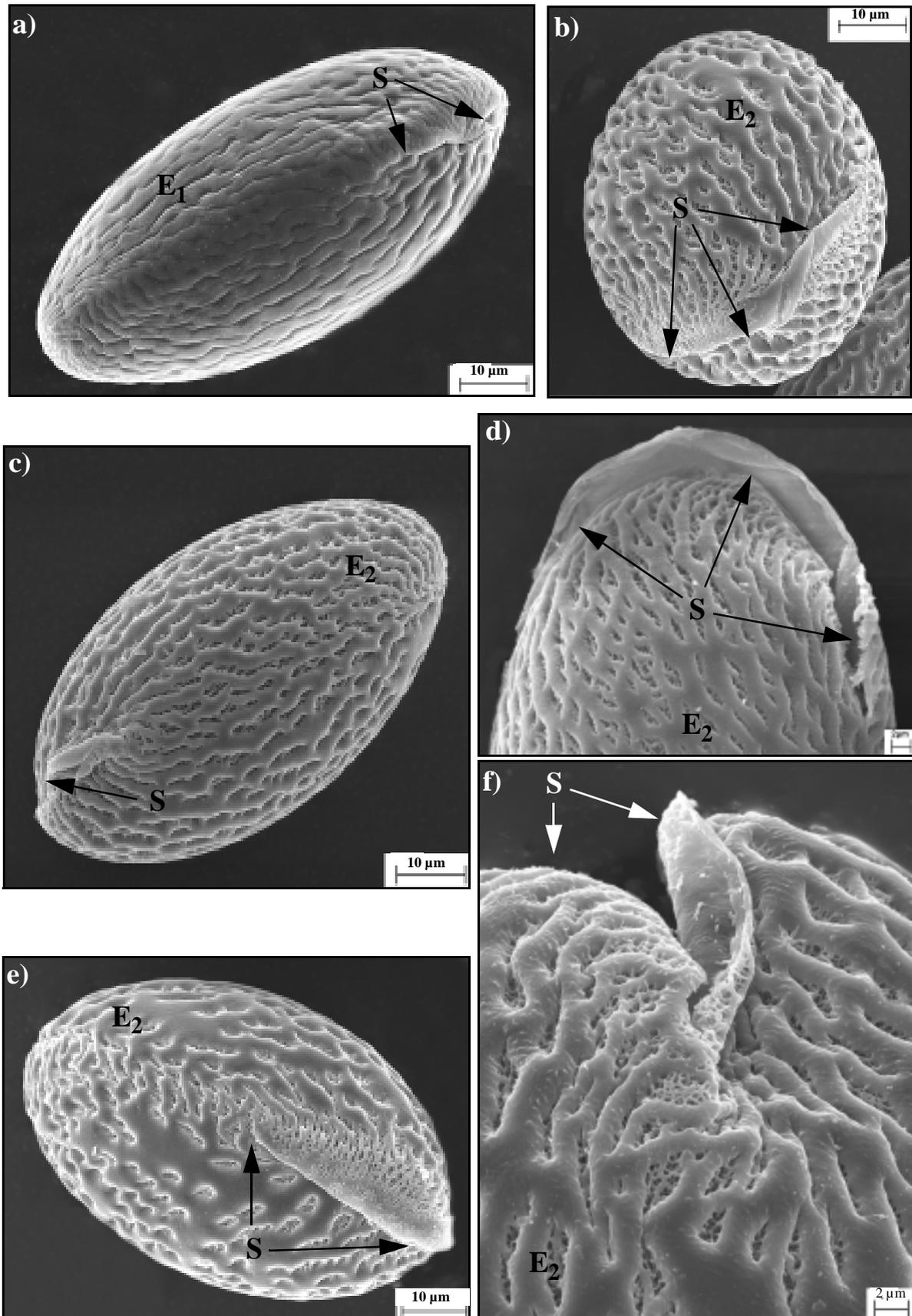
Die Eihülle  $E_2$  umgibt den Acanthor mit viel Spiel, um ihn vor Erschütterungen zu schützen (siehe Abbildung 25b). Die zweitäußerste Eihülle  $E_2$  ist ebenfalls dreischichtig aufgebaut und stellt die massivste der vier verschiedenen Eihüllen dar (siehe Abbildung 28b). Die Eihülle  $E_2$  ist insgesamt 5  $\mu\text{m}$  dick. Nach außen ist die Eihülle  $E_2$  von *M. hirudinaceus*, wie bei *M. moniliformis*, von einem durchbrochenen Geflecht dicker Wulste abgeschlossen (siehe Abbildung 26b-f, 27a-b). Die mittlere Schicht von  $E_2$  wird wiederum von einem feingliedrigen, verzweigten "Geästel" gebildet, das durch seine Struktur einwirkende Kräfte aufnimmt und großflächig verteilt (siehe Abbildung 28a, 28b, 28d). Die mittlere Schicht ist 2.20  $\mu\text{m}$  dick. Auf der Innenseite wird die Eihülle  $E_2$  von einer geschlossenen, glatten Schicht abgeschlossen, die keinerlei Struktur aufweist und 770 nm dick ist (siehe Abbildung 28a-b).

Wie bei *M. moniliformis*, hat auch die Eihülle  $E_2$  von *M. hirudinaceus* einen vorbestimmten "Schlüppunkt" ausgebildet, der wiederum durch Überlappung von Bereichen der gesamten Eihülle  $E_2$  entsteht (siehe Abbildung 26a-f, 27a-b). Dieser "Schlüppunkt" verläuft beidseitig von der Eispitze 34  $\mu\text{m}$  weit in Richtung Eimitte (siehe Abbildung 26, 27a-b). Die Eihülle  $E_2$  überlappt sich ungefähr 2.3  $\mu\text{m}$  (siehe

Abbildung 26d). Durch Quellen der Eihülle  $E_2$  im Magen-Darm-Trakt eines geeigneten Zwischenwirtes, wie z.B. *P. americana*, weichen die überlappenden Bereiche der Eihülle  $E_2$  im Lauf der Zeit auseinander und geben den Acanthoren, der noch von den Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  umgeben ist, frei (siehe Abbildung 26d-f, 27b, 28a, 28c). Aus diesen Eihüllen befreit sich der Acanthor mittels seiner massiven, apikalen Haken (siehe Abbildung 29).

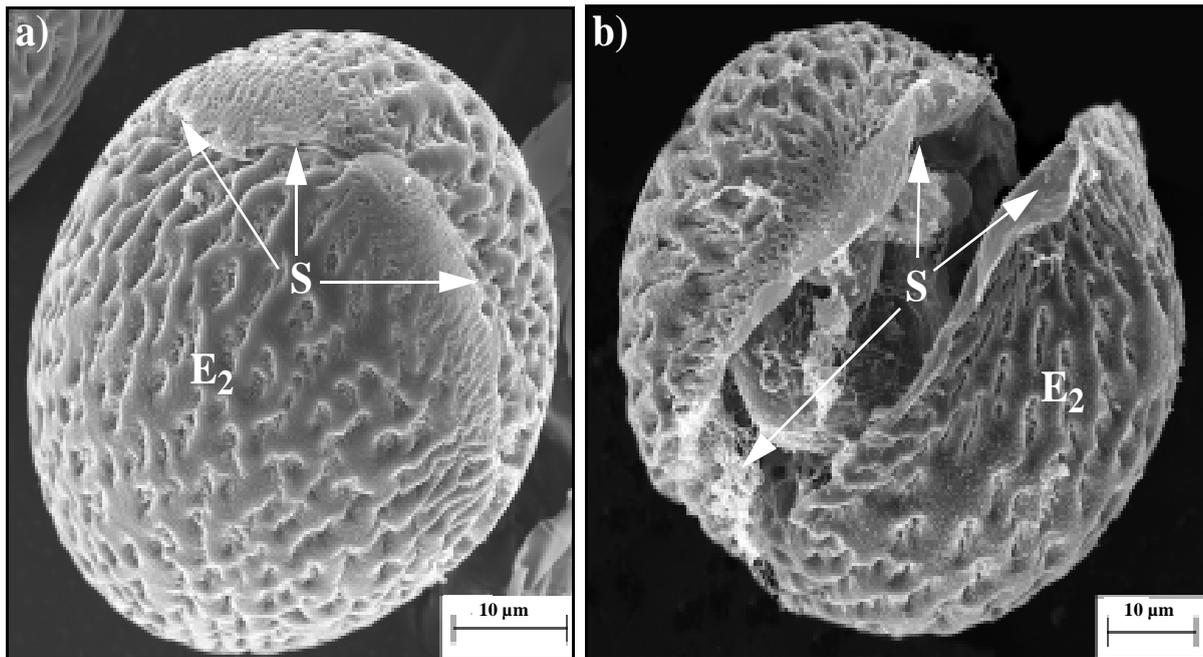


**Abbildung 25** Lichtmikroskopische Aufnahme eines infektiösen Acanthocephaleneis von *M. hirudinaceus*, dessen äußerste Eihülle  $E_1$  sich bereits abgelöst hat. **a)** Acanthor von *M. hirudinaceus*, der von den Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  umschlossen ist. Die Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  sind bereits aufgequollen. **b)** Querschnitt durch ein infektiöses Ei von *M. hirudinaceus*. **c)** Acanthor von *M. hirudinaceus*, der von den Eihüllen  $E_2$ - $E_4$  umschlossen ist.  $A$ : apikal,  $Ac$ : Acanthor,  $C$ : caudal,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle,  $H$ : Haken am apikalen Pol des Acanthors,  $KF$ : Körperfalten.



**Abbildung 26** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf die Eihülle von reifen Eiern des Archicanthocephalen *M. hirudinaceus*

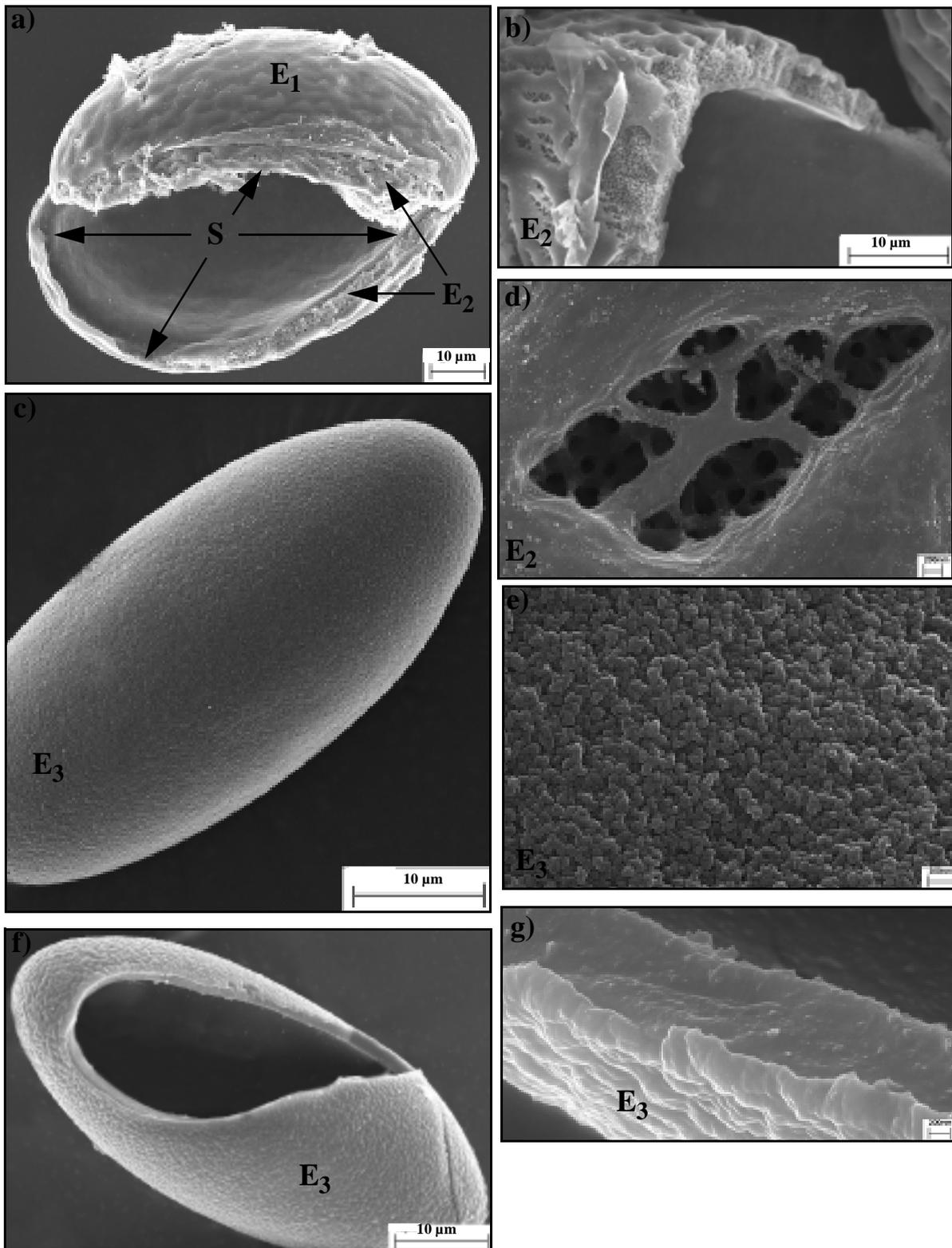
**Legende Abbildung 26:** a) Reifes Ei, das noch von allen vier Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  umgeben ist. Die Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  sind noch ungequollen. b) Blick auf den apikalen Pol eines reifen Eis, dessen äußerste Eihülle  $E_1$  sich abgelöst hat. Der Schlüpfpunkt der Eihüllen ist noch vollkommen geschlossen, obwohl die Eihülle  $E_2$  begonnen hat aufzuquellen. c) Reifes Ei, das von den Eihüllen  $E_2$ - $E_4$  umhüllt ist. Der Schlüpfpunkt der Eihüllen ist geschlossen. d) Detailreicher Blick auf den apikalen Pol eines Eis. Der Schlüpfpunkt der Eihülle  $E_2$  ist am Aufreißen, da die Eihülle  $E_2$  mehr und mehr aufquillt. e) Blick auf die zweitäußerste Eihülle  $E_2$ . f) Aufsicht auf den apikalen Pol eines Eis. Der Schlüpfpunkt des Eis ist geöffnet. Die Eihülle  $E_2$  ist maximal gequollen.  $E_1$ : äußerste Eihülle,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle, S: Schlüpfpunkt der Eihülle bzw. Sollbruchstelle



**Abbildung 27** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des Schlüpfpunktes der Eihülle  $E_2$ .

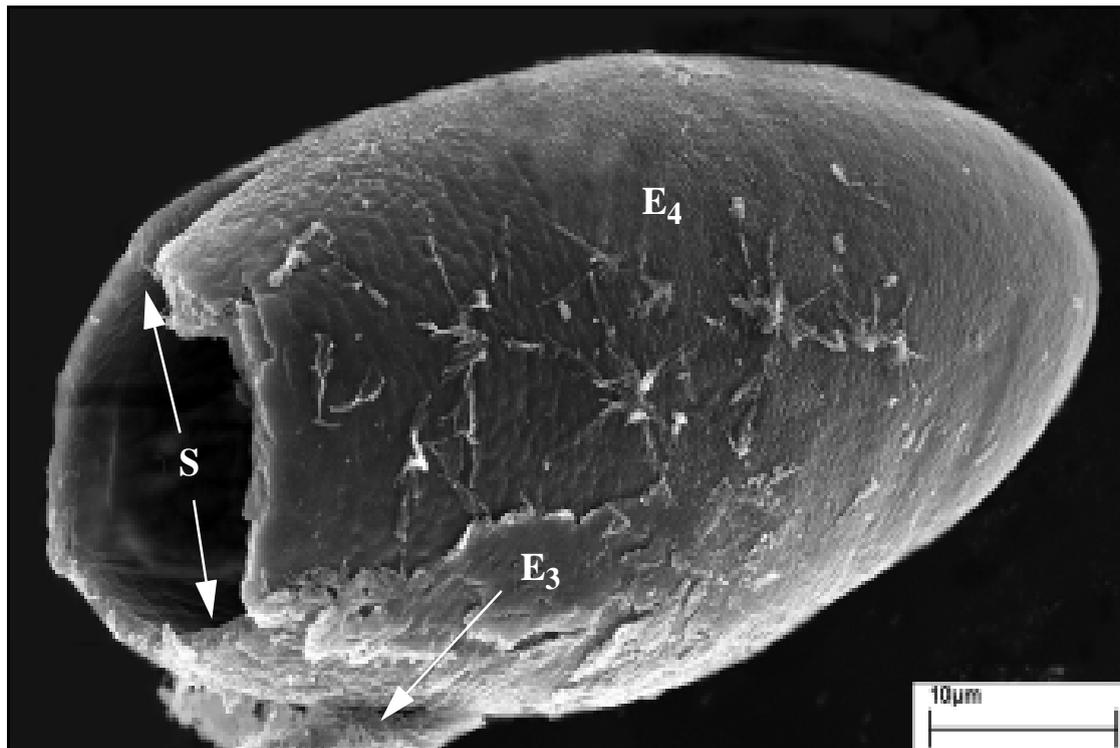
a) Unaktiviertes Acanthocephalenei. Der Schlüpfpunkt ist noch vollkommen geschlossen, obwohl die Eihülle  $E_1$  fehlt. b) Unaktiviertes Acanthocephalenei, das längere Zeit in physiologischer Lösung gelagert wurde. Die äußerste Eihülle  $E_1$  hat sich vollkommen abgelöst. Der Schlüpfpunkt ist bereits etwas geöffnet, da die Eihülle  $E_2$  gequollen ist.  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle, S: Schlüpfpunkt

Bei der drittäußersten Eihülle  $E_3$  des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* handelt es sich um eine stabile, geschlossene Hülle, die eine leicht unebene Oberfläche besitzt und durchschnittlich  $1 \mu\text{m}$  dick ist (siehe Abbildung 28c, 34e-g).



**Abbildung 28** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf die Eihüllen E<sub>1</sub>-E<sub>3</sub> der Eihülle von *M. hirudinaceus*

**Legende Abbildung 28:** a) Aufnahme eines reifen Eis mit geöffnetem Schlüpfpunkt. Der Acanthor ist mitsamt den Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  entwichen. b) Detailaufnahme der Bruchkante der Eihülle  $E_2$ , die gequollen ist. c) Acanthor, der noch vollständig von der Eihülle  $E_3$  umgeben ist. Der Acanthor ist mit der Eihülle aus dem Schlüpfpunkt der Eihülle  $E_2$  herausgerutscht. d) Detailaufnahme der Beschaffenheit der Eihülle  $E_2$ . e) Detailaufnahme der Struktur der Eihülle  $E_3$ . f) Blick ins Innere einer aufgebrochenen Eihülle  $E_3$ . Der von der Eihülle  $E_4$  umgebene Acanthor befindet sich nicht mehr im Inneren. g) Detail der Bruchkante der Eihülle  $E_3$ .  $E_1$ : äußerste Eihülle,  $E_2$ : zweite Eihülle,  $E_3$ : dritte Eihülle,  $S$ : Schlüpfpunkt bzw. Sollbruchstelle der Eihülle

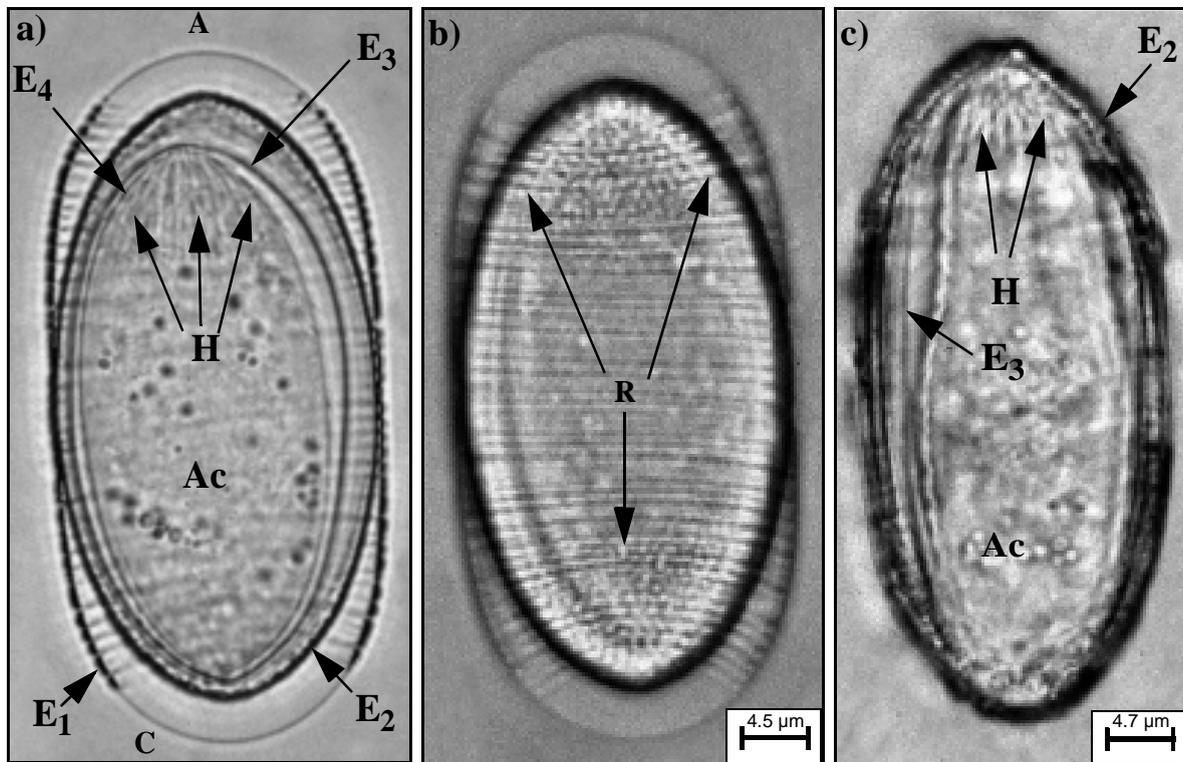


**Abbildung 29** Die innerste Eihülle  $E_4$  von *M. hirudinaceus*, aus welcher der Acanthor bereits geschlüpft ist. Auf der Außenseite der Eihülle  $E_4$  hängen Reste der Eihülle  $E_3$ .  $E_3$ : zweitinnerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle,  $S$ : Schlüpfpunkt des Acanthors

### 3.3 Die Eihüllen des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*

Die für den Gammariden *G. tigrinus* infektiösen Eier von *P. ambiguus* besitzen eine ovale bis längliche Form, die für viele Eoacanthocephaleneier charakteristisch ist. Ihre durchschnittliche Länge beträgt  $48 \mu\text{m}$  und die durchschnittliche Breite  $18 \mu\text{m}$ . Wie bei den meisten Acanthocephalenarten ist der ungeschlüpfte Acanthor im reifen Acanthocephalenei von vier verschiedenen Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  umschlossen, die sich in Aufbau und Struktur unterscheiden (siehe Abbildung 30, 31, 32, 33). Die einzelnen Eihüllen sind durch granuläre Zwischenräume  $G_1$ - $G_4$  voneinander getrennt (siehe Abbildung 30a, 30c). Infektiöse Eier von *P. ambiguus* weisen eine charakteristische Ringelung auf (siehe Abbildung 30a-b, 31). Diese Streifung bzw. Ringelung wird durch den äußeren

Teil der Eihülle  $E_2$  hervorgerufen, der sich durch die dünne Eihülle  $E_1$  hindurch abzeichnet (siehe Abbildung 31b-e). Nach dem Abstreifen von  $E_1$  verschwindet die Ringelung durch Quellung und Längsstreckung der Eihülle  $E_2$ .



**Abbildung 30** Lichtmikroskopische Aufnahmen von infektiösen Eiern des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*. **a)** Reifes Ei des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*, in dem sich noch der inaktive Acanthor befindet. **b)** Charakteristische Ringelung eines reifen Eies von *P. ambiguus*. **c)** Die äußerste Eihülle  $E_1$  hat sich abgelöst. Der Acanthor ist noch von den Eihüllen  $E_2$ - $E_4$  umgeben. A: apikal, Ac: Acanthor, C: caudal, H: apikale Haken des Acanthors, R: typische Ringelung eines reifen Eies von *P. ambiguus*

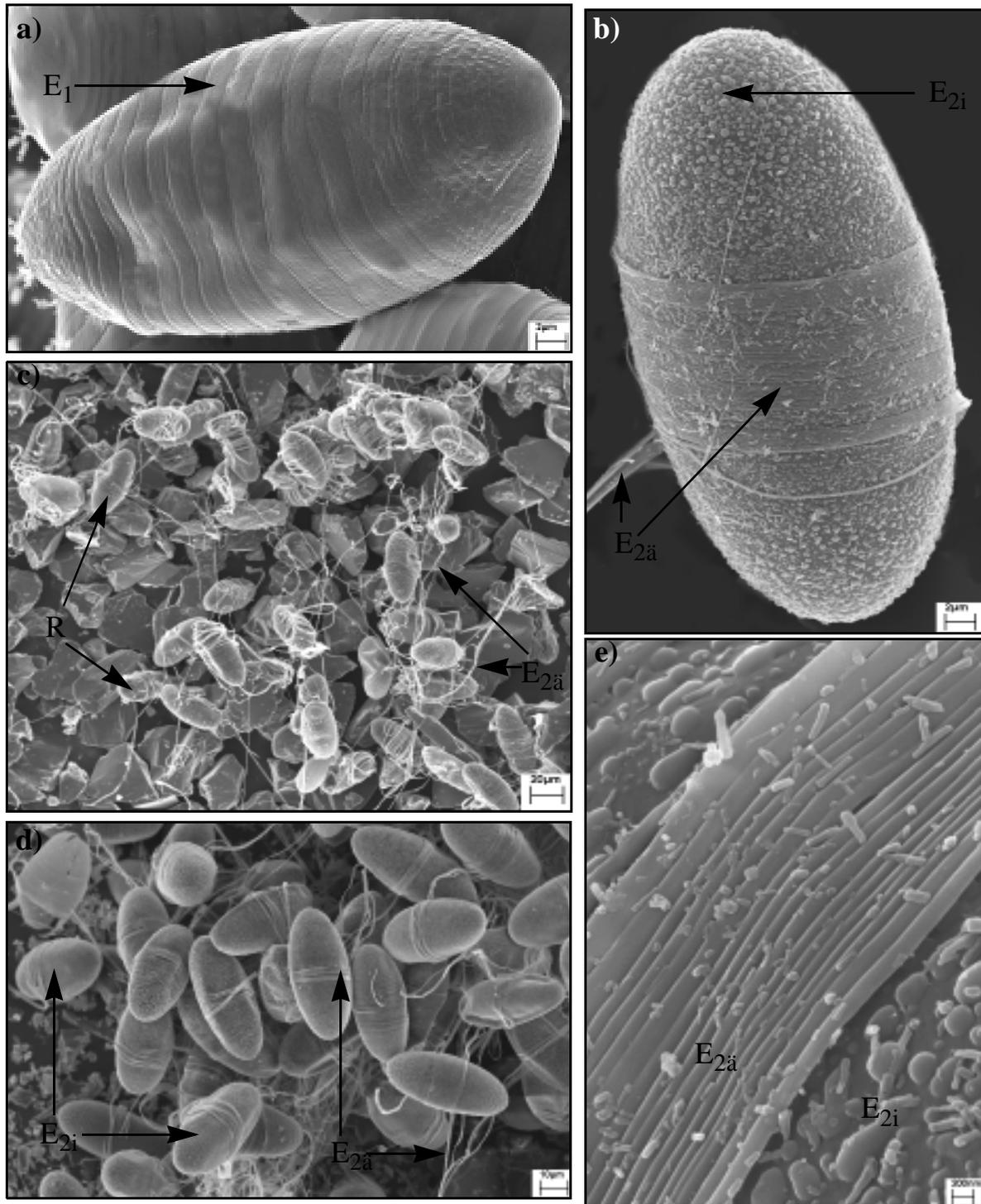
Bei der Eihülle  $E_1$  handelt es sich um eine etwa 25 nm dicke, strukturlose Membran, die eine glatte Oberfläche besitzt und sich rasch von der übrigen Eihülle  $E_2$ - $E_4$  ablöst. Bei den meisten im Rasterelektronenmikroskop untersuchten Eoacanthocephaleneiern konnte die Eihülle  $E_1$  deshalb nicht mehr aufgespürt werden (siehe Abbildung 31b-d). Dabei konnte keinerlei Unterschied zwischen Acanthocephaleneiern festgestellt, die aus der Leibeshöhle der Adulti von *P. ambiguus* direkt in ein Fixans überführt wurden, und Eiern, die vor der Überführung in das Fixans mehrere Wochen in physiologischer Lösung gelagert waren. Vor ihrer Ablösung liegt die Eihülle in ihrer Gesamtheit direkt auf dem äußeren Teil der Eihülle  $E_2$  auf.

Im Gegensatz zu den Archiacanthocephaleneiern weist die zweitäußerste Eihülle  $E_2$  des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* keinen Schlüpfpunkt auf, sondern ist aus einem äußeren und einem inneren Teil aufgebaut (siehe Abbildung 31b). Bei dem äußeren Teil  $E_{2ä}$  der Eihülle  $E_2$  handelt es sich um dünne Bänder bzw. Fäden, die durchschnittlich  $0.16 \mu\text{m}$  dick und auf der gesamten Eilänge nahtlos um den inneren Teil  $E_{2i}$  der zweitäußersten Eihülle aufgewickelt sind (siehe Abbildung 31). Dabei liegt der äußere Teil  $E_{2ä}$  dem inneren Teil  $E_{2i}$  der Eihülle zunächst kompakt an. Durch ein leichtes Aufquel-

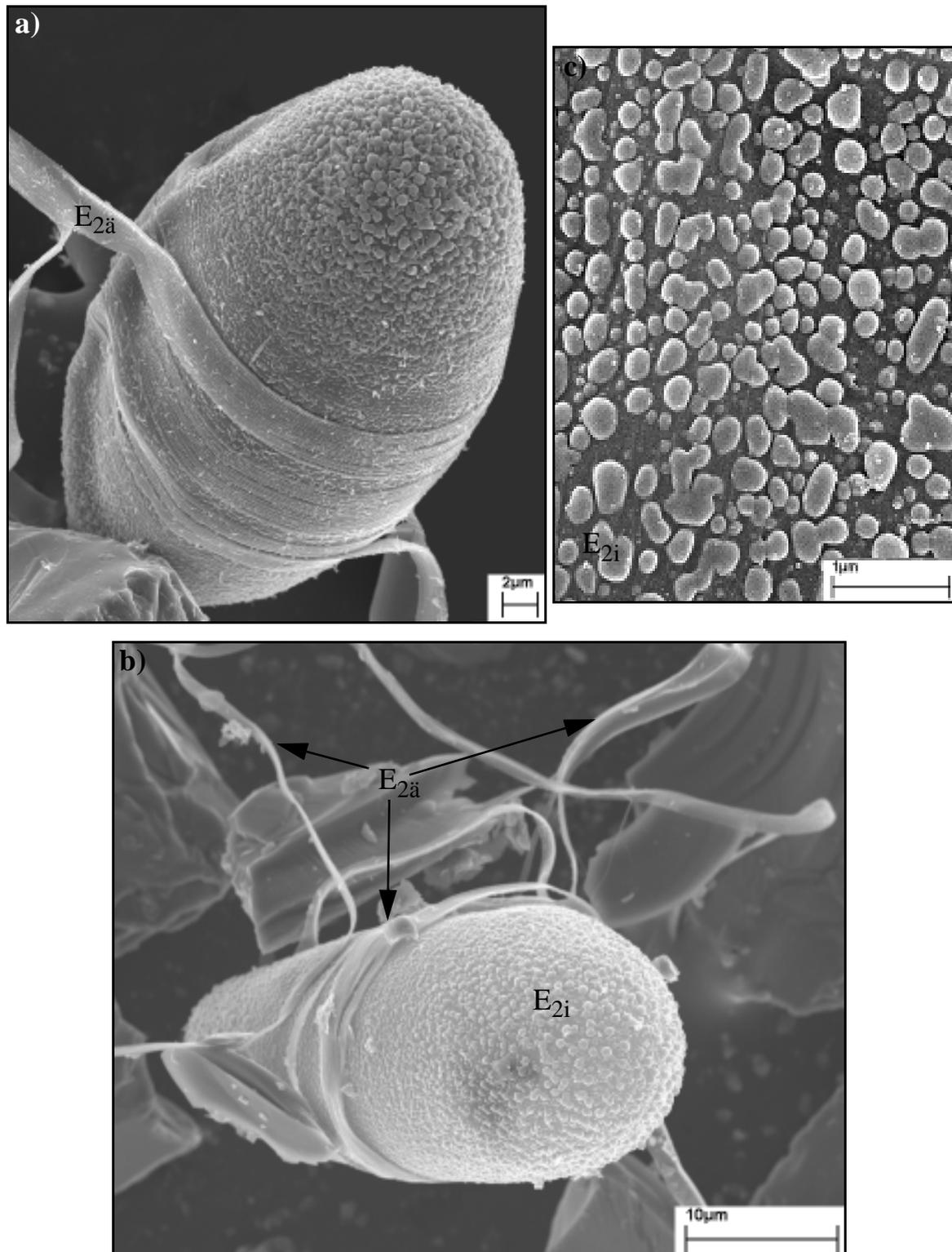
len löst sich der fadenförmige Eihüllenteil  $E_{2\text{ä}}$ , der wie die Eihülle  $E_1$  eine vollkommen strukturlose und glatte Oberfläche aufweist, mit der Zeit von dem inneren Teil  $E_{2\text{i}}$  ab und treibt frei umher (siehe Abbildung 31). Sobald die Eihüllenfäden von  $E_{2\text{ä}}$  auf ein beliebiges Objekt treffen, wickeln sie sich um dieses herum und verankern dadurch das Ei an diesem Objekt (siehe Abbildung 31c-d, 32b). In einem schmalen, mittleren Bereich der Acanthocephaleneier bleiben die beiden Eihüllenteile  $E_{2\text{ä}}$  und  $E_{2\text{i}}$  stets miteinander verbunden (siehe Abbildung 31d).

Bei dem inneren Teil  $E_{2\text{i}}$  der Eihülle  $E_2$  handelt es sich um eine stabile Schicht, die durchschnittlich  $0.2\ \mu\text{m}$  dick ist und eine geschlossene Hüllschicht um den Acanthor und die beiden inneren Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  bildet. Die Oberfläche von  $E_{2\text{i}}$  ist von zahlreichen größeren oder kleineren halbkugeligen Auswüchsen bzw. "Noppen" gekennzeichnet, die einen durchschnittlichen Durchmesser von  $0.29\ \mu\text{m}$  besitzen (siehe Abbildung 31b, 31e, 32). Im Gegensatz dazu ist die Innenseite der Eihülle  $E_{2\text{i}}$  vollkommen strukturlos und eben (siehe Abbildung 33a-b). Die Eihülle  $E_{2\text{i}}$  besitzt eine sehr große Sprödigkeit. Durch den intensiven Einsatz der Mundwerkzeuge der Zwischenwirte wird die Eihülle  $E_{2\text{i}}$  lokal zerstört. Aufgrund der Sprödigkeit dieser Hüllschicht zieht sich von dieser Stelle ein glatter Sprung über die gesamte Länge bzw. Breite des Acanthocephaleneis (siehe Abbildung 33a-c). Zum Vorschein kommt die weiter innen gelegene Eihülle  $E_3$ . Bei der Eihülle  $E_3$  handelt es sich um eine  $15\ \text{nm}$  dünne, elektronendichte Membran, die eine glatte, strukturlose Oberfläche besitzt (siehe Abbildung 35). Die Eihülle  $E_3$  ist im infektiösen Ei nicht prall angespannt, sondern kennzeichnet sich durch einen sehr unregelmäßigen Verlauf.  $E_3$  wirft zahlreiche kleinere Falten und macht einen äußerst "schrumpeligen" Eindruck (siehe Abbildung 33). Die Eihülle  $E_3$ , die vermutlich dem Schutz des Acanthors vor bakteriellem Abbau dient, wird von dem Acanthor mechanisch zerstört. Der aktivierte Acanthor von *P. ambiguus* befreit sich aus der Eihülle  $E_3$  durch den Einsatz seiner großen, apikalen Haken (siehe Abbildung 33c). Übrig bleibt die leere Eihülle  $E_{2\text{i}}$ , aus welcher der Acanthor von *P. ambiguus* ausgeschlüpft ist (siehe Abbildung 34).

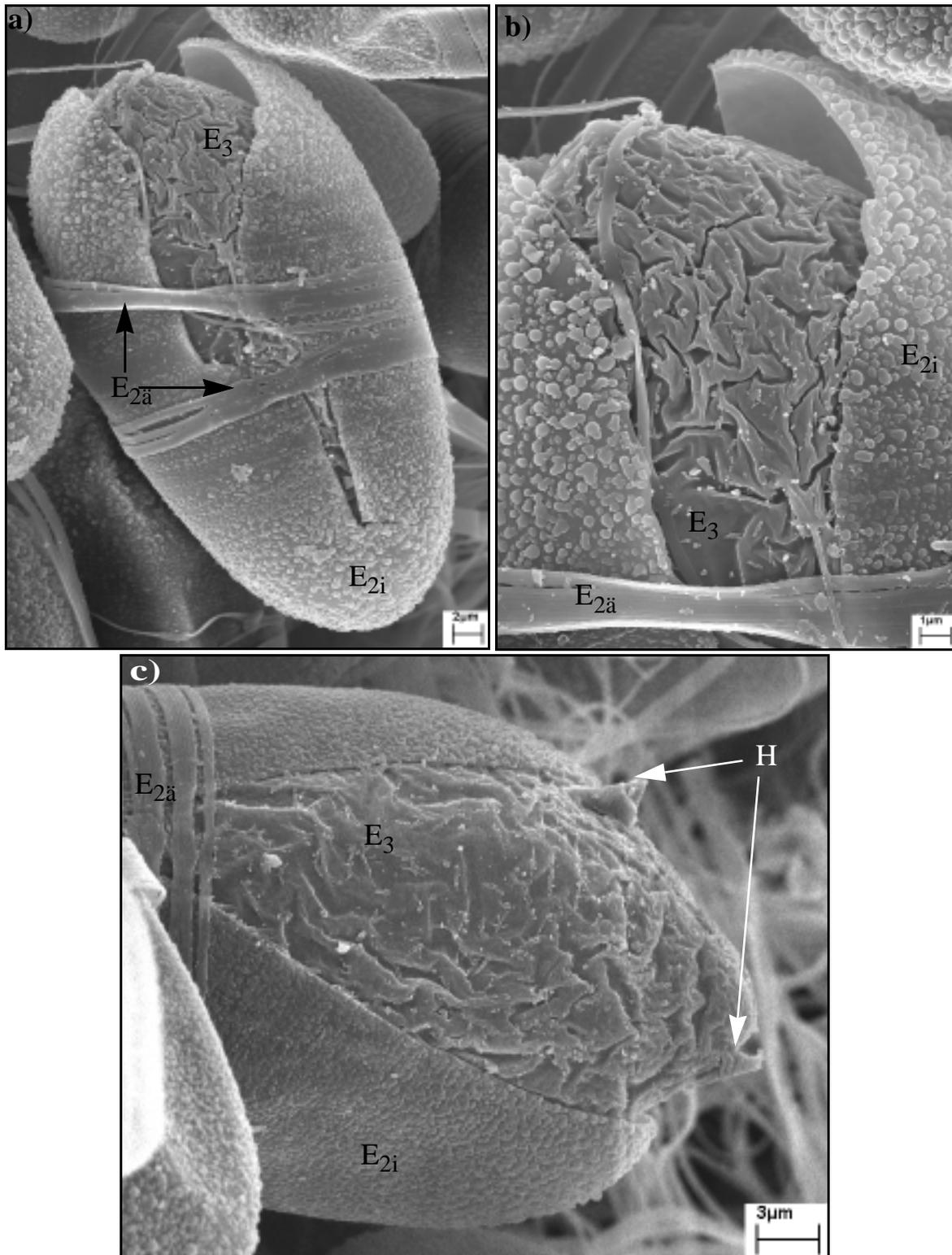
Die innerste Eihülle  $E_4$  von *P. ambiguus* konnte leider nicht mit Detailvergrößerungen dokumentiert werden.



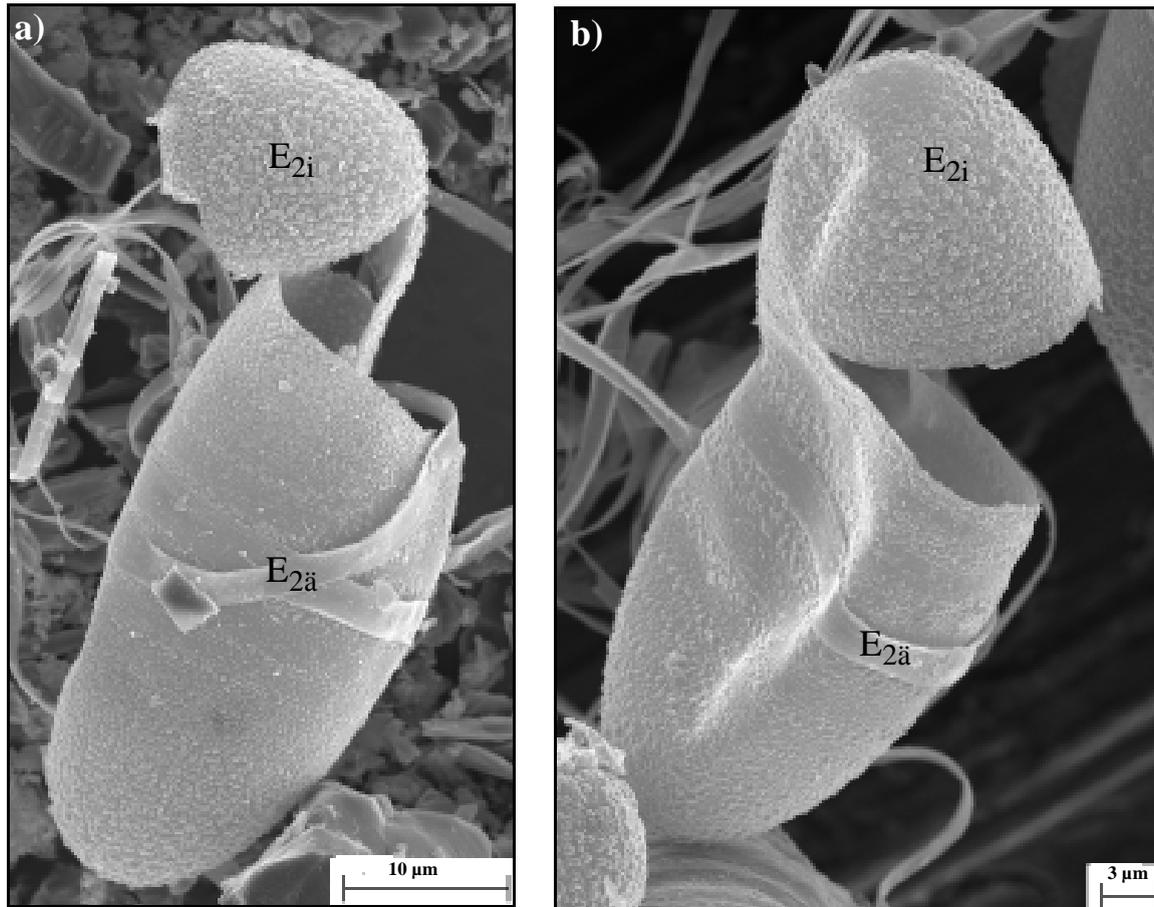
**Abbildung 31** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf die Eihülle von reifen Eiern des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*. **a)** Blick von außen auf ein infektiöses Ei, das noch vollkommen von der Eihülle  $E_1$  umschlossen wird. **b)** Die Eihülle  $E_2$  ist ungequollen und schnurartig um das restliche Ei herumgeschlungen. **c)** Zahlreiche infektiöse Eier, die sich mit Fäden der gequollenen, abgelösten Eihülle  $E_2$  an Siliciumoxidstücken verankert haben. **d)** Detailaufnahme von verankerten Eiern. **e)** Detailaufnahme der aufgelagerten Eihülle  $E_2$ , die noch nicht aufgequollen ist.  $E_1$ : äußerste Eihülle,  $E_{2ä}$ : äußerer Teil der zweitäußersten Eihülle,  $E_{2i}$ : innerer Teil der zweitäußersten Eihülle



**Abbildung 32** Detailaufnahme von reifen Eiern von *P. ambiguus*, die im Begriff sind sich mit abgelösten Fäden der Eihülle  $E_2$  an anderen Objekten zu verankern. **a)** Die Eihülle  $E_2$  fängt gerade an sich von der Eihülle  $E_3$  abzulösen. **b)** Die Eihülle  $E_2$  hat sich fast vollständig von  $E_3$  abgelöst. **c)** Detailaufnahme des inneren Teiles  $E_{2i}$  von der zweitäußeren Eihülle  $E_2$ .  $E_{2ä}$ : äußerer Teil der zweitäußeren Eihülle,  $E_{2i}$ : innerer Teil der zweitäußeren Eihülle

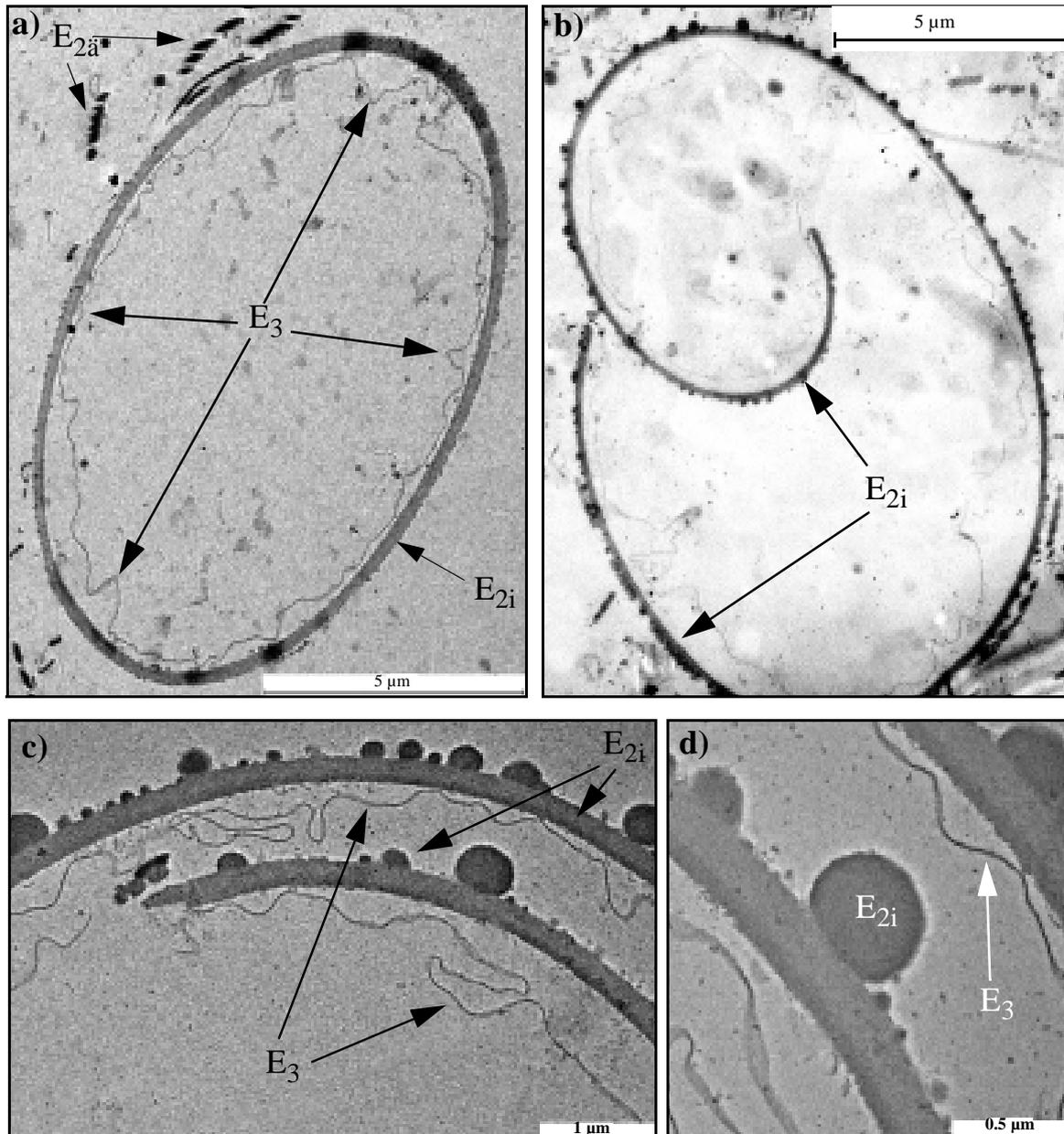


**Abbildung 33** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von der Eihülle des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* während der Schlüpfprozesse des Acanthors. **a)** Die Eihülle  $E_{2i}$  ist durch die Einwirkung der Mundwerkzeuge von *G. tigrinus* aufgebrochen. **b)** Blick auf die Eihülle  $E_3$ . **c)** Der Acanthor durchbricht die Eihülle  $E_3$  mit seinen apikalen Haken.  $E_{2i}$ : äußerer Teil der zweitäußersten Eihülle,  $E_{2i}$ : innerer Teil der zweitäußersten Eihülle.  $E_3$ : drittäußerste Eihülle



**Abbildung 34** Blick auf die Eihülle  $E_2$  von zwei verschiedenen Eiern, aus denen der Acanthor von *P. ambiguus* bereits ausgeschlüpft ist. **a)** Die Eihülle  $E_{2i}$  ist durch die Einwirkung der Mundwerkzeuge von *G. tigrinus* aufgrund ihrer Sprödigkeit aufgebrochen. **b)** Quer aufgebrochene Eihülle  $E_{2i}$ .  $E_{2ä}$ : äußerer Teil der zweitäußersten Eihülle,  $E_{2i}$ : innerer Teil der zweitäußersten Eihülle

Vereinzelt konnten in den Därmen des Amphipoden *G. tigrinus*, der *in-vitro* mit *P. ambiguus* infiziert wurde, Eihüllenbruchstücke von dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* gefunden werden. Bei den Bruchstücken handelte es sich um die Bruchstücke von zwei verschiedenen Eihüllen: den inneren Teil der Eihülle  $E_{2i}$  und die Eihülle  $E_3$  (siehe Abbildung 35). Deutlich ist der große Unterschied im Aufbau der massiven Eihülle  $E_{2i}$  und der dünnen Eihülle  $E_3$  zu erkennen. Nach wie vor hat die Oberfläche der Eihülle  $E_{2i}$  zahlreiche halbkugelähnliche “Noppen” ausgebildet. Aufgrund der Festigkeit der Eihülle  $E_{2i}$  behält diese ihre ursprüngliche Form auch dann noch annähernd bei, wenn der Acanthor bereits ausgeschlüpft ist (siehe Abbildung 35a-b). Es ist deutlich zu erkennen, dass die Eihülle  $E_3$  im Gegensatz zur Eihülle  $E_{2i}$  dem inaktiven Acanthoren keinerlei Schutz vor mechanischen Beschädigungen bietet.



**Abbildung 35** Transmissionselektronenmikroskopischer Blick auf Eihüllenbruchstücke des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* im Darm von *G. tigrinus*. **a)** Querschnitt durch die leeren Eihüllen  $E_{2i}$  und  $E_3$ . **b)** Aufgrund ihrer Sprödigkeit springt die Eihülle  $E_{2i}$ , wenn die Zwischenwirte mit ihren Mundwerkzeugen auf sie einwirken. **c)** Detailaufnahme der beiden Eihüllen  $E_{2i}$  und  $E_3$ . **d)** Detailaufnahme eines einzelnen kugelförmigen Auswuchses der Eihülle  $E_{2i}$ .  $E_{2ä}$ : äußerer Teil der zweitäußersten Eihülle,  $E_{2i}$ : innerer Teil der zweitäußersten Eihülle.  $E_3$ : drittäußerste Eihülle

### 3.4 Die Eihülle der Palaeacanthocephala

Im Gegensatz zu den Archi- und Eoacanthocephalenarten sind die infektiösen Eier der Palaeacanthocephalen häufig von spindelförmiger Gestalt (siehe Abbildung 36, 37, 40). Da die Eier der Palaeacanthocephalen im Gewässer deutlich geringeren mechanischen Belastungen ausgesetzt sind als die Eier der terrestrischen Archiacanthocephalen, besitzen die Eier dieser aquatischen Acanthocephalenarten eine weniger massive Eihülle als *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus*.

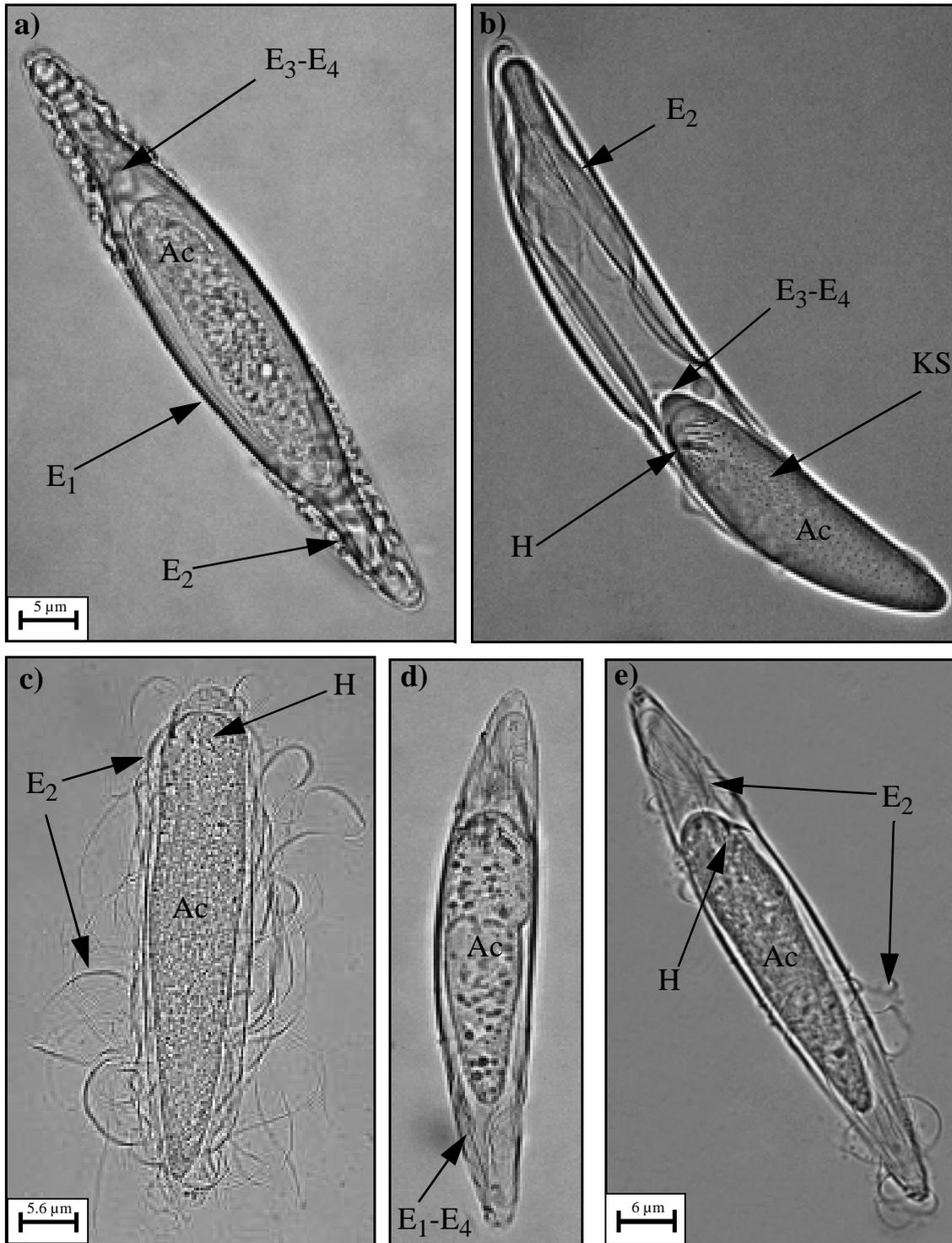
Bei der Eihülle  $E_1$  der untersuchten Palaeacanthocephalenarten *A. ranae*, *A. lucii*, *E. gadi*, *P. laevis* und *P. botulus* handelt es sich ebenfalls um eine dünne, strukturlose Membran, die sich rasch ablöst, sobald die infektiösen Eier ins Wasser gelangten (siehe Abbildung 36, 37, 38a-e, 39a, 40b-d). Die Eihülle  $E_1$ , deren Oberfläche stets vollkommen eben verläuft, ist bei *E. gadi* 90 nm dick und bei *P. laevis* 70 nm (siehe Abbildung 37, 40).

Die Eihülle  $E_1$  gibt dadurch die Eihülle  $E_2$  frei. Wie die infektiösen Eier des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*, besitzt die Eihülle  $E_2$  der Palaeacanthocephalen keinen "Schlüpfpunkt", so dass sich der Acanthor bei diesen Acanthocephalenarten aus vollkommen geschlossenen Eihüllen befreien muss (siehe Abbildung 37d, 38f, 39a).

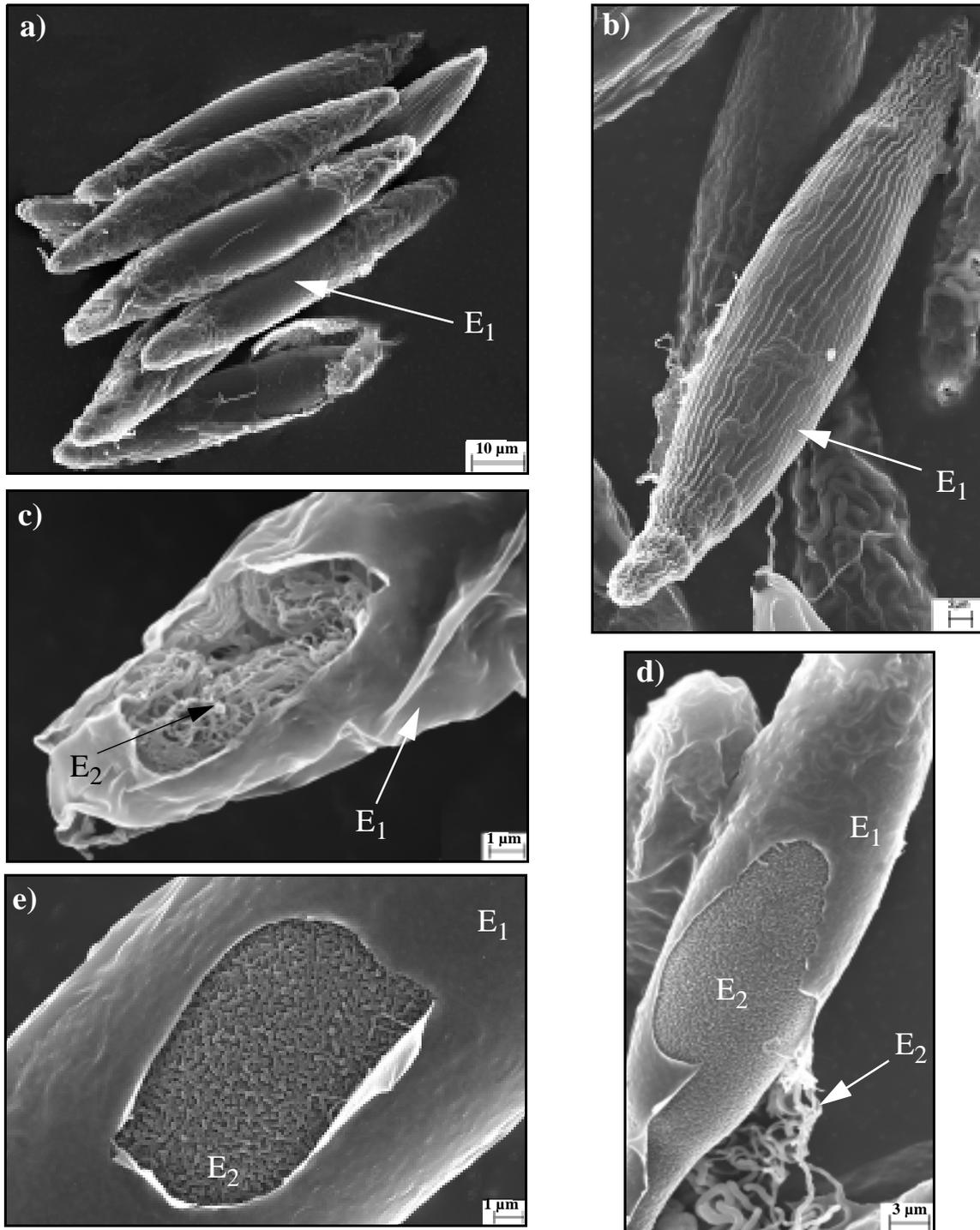
Diese zweitäußerste Eihülle  $E_2$  der Palaeacanthocephalen ist bei allen untersuchten Parasitenarten zweigeteilt. Der äußere Teil der Eihülle  $E_2$  besteht stets aus langen, dünnen Fäden ("Fibrillen"), die bei den einzelnen Acanthocephalenarten nach einem unterschiedlichen Wicklungsschema um den inneren Teil der Eihülle  $E_2$  herumgeschlungen sind (siehe Abbildung 36c, 36e, 37c, 38a-b, 39a). Während die "Fibrillen" bei manchen Acanthocephalenarten regelmäßig um die restliche Eihülle aufgewickelt sind (siehe Abbildung 38a-e, 39a), weisen sie bei anderen Acanthocephalenarten ein unregelmäßiges Wicklungsschema auf (siehe Abbildung 37c, 40a-d). Die "Fibrillen" können entweder um das gesamte Ei herumgeschlungen werden (siehe Abbildung 38a, 38e, 39a) oder auch nur an den beiden Eispitzen vorhanden sein (siehe Abbildung 36a, 36e, 37c-d).

Bei allen Palaeacanthocephalenarten dienen diese "Fibrillen" der Verankerung der Eier an Nahrungspartikeln der Zwischenwirte und lösen sich deshalb im Freien größtenteils rasch von der übrigen Eihülle ab (siehe Abbildung 36c, 36e, 37d, 38c, 39f). Teilweise sind einzelne "Fibrillen" an ihrem Ende verstärkt, um eine primäre Ankerfunktion ausüben zu können (siehe Abbildung 39b). Durch die auf diesen einzelnen verankerten Eihüllenfäden einwirkenden Kräfte wird im Lauf der Zeit auch die restliche Umwicklung von der übrigen Eihülle abgelöst, so dass sich die Acanthocephaleneier mit mehr Eihüllenfäden gleichzeitig an Nahrungspartikeln der Zwischenwirte verankern können. Die Eier erlangen somit einen deutlich besseren Halt an den Nahrungspartikeln.

Die Eihüllenfäden von  $E_2$  besitzen bei *P. laevis* einen Durchmesser von 450-750 nm, bei *P. botulus* einen Durchmesser von 330-500 nm, bei *E. gadi* einen Durchmesser von circa 100 nm und bei *A. ranae* einen Durchmesser von 460-680 nm.

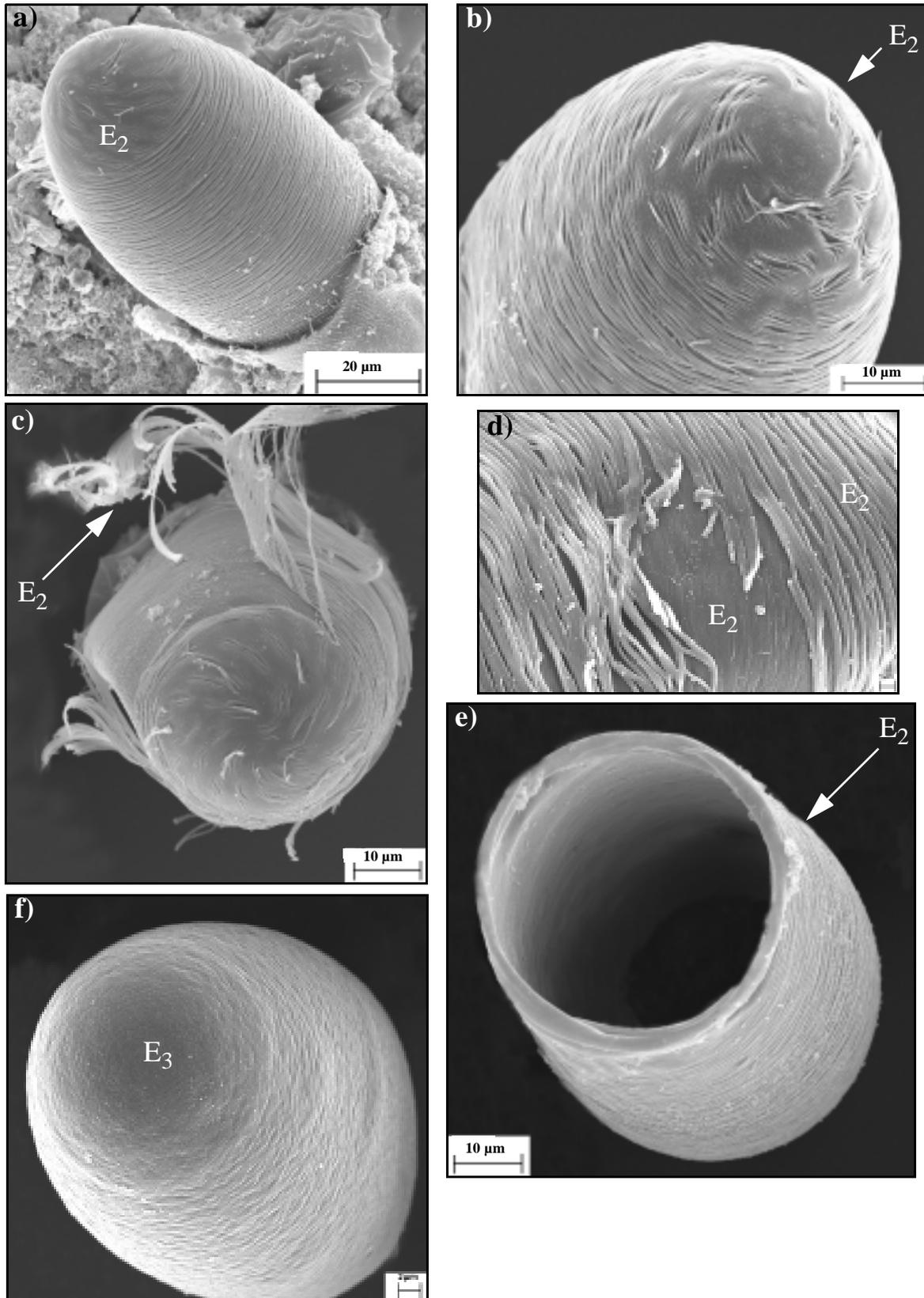


**Abbildung 36** Lichtmikroskopische Aufnahmen des Palaeacanthocephalen *P. laevis*, *A. ranae* und *A. lucii*. **a)** Infektiöses Ei des Palaeacanthocephalen *P. laevis*. **b)** Der Acanthor von *P. laevis*, der noch von den Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> umgeben ist, ist zur Hälfte aus der zerstörten Eihülle E<sub>2</sub> herausgerutscht. **c)** Infektiöses Ei von *A. ranae*. **d)** Infektiöses Ei von *A. lucii*, dessen vier Eihüllen E<sub>1</sub>-E<sub>4</sub> noch vorhanden sind. **e)** Die Eihülle E<sub>1</sub> hat sich bereits vom Ei des Acanthocephalen *A. lucii* abgelöst. Ac: Acanthor, E<sub>1</sub>: äußerste Eihülle, E<sub>2</sub>: zweitäußerste Eihülle, E<sub>3</sub>: drittäußerste Eihülle, E<sub>4</sub>: innerste Eihülle, H: Haken, KS: Körperstachel



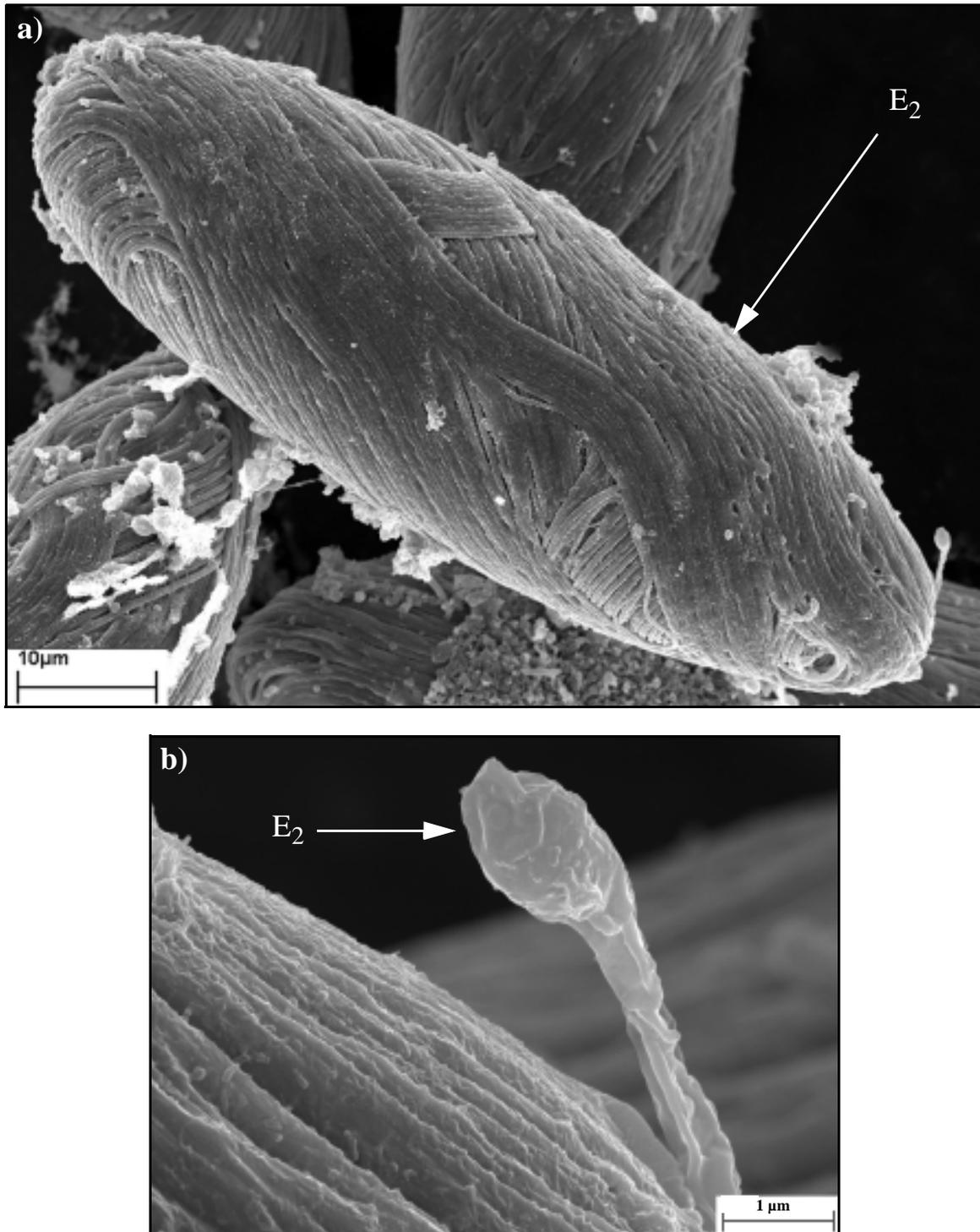
**Abbildung 37** Die Ultrastruktur der Eihülle des Palaecanthocephalen *P. laevis*.

**a)** Die äußerste Eihülle  $E_1$ . **b)** Blick auf die äußerste Eihülle  $E_1$ . **c)** Blick auf eine Eispitze, deren äußerste Eihülle  $E_1$  aufgerissen ist. **d)** Die aufgerissene Eihülle  $E_1$  gibt den Blick auf die darunterliegende Eihülle  $E_2$  frei. **e)** Detailaufnahme der Eihülle  $E_2$ .  $E_1$ : äußerste Eihülle,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle

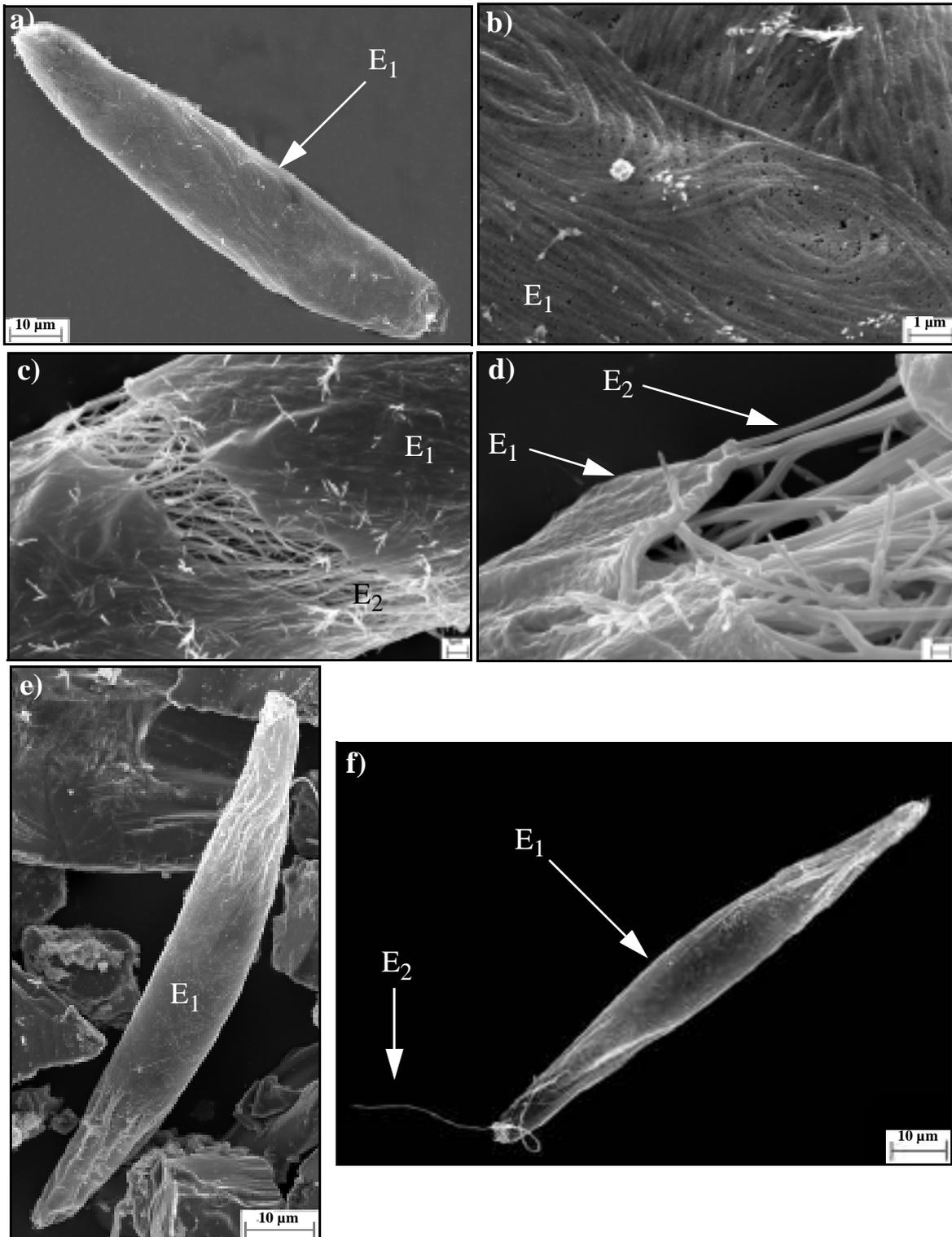


**Abbildung 38** Die Eihülle des Palaeacanthocephalen *P. botulus*.

**a)** Die Eihülle  $E_3$  von *P. botulus*. **b)** Die Eihülle  $E_2$  besitzt ein fädiges Erscheinungsbild. **c)** Äußere Teile der Eihülle  $E_2$  lösen sich vom übrigen Ei ab. **d)** Detailaufnahme der Eihülle  $E_2$ . **e)** Blick ins Innere der leeren Eihülle  $E_2$ . **f)** Die Eihülle  $E_3$ .  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle



**Abbildung 39** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf die Eihülle des amphibischen Palaeacanthocephalen *A. ranae*. **a)** Die Eihülle E<sub>2</sub> des Acanthocephalen *A. ranae*. **b)** Detailaufnahme der Eihülle E<sub>2</sub> von *A. ranae*. E<sub>2</sub>: zweitäußerste Eihülle



**Abbildung 40** Die Eihülle des Acanthors von *E. gadi* und *A. anguillae*.

**a)** Infektiöses Ei von *E. gadi*. **b)** Detailaufnahme der Eihülle  $E_1$  von *E. gadi*. **c)** Die Eihülle  $E_1$  ist aufgerissen. **d)** Detaillierter Blick auf die aufgerissene Eihülle  $E_1$ . **e)** Infektiöses Ei von *A. anguillae*. **f)** Einzelner Faden von  $E_2$ , der unter der Eihülle  $E_1$  hervorkommt.  $E_1$ : äußerste Eihülle,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle

Der innere Teil der Eihülle  $E_2$  ist vollkommen geschlossen und dient dem mechanischen Schutz der inaktiven Acanthoren (siehe Abbildung 37d, 38d). Bei dem Palaeacanthocephalen *P. botulus* besitzt dieser innere Teil der Eihülle, wie bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus*, sowohl auf der Innenseite als auch auf der Außenseite eine strukturlose, ebene Oberflächenbeschaffenheit (siehe Abbildung 38d-e). Während des Schlüpfprozesses fügt der Acanthor von *P. botulus* dieser Eihülle  $E_2$  vermutlich mit seinen apikalen Haken eine kreisrunde Öffnung zu, durch die er in das Darmlumen seines Wirtstieres entweicht (siehe Abbildung 38e).

Einzig von *P. botulus* konnte die Eihülle  $E_3$ , die einen stabilen Eindruck macht, rasterelektronenmikroskopisch dokumentiert werden (siehe Abbildung 38f). Die innerste Eihülle  $E_4$  konnte leider bei keiner untersuchten Palaeacanthocephalenart mit Hilfe von REM aufgespürt werden.

### 3.5 Die Überlebensfähigkeit der Acanthoren im reifen Ei

Zur Untersuchung der Überlebensfähigkeit von Acanthoren im Acanthocephalenei wurden infektiöse Acanthocephaleneier der beiden Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* sowie des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* bei unterschiedlichen Temperaturen (8 °C bzw. 18 °C) in physiologischer Lösung gelagert.

Die Acanthoren aller drei untersuchten Acanthocephalenarten überlebten unter den gegebenen Bedingungen über viele Monate in den Acanthocephaleneiern. Sie konnten stets auch noch nach Ablauf des Testzeitraumes erfolgreich aktiviert und somit zum Schlüpfen stimuliert werden. Bei keiner Parasitenart konnte ein Absinken der Schlüpf-rate erkannt werden.

Die inaktiven Acanthoren der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* konnten, wenn die physiologische Lösung wöchentlich vollständig ausgetauscht wurde, bei 8 °C noch nach 24 Monaten und die inaktiven Acanthoren des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* nach 8 Monaten erfolgreich zum Schlüpfen stimuliert werden (siehe Tabelle 1). Über die maximale Überlebensdauer der entsprechenden Acanthoren kann keine Aussage getroffen werden, da die infektiösen Eier der untersuchten Acanthocephalenarten nicht in unbegrenzten Mengen zur Verfügung standen. Deshalb mussten die Experimente zur Überlebensfähigkeit der Acanthoren bei 8 °C nach Ablauf von 8 bzw. 24 Monaten abgebrochen werden. Die bei 18 °C gelagerten Acanthocephaleneier waren bereits nach vier bzw. sechs Monaten aufgebraucht. Diese vier bzw. sechs Monate überlebten die Acanthoren von *P. ambiguus* und *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* bei 18 °C problemlos.

Ein Einfluss der Temperatur auf die Überlebensdauer der Acanthoren konnte nicht festgestellt werden. Die Acanthoren aller drei untersuchten Acanthocephalenarten zeigten unabhängig voneinander sowohl bei 8 °C als auch bei 18 °C jeweils ein übereinstimmendes Schlüpfverhalten.

**Tabelle 1:** Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit von inaktiven Acanthoren verschiedener Acanthocephalenarten im infektiösen Acanthocephalenei.

Verwendete Acanthocephalenart	Die Überlebensdauer von inaktiven Acanthoren, die in physiologischer Lösung gelagert sind,	
	beträgt bei 8 °C ... Monate	beträgt bei 18 °C ... Monate
<i>M. moniliformis</i>	> 24	> 6
<i>M. hirudinaceus</i>	> 24	> 6
<i>P. ambiguus</i>	> 8	> 4

### 3.6 Die Stimulation der Acanthoren zum Schlüpfen

Die Acanthoren sind bei ihrer Aktivierung noch von den Eihüllen E<sub>2</sub>-E<sub>4</sub> umgeben. Die Aktivierung der Acanthoren findet in der Regel kurz nachdem die reifen Acanthocephaleneier von geeigneten Zwischenwirten gefressen wurden, statt.

In aufwendigen Versuchsreihen konnten die Acanthoren von drei verschiedenen Acanthocephalenarten, darunter sowohl Archi- als auch Eoacanthocephalenarten, *in-vitro* zum Schlüpfen stimuliert werden. Im Gegensatz dazu konnten die Acanthoren anderer zur Verfügung stehender Eo- bzw. Palaeacanthocephalenarten (*A. lucii*, *A. anguillae*, *A. ranae*, *Echinorhynchus gadi*, *P. laevis*, *P. botulus*) trotz umfangreicher Versuche nicht zum Schlüpfen bewegt werden.

Diese Untersuchungen zur Schlüpfstimulation der Acanthoren zeigen, dass die Larven der Acanthocephalen sehr spezielle "Schlüpf-Stimuli" zu ihrer Aktivierung benötigen. Die aus der Literatur bekannte Methode von EDMONDS (1966) zur Stimulation von Acanthoren von *M. moniliformis* zum Schlüpfen erzielte bei alleiniger Anwendung bei keiner einzigen untersuchten Parasitenart den gewünschten Erfolg. Verschiedenartigste Versuche die Milieubedingungen des Magen-Darm-Trakts von geeigneten Zwischenwirten zu imitieren und Acanthoren zum Schlüpfen zu aktivieren, hatten keinerlei Erfolg (siehe Tabelle 2). Selbst Versuche die Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* durch Trocknen und anschließendes Wiederbefeuchten der reifen Eier zum Schlüpfen zu stimulieren schlugen fehl.

Die Methode von EDMONDS (1966) wurde in verschiedenen Testreihen stark variiert und modifiziert, bevor Acanthoren zum Schlüpfen stimuliert werden konnten. Erst die mechanische Bearbeitung der infektiösen Acanthocephaleneier, die die Einwirkung der Mundwerkzeuge der entsprechenden Zwischenwirte auf die Eihülle imitiert, in Kombination mit der "Schlüpfmethode nach EDMONDS (1966)" führte bei den Acanthocephalenarten *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* zu einer Aktivierung der

noch von Eihüllen umgebenen Acanthoren (siehe Tabelle 2). Alle anderen Versuchsansätze konnten die Acanthoren nicht aktivieren, so dass unter deren Bedingungen kein einziger Acanthor zum Schlüpfen stimuliert werden konnte (siehe Tabelle 2).

20 Minuten, nachdem die Acanthoren einem geeigneten "Schlüpf-Stimulus" ausgesetzt waren, konnten bereits die ersten vollständig geschlüpfte Acanthoren von jeder der drei genannten Acanthocephalenarten gefunden werden (siehe Abbildung 41, 45, 46).

Die geschlüpfte Acanthoren bewegten sich frei im Medium der Probengefäße umher. Selbst sechs Stunden nach der Stimulation schlüpfte noch Acanthoren aller drei Parasitenarten aus. Dagegen konnte nach acht Stunden kein einziger Acanthor mehr beim Schlüpfen beobachtet werden, d.h., die Acanthoren der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* sowie des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* schlüpfen in der Regel zwischen 20 Minuten und sechs Stunden, nachdem die Acanthocephaleneier von einem geeigneten Zwischenwirt gefressen wurden.

**Tabelle 2:** Untersuchung zur Aktivierung von Acanthoren der beiden Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* und des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* durch spezielle "Schlüpf-Stimuli".

"Schlüpf-Stimulus"	Temperatur	Aktivierte Acanthoren konnten nach ... Stunden außerhalb der Eihüllen E <sub>1</sub> -E <sub>4</sub> beobachtet werden / aktivierte Acanthoren waren nach ... Stunden gerade dabei zu Schlüpfen							
		0.33	2	4	6	8	24	48	72
Methode nach EDMONDS (1966)	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
Mechanische Einwirkung mit Pistill bzw. Mörser	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
Mechanische Einwirkung + Methode nach EDMONDS (1966)	10 °C	-	+	+	+	-	-	-	-
	18 °C	+	+	+	+	-	-	-	-
	25 °C	+	+	+	+	-	-	-	-
	30 °C	+	+	+	+	-	-	-	-
Ultraschall + Methode nach EDMONDS (1966)	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
Verdauung mit Trypsin	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-

+: Aktivierte Acanthoren außerhalb oder innerhalb der Eihüllen E<sub>1</sub>-E<sub>4</sub> konnten beobachtet werden.  
-: Unter den genannten Bedingungen konnten keine aktivierten Acanthoren detektiert werden.

**Tabelle 2:** Untersuchung zur Aktivierung von Acanthoren der beiden Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* und des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* durch spezielle “Schlüpf-Stimuli”.

“Schlüpf-Stimulus”	Temperatur	Aktivierte Acanthoren konnten nach ... Stunden außerhalb der Eihüllen E <sub>1</sub> -E <sub>4</sub> beobachtet werden / aktivierte Acanthoren waren nach ... Stunden gerade dabei zu Schlüpfen							
		0.33	2	4	6	8	24	48	72
Verdauung mit Trypsin + Methode nach EDMONDS (1966)	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
Trocknender Eier + Wiederbefeuchten + Methode nach EDMONDS (1966)	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
Lagerung in Aqua.Dest. bzw. Leitungswasser bzw. Teichwasser	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
Lagerung in Aqua.Dest. bzw. Leitungswasser bzw. Teichwasser + Methode nach EDMONDS (1966)	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
Lagerung in einer Lösung aus zerkleinerten Eingeweiden von <i>P. americana</i> bzw. verschiedenen Gammaridenarten	10 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	18 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	25 °C	-	-	-	-	-	-	-	-
	30 °C	-	-	-	-	-	-	-	-

+: Aktivierte Acanthoren außerhalb oder innerhalb der Eihüllen E<sub>1</sub>-E<sub>4</sub> konnten beobachtet werden.  
-: Unter den genannten Bedingungen konnten keine aktivierten Acanthoren detektiert werden.

Während der gesamten Untersuchung konnten Acanthoren einzig durch die Kombination einer äußeren, mechanischen Einwirkung auf die infektiösen Acanthocephaleneier mit einer sich daran anschließenden chemischen Stimulation (EDMONDS, 1966) zum Schlüpfen veranlasst werden. Das Vorhandensein von Licht hatte dabei keinen Einfluss auf das Schlüpfverhalten der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* oder *P. ambiguus*. Die Acanthoren dieser Acanthocephalenarten zeigten im Hellen wie im Dunkeln ein identisches Schlüpfverhalten.

Auch die Temperatur hatte bei der angewendeten “Schlüpfstimulationsmethode” keinen gravierenden Einfluss auf die Schlüpfgeschwindigkeit der Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* sowie des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*. Sowohl

bei 18 °C, als auch bei 25 °C oder 30 °C waren die ersten Acanthoren bereits nach 20 Minuten geschlüpft (siehe Tabelle 2). Einzig bei 10 °C dauerte der Schlüpfprozess etwas länger. Bei einer Temperatur von 10 °C konnten erst nach zwei Stunden geschlüpfte Acanthoren entdeckt werden.

Die Daten zum Einfluss des pH-Wertes (siehe Tabelle 3) auf die Schlüpftrate der Acanthoren der unterschiedlichen Acanthocephalen sind statistisch nicht abgesichert, sondern beruhen auf dem Auszählen der Schlüpftrate von mehreren Einzelproben jeder Acanthocephalenart. Bei diesen Proben wurde eine klare Tendenz bezüglich der Schlüpftrate der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* erkennbar, die eindeutig auf eine Abhängigkeit der Schlüpftrate vom herrschenden pH-Wert hindeutet (siehe Abbildung 48b). So waren bei pH-Wert 9 sechs Stunden nach der Schlüpfstimulation (mechanische Einwirkung + chemische Stimulation nach EDMONDS, 1966) circa 38 Prozent der Acanthoren der untersuchten Parasitenarten geschlüpft, während bei pH-Wert 3 nur fünf Prozent der Parasitenlarven ausschlüpften.

**Tabelle 3:** Einfluss des pH-Wertes auf die Schlüpftrate der Acanthoren.

	Anzahl der geschlüpften Acanthoren sechs Stunden nach deren Aktivierung		
	pH 3	pH 7.5	pH 9
<i>M. moniliformis</i> (n = 5 x 40 Eier)	2	7	16
<i>M. hirudinaceus</i> (n = 5 x 40 Eier)	2	6	15
<i>P. ambiguus</i> (n = 5 x 40 Eier)	2	9	16

### 3.7 Die Eigenbewegung der Acanthoren

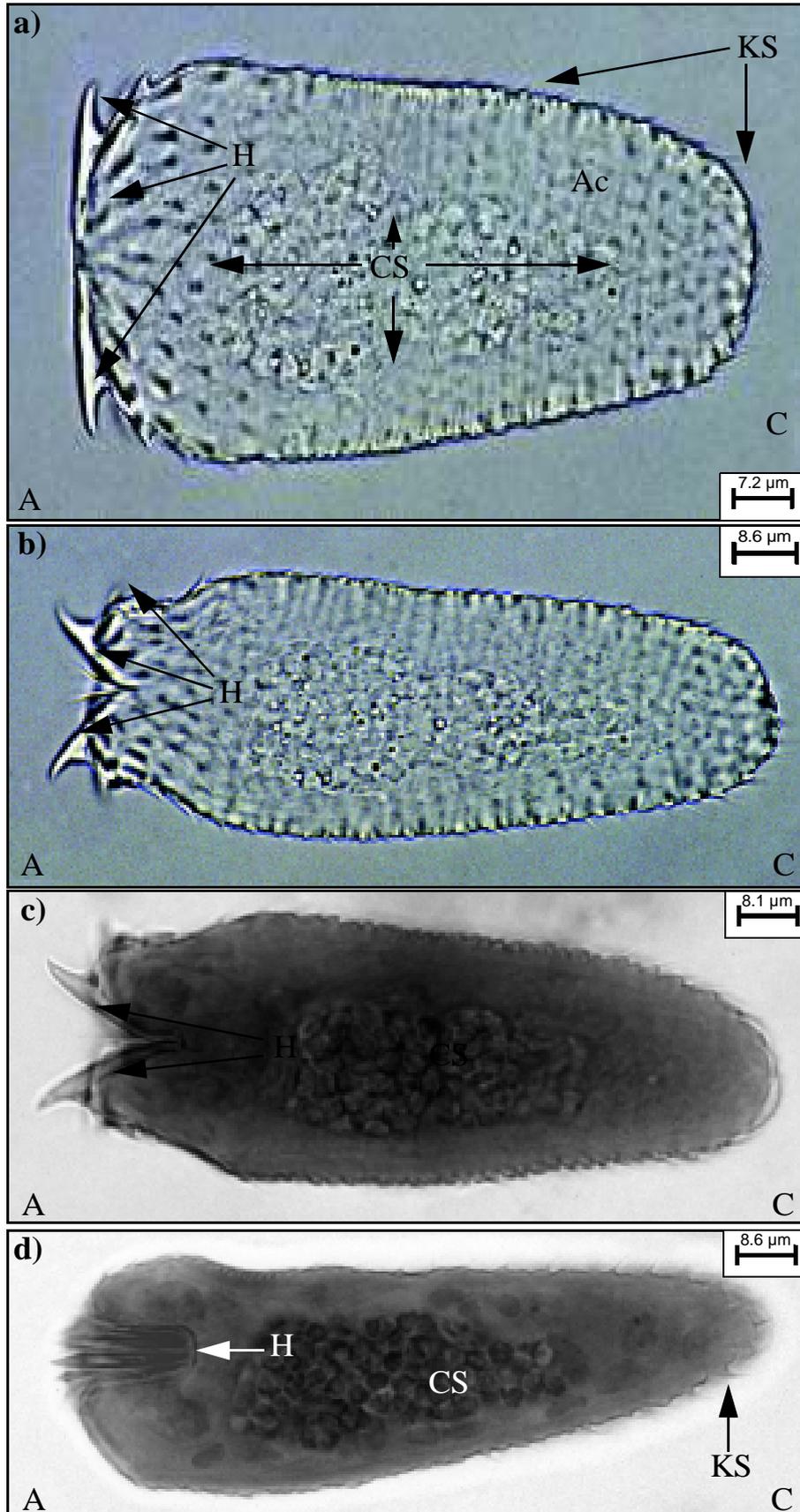
Das Bewegungsverhalten sowohl von bereits geschlüpften als auch von schlüpfenden Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* wurde am Lichtmikroskop ausgewertet. Dabei wurde visuell beobachtet, dass der Acanthor das einzige Stadium im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen ist, das sich nach seiner Aktivierung kontinuierlich in einer Eigenbewegung (Schlüpfen - Aufspüren der Darmwand - Penetration der Darmwand) befindet. Andere Stadien im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen sind entweder gar nicht zur Bewegung fähig oder bewegen sich nur spärlich.

Sowohl die aktivierten Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* als auch die aktivierten Acanthoren des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* beginnen noch im Acanthocephalenei mit der Ausführung von stereotypen Bewegungszyklen. Die Bewegung des Acanthors umfasst dabei Kontraktionen des

gesamten Körpers als auch eine aktive Bewegung der großen apikalen Körperhaken sowie der kleineren caudalen Körperstacheln (siehe Abbildung 40, 41, 42, 43). Die massiven Haken am apikalen Pol des Acanthors können einerseits vollständig in das Vorderende des Acanthors invaginiert, andererseits aber auch vollständig evaginiert werden (siehe Abbildung 40a, 40d, 41b, 42c, 43b, 43d). Im Gegensatz zu den apikalen Haken werden die kleineren Körperstacheln nicht invaginiert bzw. evaginiert, sondern im Zusammenspiel mit den Körperkontraktionen bzw. dem Einstülpen oder Ausstülpen der spitzen Haken eng an den Körper des Acanthors angelegt oder weit abgespreizt (siehe Abbildung 40d, 42d, 43c).

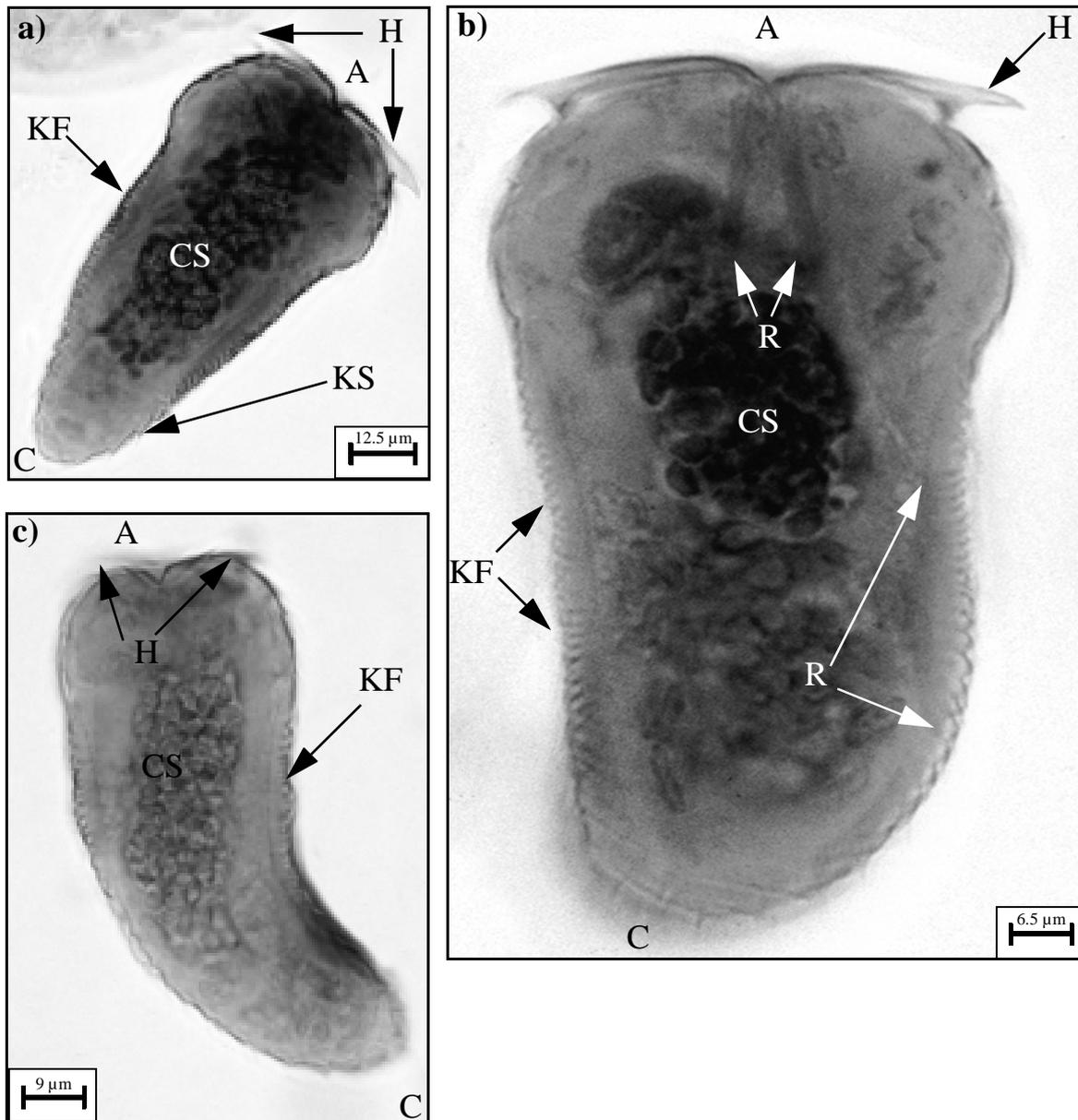
Durch dieses Ein- bzw. Ausstülpen der apikalen Haken vollführt der Acanthor mit den spitzen Haken effektive Schneide- bzw. Sägebewegungen, die während seiner gesamten Existenz für den Acanthor von größter Bedeutung sind. Der Acanthor befreit sich durch diese Bewegungen der apikalen Haken zunächst aus den beiden inneren Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  und arbeitet sich später in die Leibeshöhle seines Wirtstieres vor (siehe Abbildung 44). Gleichzeitig zu den Hakenbewegungen führt der Acanthor Bewegungen mit den caudalwärts gelegenen Körperstacheln und seinem gesamten Hinterleib aus, die mit den Bewegungen des apikalen Acanthorpols antagonistisch interagieren. Während die beiden Retraktormuskeln für die Bewegung der apikalen Haken verantwortlich sind (siehe Abbildung 41c), sind die subepithelialen Längsmuskelstränge sowohl für die Bewegung des hinteren Körperabschnittes des Acanthors als auch für das Abspreizen bzw. Anlegen der Körperstacheln verantwortlich. Kommt es zu einer Kontraktion der subepithelialen Muskulatur wird der gesamte Hinterleib des Acanthors in Falten gelegt (siehe Abbildung 40c, 41a, 43a-c). Außerdem führt eine Kontraktion der subepithelialen Muskulatur zum Abspreizen der zahlreichen Körperstacheln (siehe Abbildung 41a, c, 43d, 45c-d).

---

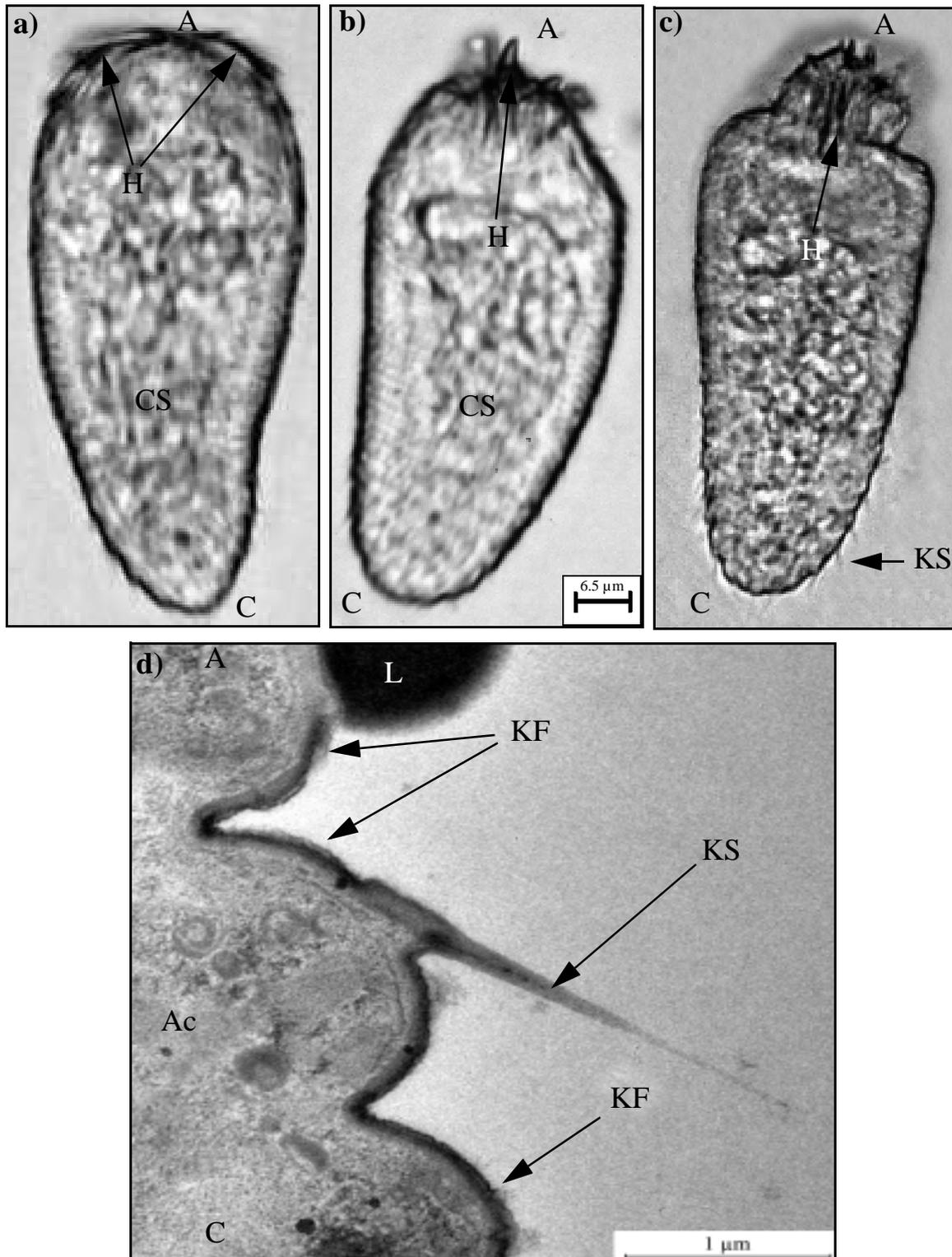


**Abbildung 41** Lichtmikroskopische Aufnahmen von der Bewegungsfähigkeit der apikalen Haken von *M. hirudinaceus*

**Legende zu Abbildung 41** a) Die Haken des Acanthors sind vollständig ausgestülpt, das Hinterende des Acanthors ist kontrahiert. b) Der Acanthor hat begonnen die apikalen Haken zu invaginieren, wobei er gleichzeitig seinen apikalen Durchmesser verringert. c) Der Acanthor hat die Haken bereits zum größten Teil invaginiert. d) Der Acanthor von *M. hirudinaceus* hat die apikalen Haken fast vollständig invaginiert. A: apikal, Ac: Acanthor, C: caudal, CS: zentrales Syncytium mit zentraler Kernmasse, H: apikale Haken des Acanthors, KS: Körperstacheln



**Abbildung 42** Lichtmikroskopische Aufnahmen geschlüpfter Acanthoren von *M. hirudinaceus*. a) Die Haken des Acanthors sind vollständig ausgestülpt. b) Die Oberfläche des kontrahierten Hinterleibes des Acanthors wirft zahlreiche Falten. c) Der caudale Acanthorpol ist nach beiden Seiten flexibel beweglich. A: apikal, C: caudal, CS: zentrales Syncytium mit zentraler Kernmasse, H: Haken, KF: Körperfalten, KS: Körperstachel, R: Retraktormuskel

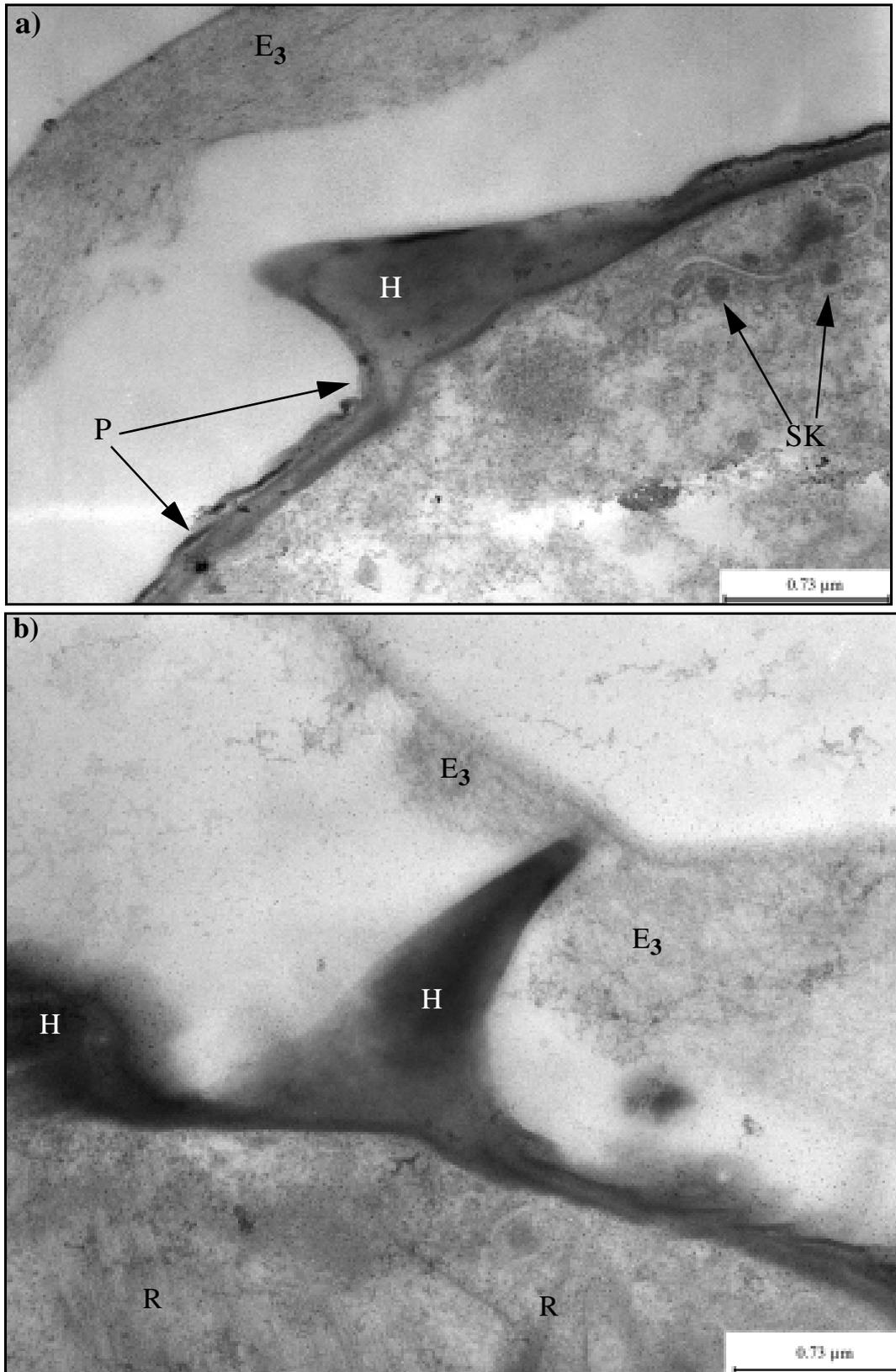


**Abbildung 43** Lichtmikroskopische Bewegungsstudie des Acanthors von *M. moniliformis*.

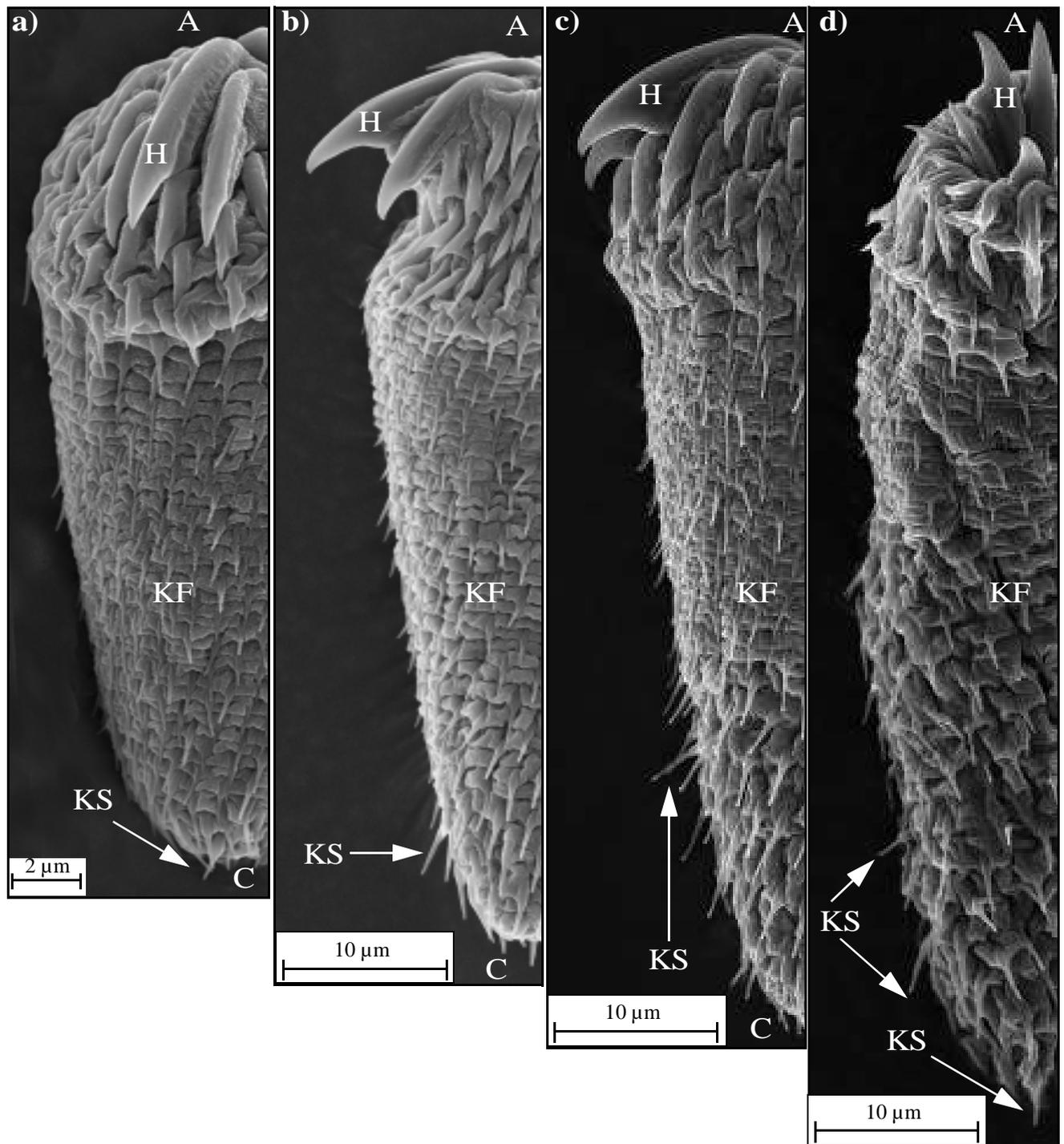
**a)** Jeder Bewegungszyklus beginnt mit einer rückwärtsgerichteten Bewegung des caudalen Pols.

**b)** Durch Kontraktion der Retraktormuskulatur verkürzt der Acanthor seine Körperlänge. **c)** Der Durchmesser des apikalen Acanthorpols ist verringert. **d)** Elektronenmikroskopische Detailaufnahme eines abgespreizten Körperstachels. A: apikal, Ac: Acanthor, C: caudal, H: apikaler Haken, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel, L: Lipid

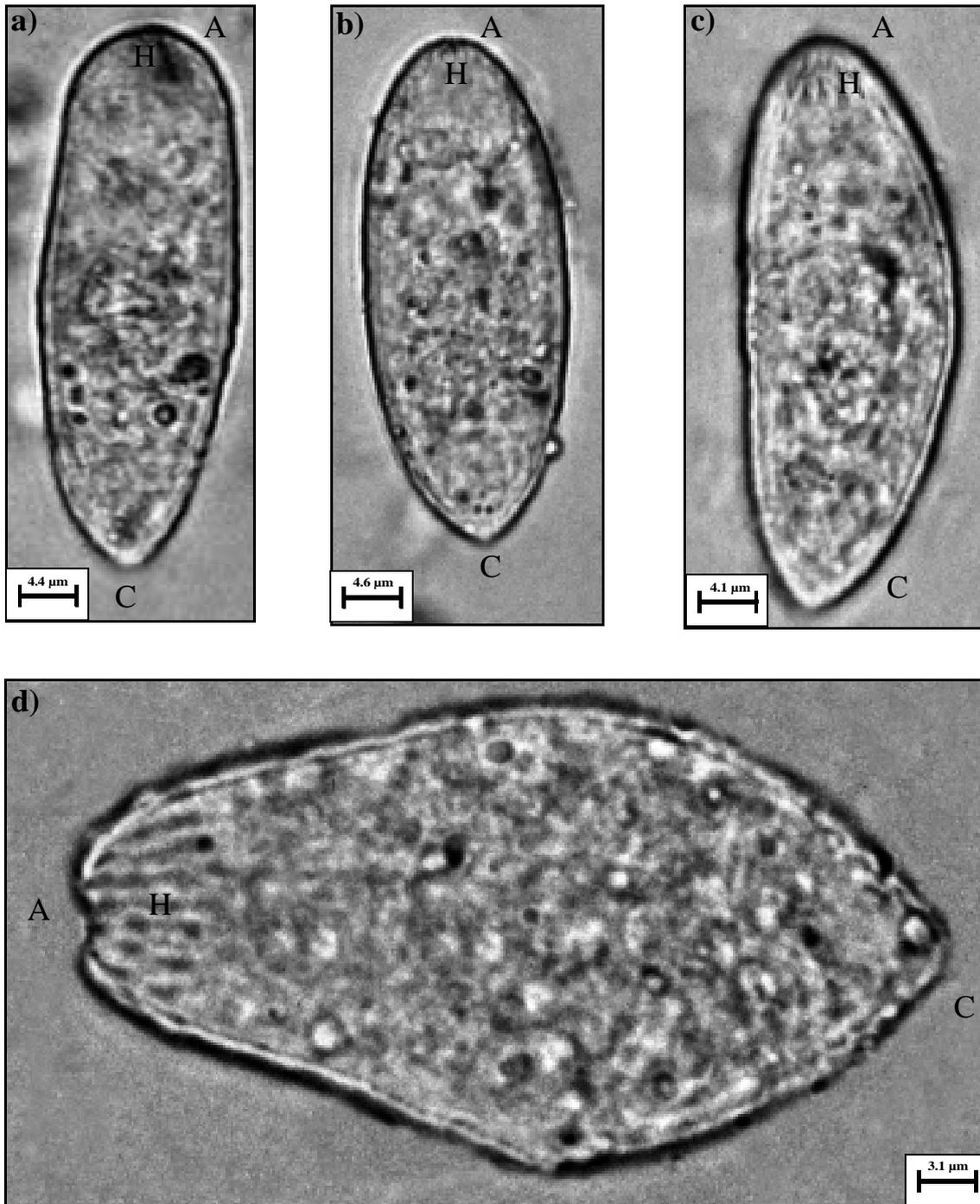
**KS:** Körperstachel, **L:** Lipid



**Abbildung 44** Der Acanthor von *M. moniliformis* zerstört mit seinen apikalen Haken die beiden innersten Eihüllen. **a)** Detailaufnahme eines einzelnen, apikalen Hakens. **b)** Haken, der dabei ist die Eihülle E<sub>3</sub> mechanisch zu beschädigen. E<sub>3</sub>: drittäußerste Eihülle, H: Haken, P: Plasmamembran, R: Retraktormuskulatur, SK: Sekretvesikel



**Abbildung 45** Rasterelektronenmikroskopische Bewegungsstudie des Acanthors von *M. moniliformis*.  
**a)** Der Acanthor, dessen Hinterleib stark kontrahiert ist, hat die apikalen Haken ausgestülpt und nach hinten umgeklappt. **b)** Die apikalen Haken sind abgespreizt, der Acanthor beginnt sich zu strecken.  
**c)** Der Acanthor beginnt die Haken zu invaginieren. **d)** Die apikalen Haken sind beinahe vollständig invaginiert, wobei der Hinterleib zu großen Teilen gestreckt ist. A: apikal, C: caudal, H: apikale Haken des Acanthors, KF: Körperfalten, KS: Körperstacheln



**Abbildung 46** Lichtmikroskopische Aufnahmen des geschlüpften Acanthors von *P. ambiguus*.  
**a)** Der Acanthor kann seine Gestalt aktiv verändern. **b)** Der Acanthor weist eine ovale Gestalt auf.  
**c)** Die subepitheliale Muskulatur auf der linken Seite des Acanthors ist kontrahiert.  
**d)** Aufgrund der Kontraktion der Retraktormuskeln ist der Hinterleib des Acanthors von *P. ambiguus* verdickt. A: apikal, C: caudal, H: apikale Haken des Acanthors

Durch das antagonistische Zusammenspiel der Retraktormuskulatur und der subepithelialen Muskulatur kommt es zu einer Veränderung der gesamten Körperform der geschlüpften Parasitenlarve (siehe Abbildung 41, 43, 45, 46).

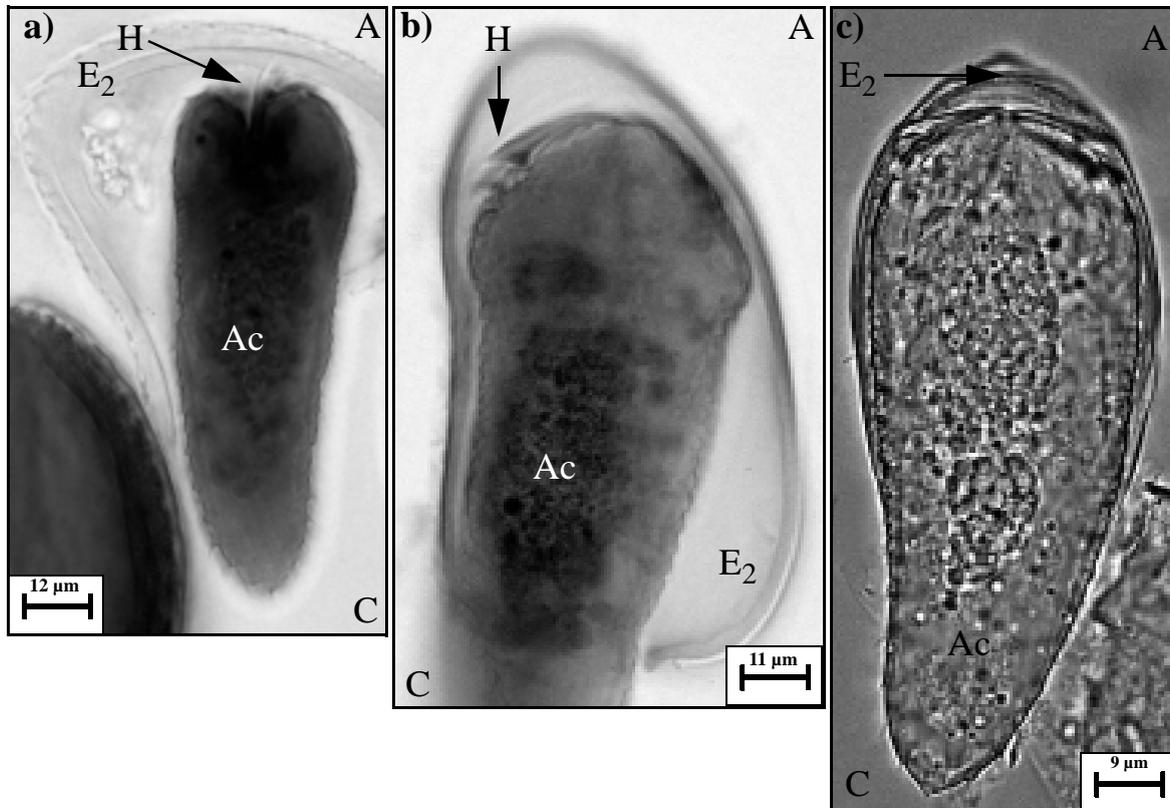
Da sich die stereotypen Bewegungszyklen der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* kaum unterscheiden, wird der Bewegungszyklus von *M. hirudinaceus* beispielhaft näher erläutert.

Der gesamte Bewegungszyklus von *M. hirudinaceus* dauert bei 20 °C ungefähr 9-12 Sekunden, d.h., der Acanthor führt durchschnittlich sechs Bewegungszyklen pro Minute durch. Jeder Zyklus beginnt durch Entspannung der subepithelialen Längsmuskulatur mit einer rückwärtsgerichteten Bewegung des caudalen Acanthorpols, wodurch die abgespreizten Körperstacheln tiefer in das Darmwandgewebe des entsprechenden Zwischenwirtes hineingepresst werden. Dadurch wandert auch das zentrale Syncytium im Acanthor nach hinten. Noch während sich das Hinterende des Acanthors ausstreckt, beginnt die Parasitenlarve durch Kontraktion der beiden zentral angeordneten Retraktormuskeln die spitzen Haken des apikalen Pols zu invaginieren (siehe Abbildung 42c, 43a). Circa eine Sekunde später sind die Retraktormuskeln vollständig kontrahiert und somit die apikalen Haken komplett in das Vorderende des Acanthors eingestülpt (siehe Abbildung 41d, 43c). Eine weitere Sekunde später beginnt der Acanthor die vorderen Haken wieder auszustülpen, d.h., es kommt zu einer Entspannung der Retraktormuskulatur. Dies führt dazu, dass das zentrale Syncytium des Acanthors, das die zentrale Kernmasse enthält, im Acanthor nach vorne rutscht. Gleichzeitig mit dem Ausfahren der apikalen Haken vollführt der Acanthor eine Vorwärtsbewegung, wodurch der apikale Pol des Acanthors gegen das Darmwandgewebe seines Wirtstieres geprüft wird. Sind die apikalen Haken vollständig ausgefahren, wird der caudale Pol des Acanthors durch Kontraktion der subepithelialen Muskulatur nachgezogen (siehe Abbildung 41a, 42a-b).

Im Darmlumen seines Wirtstieres stoßen die Acanthoren unablässig ihre apikalen Haken ein und wieder aus, d.h., die Acanthoren vollführen mit ihrer apikalen Bewehrung bzw. ihrem gesamten Körper stereotype Bewegungszyklen. Durch das unablässige, stereotype Wiederholen eines derartigen Bewegungsablaufes arbeiten sich sowohl die Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* als auch von *P. ambiguus* in das Hämocoel eines entsprechenden Wirtstieres vor.

Bei diesem Bewegungsverhalten der Acanthoren handelt es sich um ein "no-feedback-System", d.h., die Parasiten besitzen keinerlei Sensoren, mit denen sie die Darmwand ihres Wirtstieres detektieren könnten. Stoßen die Acanthoren im Darmlumen zufällig auf einen Widerstand, führen sie weiterhin völlig identische Bewegungszyklen durch. Durch diesen permanenten Einsatz der spitzen, massiven Haken gelingt es den Acanthoren im Lauf der Zeit diesen Widerstand lokal zu brechen. Ist es den Acanthoren erst einmal gelungen eine kleine Öffnung in das Widerstand leistende Objekt zu reißen, erweitern sie diese Öffnung solange bis es ihnen gelingt hindurchzukriechen. Deshalb

penetrieren die Acanthoren, solange sie leben, alles Harte im Darmlumen ihrer Wirbeltiere, selbst die leeren Eihüllen bereits geschlüpfter Acanthoren (siehe Abbildung 47a-c).



**Abbildung 47** Verschiedene Acanthoren von *M. hirudinaceus* bei dem Versuch leere Eihüllen  $E_2$  zu penetrieren. **a)** Acanthor, der die apikalen Haken gerade invaginiert hat. **b)** Acanthor, der die Haken vollständig evaginiert hat. **c)** Acanthor, der die Eihülle  $E_2$  mit seinen Haken bearbeitet.

A: apikal, Ac: Acanthor, C: caudal,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle, H: apikale Haken des Acanthors

### 3.7.1 Der Schlüpfablauf von Archi- und Eoacanthocephalen im Vergleich

Während des Schlüpfvorganges befreien sich die Acanthoren aller Acanthocephalensarten im Magen-Darm-Trakt eines entsprechenden Zwischenwirtes aus den verbliebenen Eihüllen  $E_2$ - $E_4$ .

Nachdem die Larven von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* aktiviert worden sind, beginnen die Acanthoren dieser Parasitenarten noch im Ei kontinuierlich stereotype Bewegungszyklen durchzuführen. Diese Bewegungszyklen umfassen bereits alle Elemente, die auch später beim Umherwandern im Darm des Zwischenwirtes bzw. bei dessen Darmwandpenetration zum Einsatz kommen.

Aufgrund der kompakten Lagerung der Acanthoren in den Acanthocephaleneiern können sich die Acanthoren in diesen jedoch nicht ganz ausstrecken (siehe Abbildung 48a, 49c, 49f, 53a). Deshalb gelingt es den Acanthoren aller untersuchten Acanthocephalensarten im Lauf der Zeit durch ständiges Kontrahieren und Elongieren ihres gesamten

Parasitenkörpers im Zusammenspiel mit einem gleichzeitigen Einziehen bzw. Ausfahren der zahlreichen apikalen Haken die beiden inneren Eihüllen ( $E_3$ - $E_4$ ) lokal zu zerstören. Anschließend kriechen die Acanthoren durch diese selbsterzeugten Öffnungen in den Eihüllen ins Freie bzw. in das Darmlumen ihres Wirtes (siehe Abbildung 49f, 50b-e, 51d).

Da die Eier der Archiacanthocephalenarten im Gegensatz zu den Eo- bzw. Palaeacanthocephalen einen "Schlüpfpunkt" besitzen (siehe Abbildung 49a-b, 50), konnten Unterschiede im Ablauf des Schlüpfprozesses festgestellt werden.

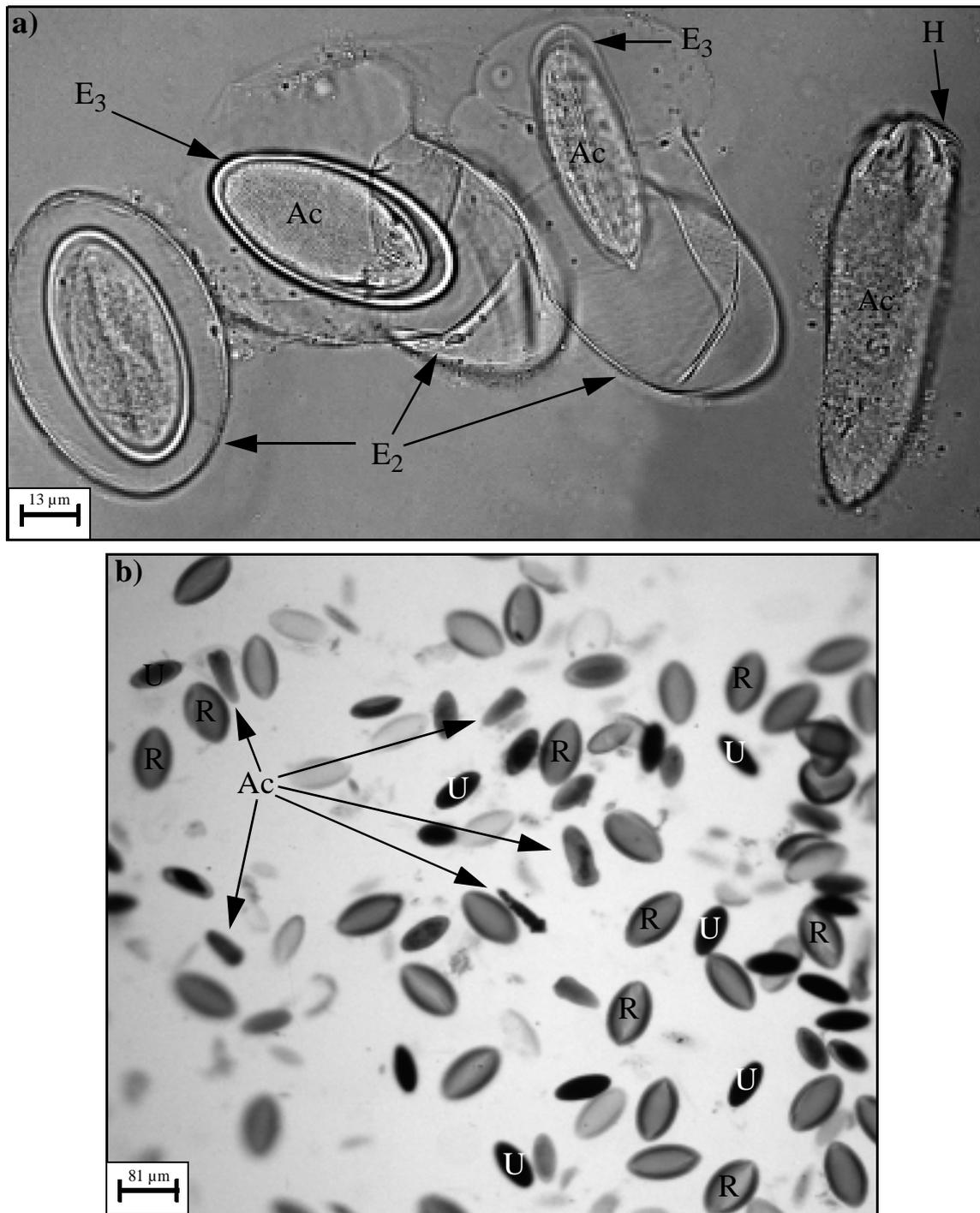
Sind die infektiösen Archiacanthocephaleneier in den Magen-Darm-Trakt eines geeigneten Zwischenwirtes der entsprechenden Acanthocephalenart gelangt, beginnt die Eihülle  $E_2$  aufzuquellen und im Lauf der Zeit öffnet sich der "Schlüpfpunkt" der Eihülle  $E_2$  (siehe Abbildung 48a-e, 51a). Bei den beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* schlüpfen die Acanthoren, die die Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  bereits im Eiinneren mit ihren apikalen Haken zerstört haben, als "freie" Acanthoren durch den Schlüpfpunkt der aufgequollenen Eihülle  $E_2$  in das Darmlumen des entsprechenden Wirtstieres (siehe Abbildung 50a-d). Zurück bleibt die leere Eihülle (siehe Abbildung 49f, 51d). Es ist aber auch möglich, dass die Acanthoren dieser Acanthocephalenarten zufällig aus dem aufgequollenen "Schlüpfpunkt" der Eihülle  $E_2$  rutschen, wenn die Acanthoren noch vollständig von den beiden Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  umgeben sind (siehe Abbildung 48, 49). Außerhalb der Eihülle  $E_2$  befreien sich die Parasitenlarven dann von den restlichen Eihüllen  $E_3$ - $E_4$ , die sie noch umgeben (siehe Abbildung 47, 48e-f, 49e, 50, 51c). Zurück bleibt die leere Eihülle  $E_3$  bzw.  $E_4$ , die ein kreisrundes Loch aufweist (siehe Abbildung 50f). Es kann aber auch passieren, dass die von den Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  umgebenen Acanthoren der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* nur ein Stück weit aus dem "Schlüpfpunkt" herausrutschen und sich dann nacheinander aus diesen Eihüllen  $E_3$  bzw.  $E_4$  befreien (siehe Abbildung 50e, 51b).

Im Gegensatz zu den Acanthoren der Archiacanthocephalen besitzen die Eier des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* keinen "Schlüpfpunkt", so dass die Eihülle  $E_2$  von *P. ambiguus* nicht im Magen-Darm-Trakt eines Zwischenwirtes aufquillt (siehe Abbildung 52a-b). Zudem ist die Eihülle  $E_2$  des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* deutlich dünner als die äußerst massive Eihülle  $E_2$  der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus*. Noch während die aktivierten Acanthoren von *P. ambiguus* von der vollständig geschlossenen Eihülle  $E_2$  umgeben sind, zerstören die aktivierten Acanthoren mit Hilfe ihrer spitzen, apikalen Haken die Eihüllen  $E_3$  bzw.  $E_4$  (siehe Abbildung 52c). Die Eihülle  $E_2$  von *P. ambiguus* ist zu diesem Zeitpunkt vermutlich durch die Einwirkung der Mundwerkzeuge des Zwischenwirtes bereits lokal zerstört worden (siehe Abbildung 52b). Aufgrund der Sprödigkeit der Eihülle  $E_2$  zieht sich von dieser Stelle ein Sprung über die gesamte Länge bzw. Breite des Acanthocephaleneis, d.h., bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* ersetzt die Einwirkung der Mundwerkzeuge von *G. tigrinus* die Ausbildung eines "Schlüpfpunktes".

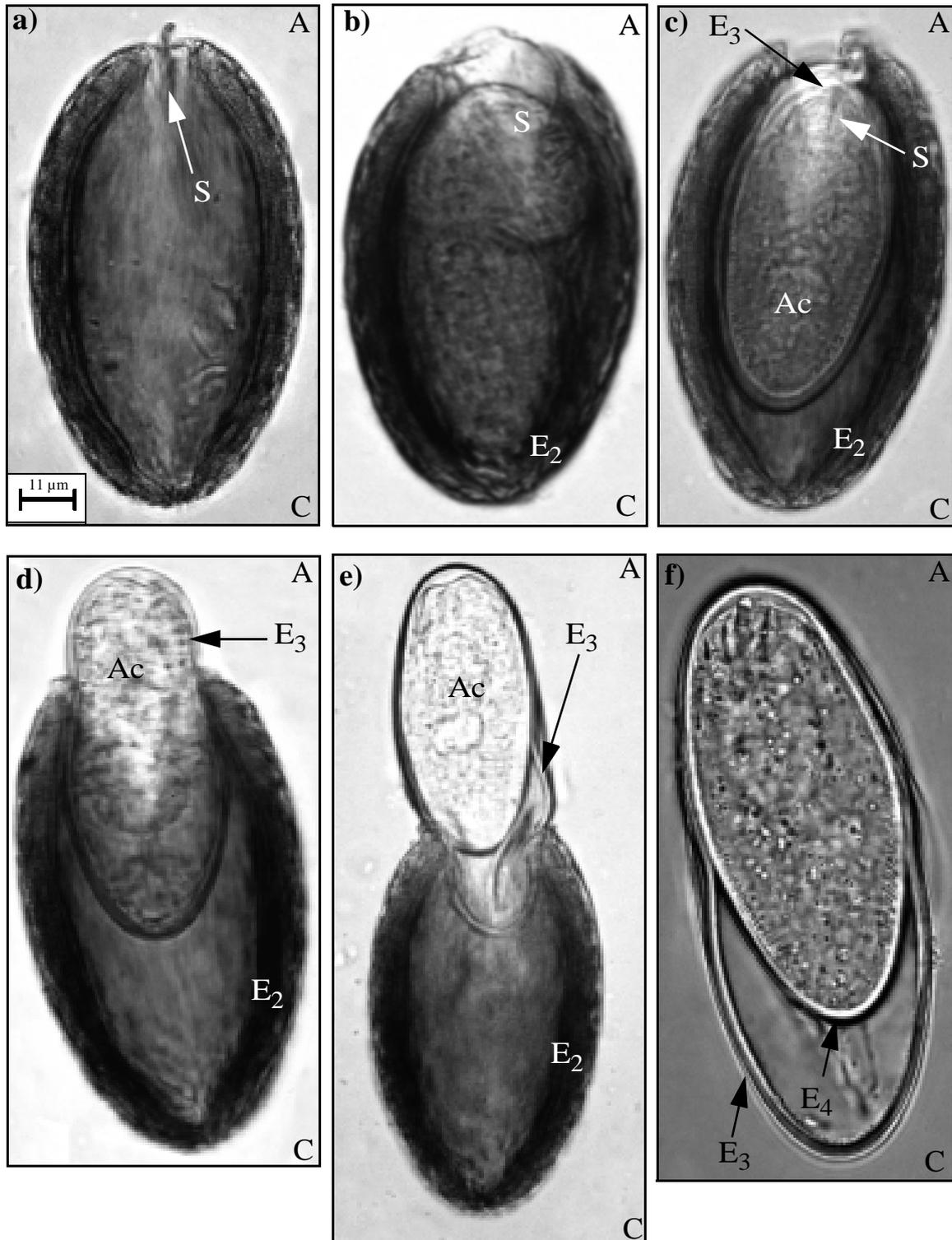
Die Eihülle  $E_{2i}$  bricht aufgrund dieser mechanischen Einwirkung auseinander, wobei sie in ihrer Mitte stets von der Eihülle  $E_{2ä}$  zusammengehalten wird. Der Acanthor von *P. ambiguus* kann somit nicht zufällig, noch vollständig von den Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  umschlossen, aus der Eihülle  $E_{2i}$  hinausfallen (siehe Abbildung 53b-c).

Die Acanthoren von *P. ambiguus* entweichen somit stets als "freie" Larven aus der Eihülle  $E_{2i}$ , da sie die Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  möglicherweise durch eine Kombination von mechanischen und enzymatischen Prozessen lokal zerstören (siehe Abbildung 53c).

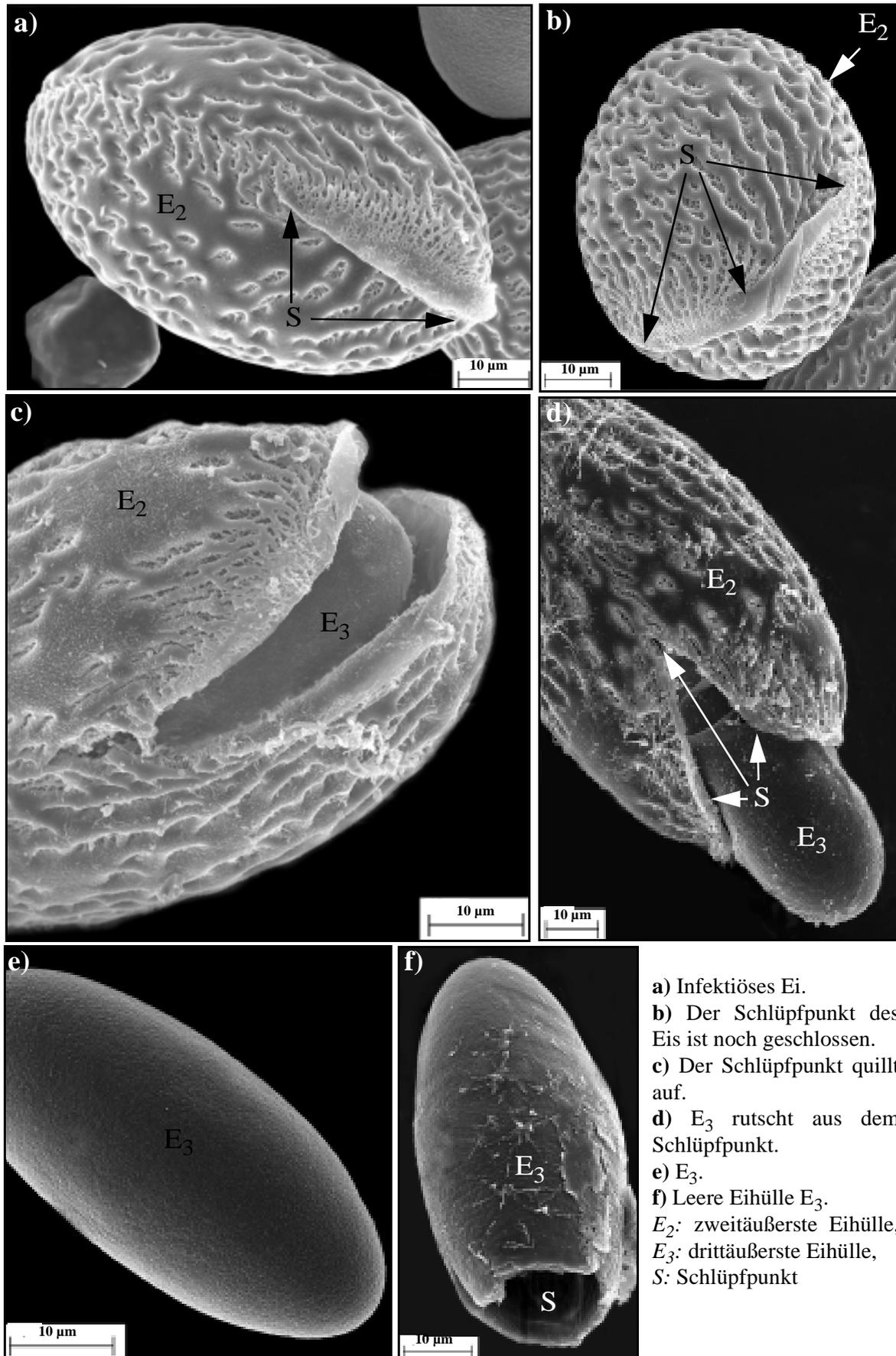
---



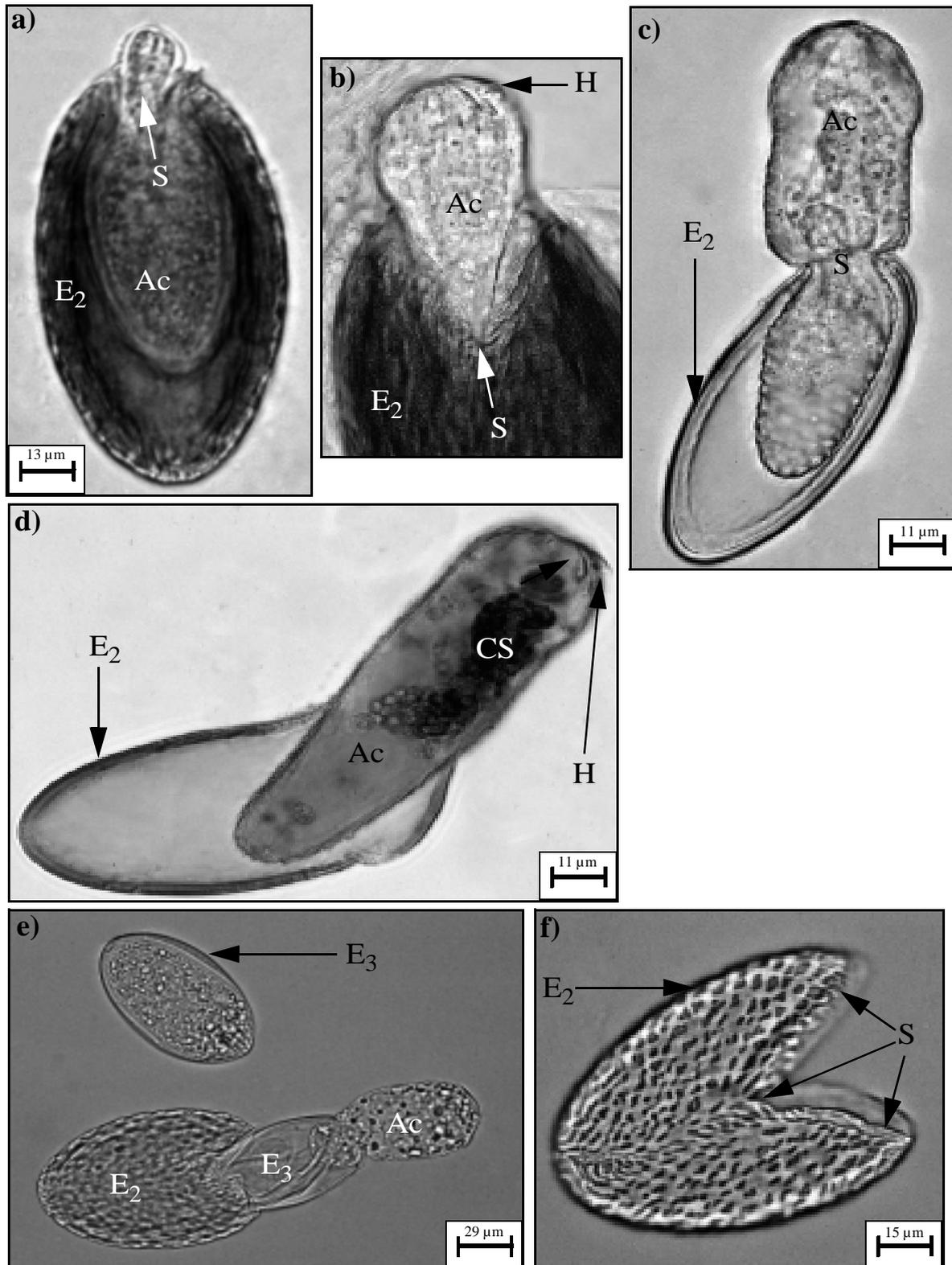
**Abbildung 48** Der Schlüpfprozess des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Verschiedene Stadien im Schlüpfprozess des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **b)** Geschlüpfte Acanthoren von *M. hirudinaceus* und Acanthocephaleneier verschiedenen Reifungsgrades.  $Ac$ : Acanthor,  $E_2$ : zweitäußere Eihülle,  $E_3$ : drittäußere Eihülle,  $H$ : Haken,  $R$ : reifes Acanthocephalenei,  $U$ : unreifes Acanthocephalenei



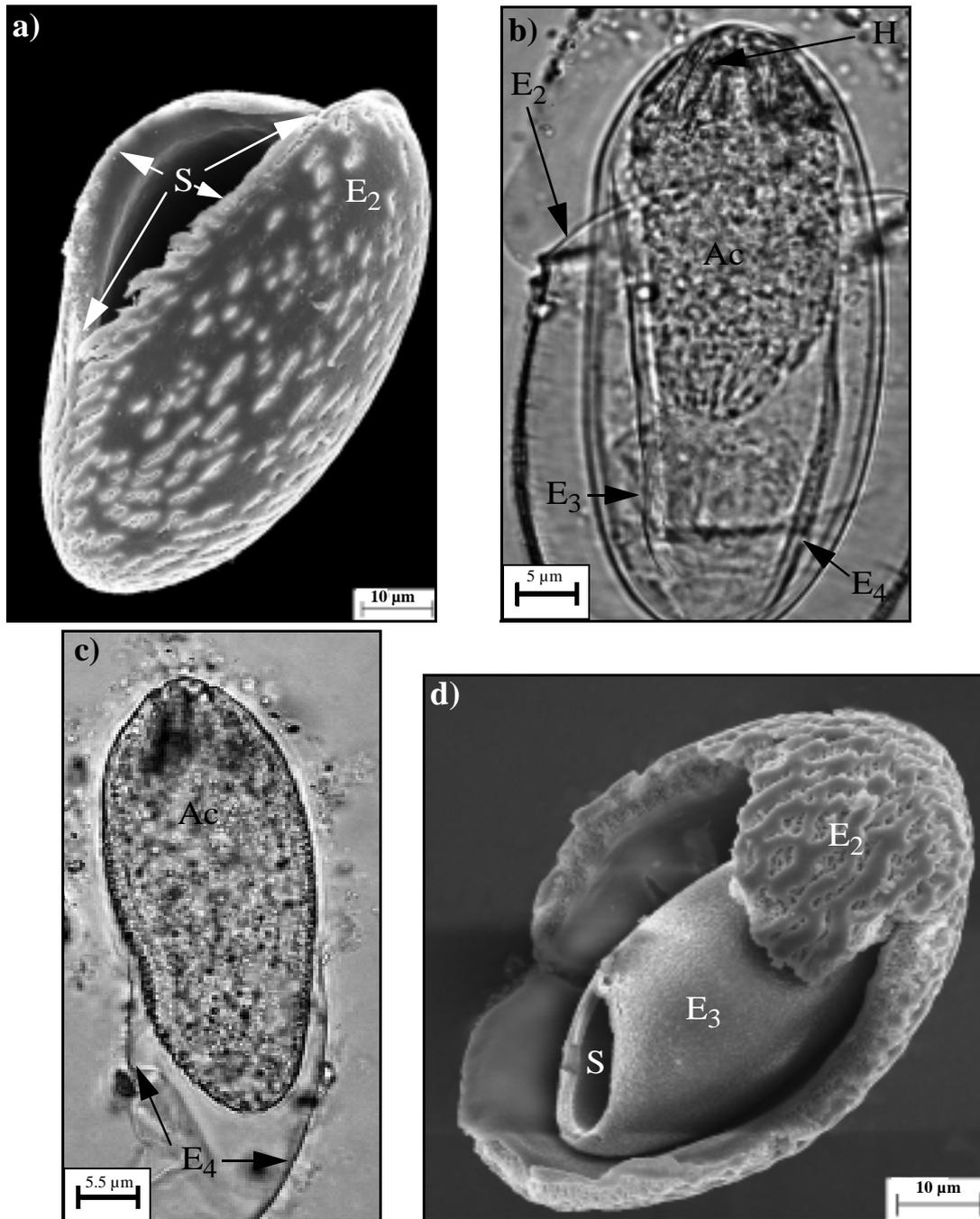
**Abbildung 49** Lichtmikroskopische Aufnahmen des Schlüpfprozesses von Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*. **a)** Der Schlüpfpunkt der Eihülle  $E_2$  ist fast noch vollständig geschlossen. **b)** Die Eihülle  $E_2$  beginnt aufzuquellen. **c)** Der Schlüpfpunkt öffnet sich im Lauf der Zeit immer mehr. **d)** Der Acanthor rutscht zusammen mit  $E_3$ - $E_4$  aus dem Schlüpfpunkt von  $E_2$ . **e)** Der Acanthor hat, umschlossen von den Eihüllen  $E_3$ - $E_4$ , die Eihülle  $E_2$  fast vollständig verlassen. **f)** Außerhalb von  $E_2$  schlüpft der Acanthor aus den Eihüllen  $E_3$ - $E_4$ . A: apikal, C: caudal,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle



**Abbildung 50** Aufnahmen des Schlüpfungprozesses von Acanthoren von *M. hirudinaceus*



**Abbildung 51** Lichtmikroskopischer Blick auf schlüpfende Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*. **a)** Der Acanthor beginnt seine Eihülle zu verlassen. **b)** der Acanthor hat sich bereits aus den Eihüllen  $E_3$ - $E_4$  befreit. **c)** Der Acanthor schlüpft als freie Larve aus der Eihülle  $E_2$  heraus. **d)** Acanthor beim Verlassen von  $E_2$ . **e)** Schlüpfender Acanthor, der gerade die Eihülle  $E_3$  verlässt. **f)** Leere Eihülle  $E_2$  mit geöffnetem Schlüpfpunkt. *Ac*: Acanthor, *CS*: zentrales Syncytium,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle, *H*: Haken, *S*: Schlüpfpunkt

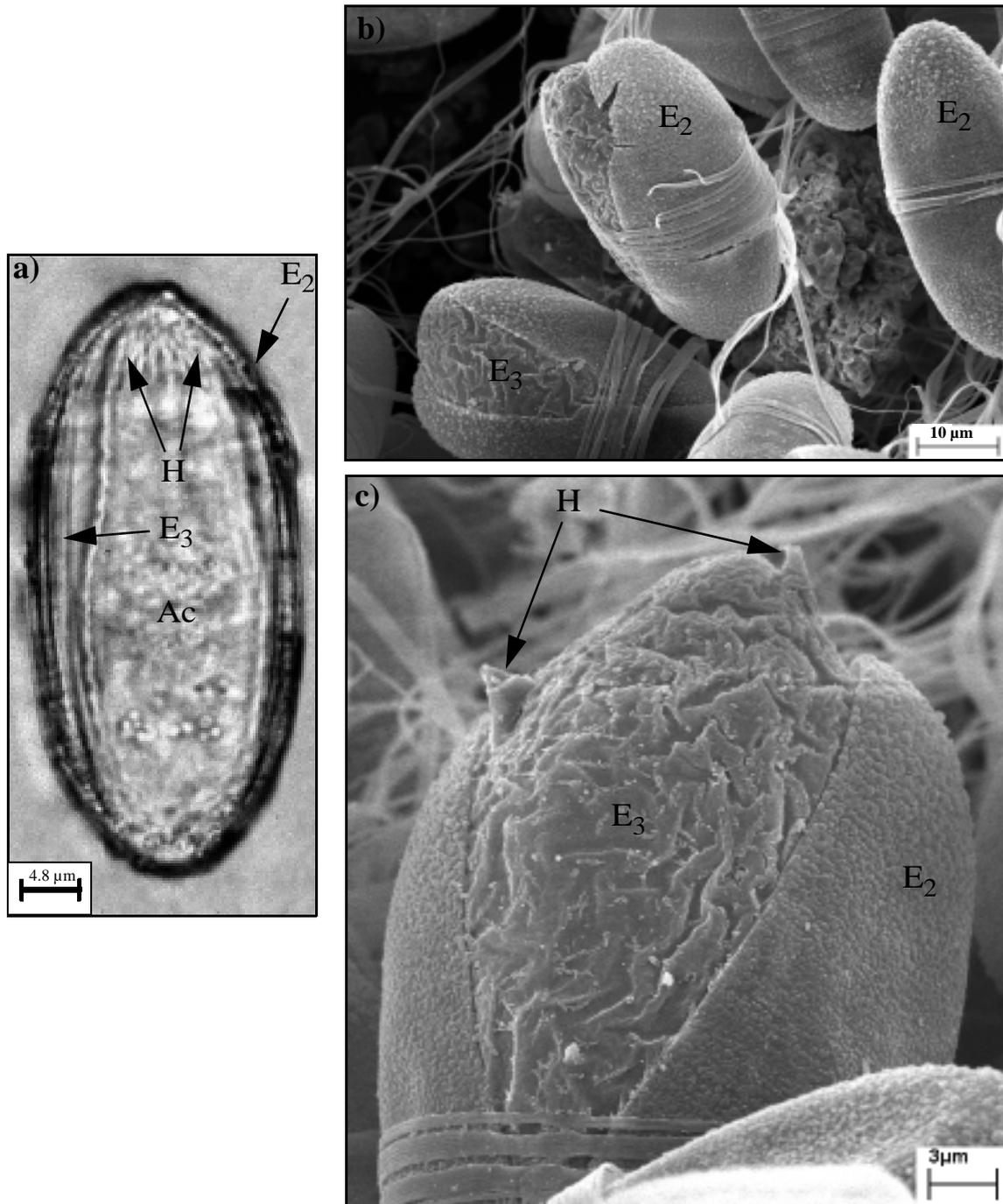


**Abbildung 52** Der Schlüpfprozess des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*. **a)** Leere Eihülle  $E_2$  von *M. moniliformis*, deren Schlüpfpunkt geöffnet ist. **b)** Acanthor, der dabei ist die Eihülle  $E_3$ - $E_4$  zu zerstören. **c)** Acanthor, der dabei ist die zerstörte Eihülle  $E_4$  zu verlassen. **d)** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf ein leeres Ei von *M. moniliformis*. Der Acanthor hat die Eihülle  $E_3$  bereits durch ein kreisrundes Loch verlassen. *Ac*: Acanthor,  $E_2$ : zweitäußerste Eihülle,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle,  $H$ : Haken,  $S$ : Schlüpfpunkt der Eihülle  $E_2$

Möglicherweise unterstützen die Acanthoren verschiedener Acanthocephalenarten beim Schlüpfen die mechanischen Penetrationsprozesse ihrer Haken und Körperstacheln durch die Ausscheidung von proteolytischen Enzymen, wie z.B. Cathepsin L Proteinase oder Chitinase (siehe 3.8). So konnte aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* der Besitz von Cathepsin L Proteinase zweifelsfrei nachgewiesen werden.

Die aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* weisen dabei interessanterweise eine deutlich höhere Konzentration an Cathepsin L Proteinase auf als die inaktiven Acanthoren oder die Adulti (siehe 3.8).

---



**Abbildung 53** Aufnahmen des Schlüpfprozesses von Acanthoren des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*. **a)** Lichtmikroskopische Aufnahme eines aktivierten Acanthoren von *P. ambiguus*, der noch vollständig von der Eihülle E<sub>2</sub> umgeben ist. **b)** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf Eier, deren Eihülle E<sub>2</sub> durch mechanische Bearbeitung lokal zerstört ist. **c)** Ein aktivierter Acanthor ist dabei die Eihülle E<sub>3</sub> mit seinen apikalen Haken zu zerstören. Ac: Acanthor, E<sub>2</sub>: zweitäußerste Eihülle, E<sub>3</sub>: drittäußerste Eihülle, H: Haken

### 3.8 Ausstattung des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* mit Cathepsin L Proteinase

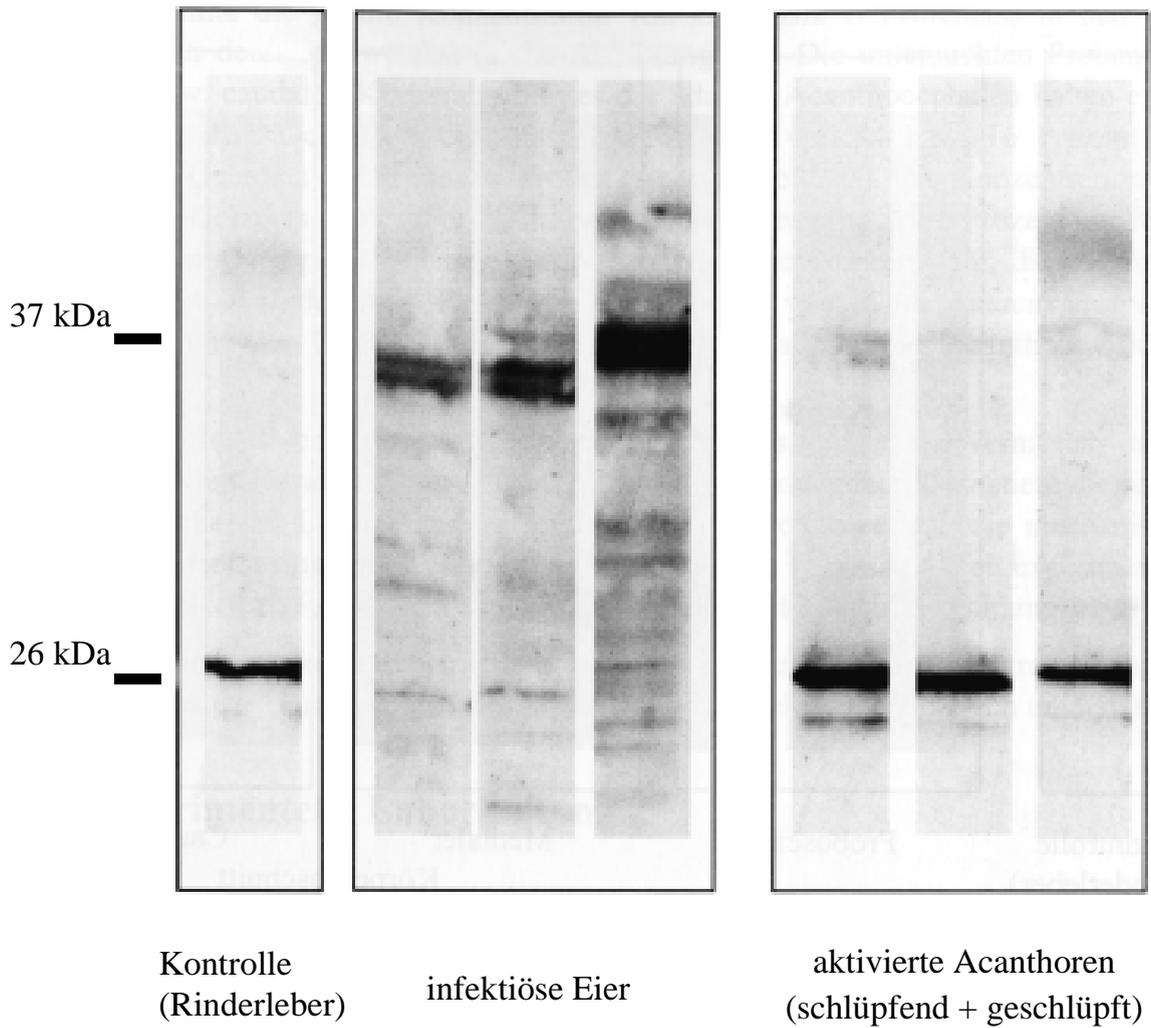
Die Cathepsin L Proteinase wurde mit Antikörpern detektiert, die sich gegen die Cathepsin L Proteinase aus der Maus richten. Da diese Antikörper auch an die Cathepsin L Proteinase des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* binden, muss die Cathepsin L Proteinase von *M. hirudinaceus* in weiten Bereichen eine hohe Struktur- und Sequenzhomologie mit der Cathepsin L Proteinase der Maus aufweisen. Hinzu kommt, dass auch in den Kontrollansätzen (Rinderleber) immer Cathepsin L Proteinase nachgewiesen werden konnte (siehe Abbildung 54, 55).

Insgesamt konnte die Cathepsin L Proteinase in verschiedenen Entwicklungsstadien von *M. hirudinaceus* festgestellt werden. Es zeigte sich, dass sowohl die Acanthoren (siehe Abbildung 54) als auch die Adulti (siehe Abbildung 55) von *M. hirudinaceus* unterschiedlich hohe Konzentrationen dieses proteolytischen Enzyms besitzen (siehe Tabelle 4, 5). Die unterschiedlichen Konzentrationsangaben an Cathepsin L Proteinase der entsprechenden Entwicklungsstadien wurden durch einen Vergleich der densitometrischen Auswertung des Schwärzungsgrades der jeweiligen Cathepsin L Banden erzielt (siehe 2.10.8).

Es konnte erstmals nachgewiesen werden, dass die unaktivierten Acanthoren in den infektiösen Acanthocephaleneiern von *M. hirudinaceus* im Vergleich zu den aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* eine um 91 Prozent geringere Konzentration an Cathepsin L Proteinase aufweisen (siehe Abbildung 54).

Bei den inaktiven Acanthoren von *M. hirudinaceus* wurde dafür eine Konzentration von inaktivem Pro-Cathepsin L von durchschnittlich 87 Prozent des Cathepsin L-Gehaltes der aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* festgestellt (siehe Tabelle 4). Bei den Probenextrakten der infektiösen Eier von *M. hirudinaceus* konnten somit deutliche Banden im Bereich von 37 kDa beobachtet werden, die bei den Proben der aktivierten Acanthoren kaum mehr detektiert werden konnten (siehe Abbildung 54). Die Konzentration an Pro-Cathepsin L Proteinase der aktivierten Acanthoren betrug nur 2 Prozent der Pro-Cathepsin L Proteinase-Konzentration der unaktivierten Acanthoren (siehe Tabelle 4). Diese Beobachtung lässt sich damit erklären, dass die Cathepsin L Proteinase in den Acanthocephaleneiern in der Form eines schwereren, inaktiven Proenzymes vorliegt, das durch Proteolyse gespalten und in die leichtere, aktive Cathepsin L Proteinase umgewandelt wird (SMITH & GOTTESMANN, 1989), sobald der Acanthor aufgrund von entsprechenden Schlüsselreizen zum Schlüpfen stimuliert wurde. Diese inaktive Pro-Cathepsin L-Form des Enzyms weist bei dem Trematoden *F. hepatica* ein Molekulargewicht von 39 kDa auf (DOWD et al., 1994).

Die detektierte Cathepsin L Proteinase von *M. hirudinaceus* besitzt im Gegensatz zur inaktiven Pro-Cathepsin L-Form ein Molekulargewicht von 26 kDa (siehe Abbildung 54, 55), das mit dem Molekulargewicht bisher untersuchter Cathepsin L Proteinasen verschiedener anderer Tierarten übereinstimmt (JOSEPH et al., 1988).

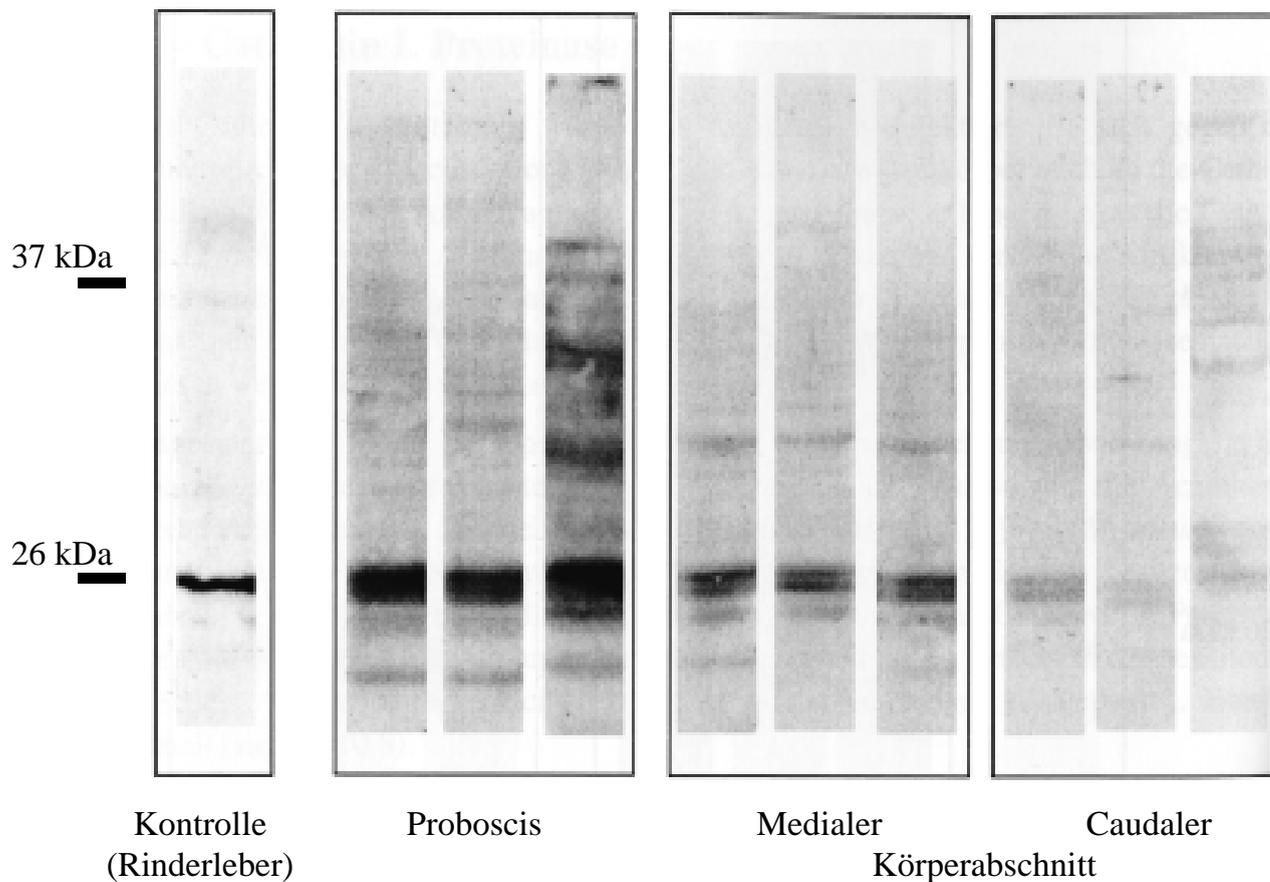


**Abbildung 54** Die enzymatische Ausstattung des Acanthors von *M. hirudinaceus* mit der proteolytischen Cathepsin L Proteinase

**Tabelle 4:** Prozentuale Konzentration von Cathepsin L Proteinase bzw. Pro-Cathepsin L Proteinase in aktivierten und unaktivierten Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*.

<i>M. hirudinaceus</i>	Konzentration in Prozent an	
	Cathepsin L Proteinase	Pro-Cathepsin L Proteinase
aktivierter Acanthor (schlüpfend + geschlüpft)	100	2
unaktivierter Acanthor	9	87

**Zu beachten:** Bei der Auswertung wurde die Cathepsin L Proteinase-Konzentration der aktivierten Acanthoren als 100 Prozent angenommen.



**Abbildung 55** Die enzymatische Ausstattung der adulten Parasiten des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* mit der proteolytischen Cathepsin L Proteinase

**Tabelle 5:** Prozentuale Konzentration von Cathepsin L Proteinase bzw. Pro-Cathepsin L Proteinase in verschiedenen Körperabschnitten des adulten Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*.

<i>M. hirudinaceus</i>	Konzentration in Prozent an	
	Cathepsin L Proteinase	Pro-Cathepsin L Proteinase
Proboscis	100	0
Medialer Körperabschnitt	34	0
Caudaler Körperabschnitt	16	0

**Zu beachten:** Bei der Auswertung wurde die Cathepsin L Proteinase-Konzentration der Proboscis als 100 Prozent angenommen. Diese Cathepsin L Proteinase-Konzentration entspricht 61 Prozent der Cathepsin L Proteinase-Konzentration der aktivierten Acanthoren.

Sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen adulten Würmern von *M. hirudinaceus* konnte die größte Konzentration von Cathepsin L Proteinase in den Proboscis-Proben detektiert werden (siehe Abbildung 55). Die untersuchten Proben des medialen bzw. caudalen Körperabschnittes der adulten Acanthocephalen hatten einen durchschnittlichen Gehalt an Cathepsin L Proteinase von 34 bzw. 16 Prozent des Cathepsin L-Gehaltes der Proboscis-Proben (siehe Tabelle 5). Die Konzentration des Cathepsin L-Gehaltes der Proboscis-Proben wiederum entsprach 61 Prozent der Konzentration des Cathepsin L-Gehaltes der aktivierten Acanthoren, d.h., die maximale Konzentration an Cathepsin L Proteinase in den Adulti von *M. hirudinaceus* entspricht nur 39 Prozent der Cathepsin L-Konzentration der aktivierten Acanthoren (siehe Tabelle 4, 5).

Aufgrund dieser biochemischen Untersuchungsergebnisse liegt die Vermutung nahe, dass der aktivierte Acanthor von *M. hirudinaceus* im Darm seiner Wirtstiere die proteolytische Cathepsin L Proteinase sezerniert und dadurch chemisch die mechanische Destruktion der Darmwand der Zwischenwirte, z.B. des in dieser Arbeit experimentell verwendeten Kongo-Rosenkäfers *P. marginata*, unterstützt (siehe Abbildung 54).

Die Cathepsin L Proteinase wird aufgrund dieser Ergebnisse als Penetrationsenzym betrachtet, das die Darmwandpassage des Acanthors effektiv enzymatisch unterstützt.

## 3.9 Experimentelle Laborhaltung

### 3.9.1 Infektionsversuche mit Zwischenwirten von verschiedenen Acanthocephalenarten

Die Infektionsversuche mit den Acanthocephalenarten *P. ambiguus*, *E. gadi*, *E. truttae*, *P. botulus* und *P. laevis* dienten nicht der Ermittlung der Parasitierungsrate von Zwischenwirten, sondern der ultrastrukturellen Untersuchung von geschlüpften Acanthoren im Darmlumen bzw. in der Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes. Deshalb wurden die infizierten Amphi- und Isopoden, lange bevor die Entwicklung von Cystacanthen stattfinden konnte, getötet.

Leider konnten bei der Untersuchung von Semi- bzw. Ultradünnschnitten der Därme der entsprechenden Amphipoden- und Isopodenarten im Licht- bzw. Elektronenmikroskop nur einige geschlüpfte Acanthoren bzw. Reste der Eihülle des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* im Darm von *G. tigrinus* aufgespürt werden (siehe 3.3 und 3.10).

Es wurde kein einziger Acanthor entdeckt, der gerade die Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes penetrierte.

---

### 3.9.2 Parasitierungsrate von *P. americana* mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis*

Während der Infektionsphase konnte bei den eingesetzten 100 Versuchstieren von *P. americana* ein deutlich unterschiedliches Fraßverhalten beobachtet werden. Die meisten der isolierten Schaben fraßen die angebotene, aber mit infektiösen Acanthocephaleneiern kontaminierte Nahrung vollständig bzw. beinahe vollständig auf. Diese Tiere wurden in der Gruppe der “*Viel-Fresser*”, die 72 Tiere umfasste, zusammengefasst. Eine deutlich kleinere Anzahl von Tieren fraß dagegen die angebotene Nahrung nur zu kleinen Teilen auf. Diese Tiere wurden in die Gruppe der “*Wenig-Fresser*”, die 28 Tiere umfasste, eingeteilt.

Insgesamt waren 89 % aller eingesetzten Schaben mindestens einfach mit *M. moniliformis* infiziert. Bei den als Zwischenwirt des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* eingesetzten Schaben war eine unterschiedlich starke Infektionsrate mit *M. moniliformis* zu beobachten.

Die größere Gruppe der “*Viel-Fresser*” wies eine durchschnittliche Parasitierungsrate von 11 Cystacanthen pro Schabe auf, während die Schaben der kleineren Gruppe der “*Wenig-Fresser*” mit 3 Cystacanthen pro Schabe deutlich schwächer infiziert war (siehe Tabelle 6). Die Gruppe der “*Wenig-Fresser*” besitzt also eine durchschnittliche Infektionsrate, die nur 29 Prozent der durchschnittlichen Infektionsrate der Gruppe der “*Viel-Fresser*” entspricht.

**Tabelle 6:** Daten zur experimentellen Infektionsintensität von *P. americana* mit *M. moniliformis*.

	<b>Infektionsintensität der Gruppe “Viel-Fresser”</b>	<b>Infektionsintensität der Gruppe “Wenig-Fresser”</b>
<b>n (<i>P. americana</i>)</b>	72	28
<b>X<sub>max</sub></b>	23	11
<b>X<sub>min</sub></b>	0	0
<b>Standardabweichung sd</b>	5	2
<b>Mittelwert <math>\bar{X}</math></b>	11	3

### 3.9.3 Parasitierungsrate von *R. norvegicus* mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis*

Die 20 adulten Ratten waren zu 100 % mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis* infiziert.

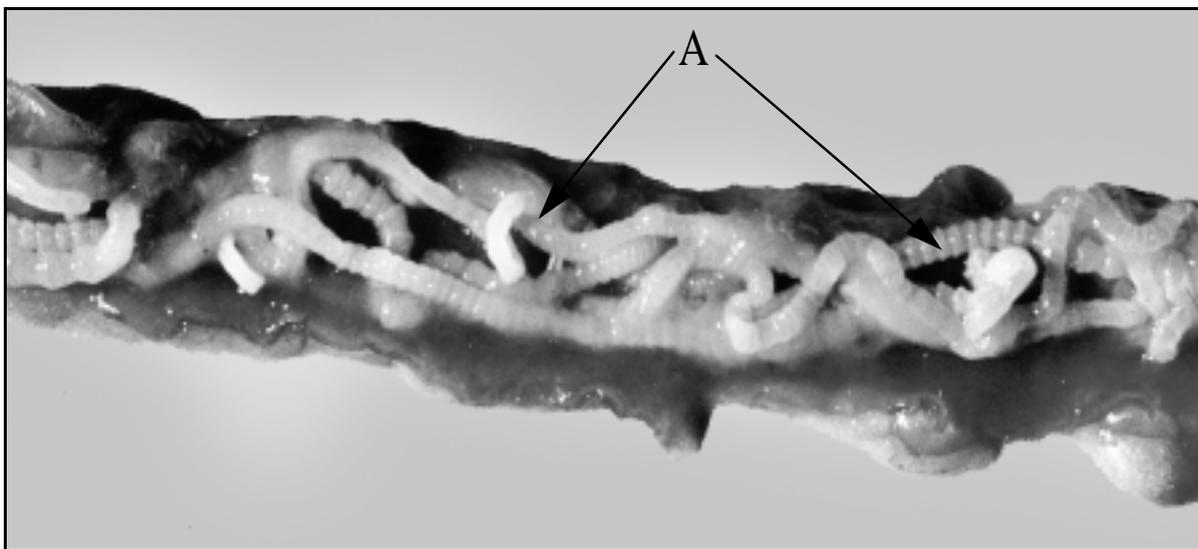
Obwohl jeder Ratte 20 infektiöse Cystacanthen oral zusammen mit Glucose-Lösung appliziert wurde, schwankte die Befallsintensität der Ratten mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis* zwischen mindestens 3 und maximal 14 Parasiten pro Ratte (siehe

Tabelle 7). D.h., 15 Prozent bis maximal 80 Prozent der 20 Cystacanthen, die von den einzelnen Ratten oral aufgenommen wurden, entwickelten sich im Darm des Versuchstieres weiter zum adulten Parasiten.

Die mittlere Befallsintensität der Ratten mit dem eingesetzten Acanthocephalen lag bei 8 Parasiten pro Ratte (siehe Tabelle 7). Durchschnittlich entwickelten sich in jedem Versuchstier 41 Prozent der verfütterten Cystacanthen weiter zum adulten Wurm (siehe Abbildung 12).

**Tabelle 7:** Daten zur Befallsintensität von experimentell infizierten Ratten mit *M. moniliformis*.

	Infektionsintensität von <i>R. norvegicus</i> mit <i>M. moniliformis</i> (n)	Infektionsintensität von <i>R. norvegicus</i> mit <i>M. moniliformis</i> (%)
n ( <i>R. norvegicus</i> )	20	-
$X_{\max}$	14	80
$X_{\min}$	3	15
Standardabweichung sd	4	18
Mittelwert $\bar{X}$	8	41



**Abbildung 56** Geöffneter Darm einer Ratte, die experimentell mit dem Acanthocephalen *M. moniliformis* infiziert worden ist. A: adulte Exemplare von *M. moniliformis*

### 3.10 Die Gestalt und Morphologie der Acanthoren

Die Aufgabe des Acanthors besteht darin, dass er, nachdem er noch von verschiedenen Eihüllen umschlossen vom Zwischenwirt oral aufgenommen wurde, innerhalb angemessener Zeit vom Darmlumen seines Wirtstieres in dessen Hämocoel gelangt. Zwischen Darmlumen und Hämocoel befindet sich die massive Darmwand des

Zwischenwirtes als Barriere, die der Acanthor in dem ihm zur Verfügung stehenden Zeitraum überwinden muss. Zwischen Darmlumen und Hämocoel befindet sich die massive Darmwand des Zwischenwirtes als Barriere, die der Acanthor in dem ihm zur Verfügung stehenden Zeitraum überwinden muss (WILLIAMS & JONES, 1994).

Um diese Aufgabe erfolgreich erfüllen zu können, ist der Acanthor mit einer Reihe von unterschiedlichen morphologischen Körper- und Funktionsmerkmalen ausgestattet, die ihm sowohl eine aktive Bewegungsfähigkeit verleihen als auch eine zügige Penetration der Darmwand eines geeigneten Wirtstieres ermöglichen.

### 3.10.1 Überblick über den geschlüpften Acanthor

Sobald die Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* sich vollständig aus ihren Eihüllen befreit haben, relaxieren sich die Acanthoren dieser Parasitenarten und nehmen dadurch in Richtung ihrer Längsachse deutlich an Größe zu. Die geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis* sind durchschnittlich 65 µm x 30 µm, von *M. hirudinaceus* 90 µm x 50 µm und von *P. ambiguus* 37 µm x 12 µm groß (siehe Abbildung 57, 58, 59). Dies entspricht bei *M. moniliformis* einem Verhältnis (Körperlänge/Körperbreite) von 2.2, bei *M. hirudinaceus* von 1.8 und bei *P. ambiguus* von 3.2.

Im Vergleich dazu sind die ungeschlüpften Acanthoren in den reifen Acanthocephaleneiern, die bei *M. moniliformis* 55-70 µm x 45-55 µm, bei *M. hirudinaceus* 80-100 µm x 50-60 µm und *P. ambiguus* 48 µm x 18 µm groß sind, äußerst kompakt gelagert. Das Verhältnis (Eilänge/Eibreite) der Acanthocephaleneier beträgt bei *M. moniliformis* 1.2-1.3, bei *M. hirudinaceus* 1.6-1.7 und bei *P. ambiguus* 2.7. Dabei ist zu beachten, dass sich die Größenangabe bei den reifen Acanthocephaleneiern auf den Umfang der äußeren Eihülle E<sub>1</sub> bzw. E<sub>2</sub> bezieht. Die Acanthoren weisen im Acanthocephalenei jedoch einen viel geringeren Durchmesser als die Eihülle E<sub>1</sub> bzw. E<sub>2</sub> auf, da sie sich erst im Inneren der innersten Eihülle E<sub>4</sub> befinden. D.h., die geschlüpften Acanthoren dieser Parasitenarten sind in den Acanthocephaleneiern kompakt gelagert.

Die geschlüpften Acanthoren der untersuchten Acanthocephalenarten *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* sind von länglich-ovaler bis spindelförmiger Gestalt und weisen einen runden Querschnitt auf (siehe Abbildung 57, 58, 59, 61a-b). Während der Durchmesser des Acanthors bei den beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* am apikalen Pol am größten ist und caudalwärts kontinuierlich abnimmt (siehe Abbildung 57, 58), weist der Acanthor von dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* vom apikalen Pol bis zum caudalen Pol einen nahezu gleichmäßigen Durchmesser auf (siehe Abbildung 59).

Auffälligstes Merkmal der geschlüpften Acanthoren sind die sehr großen, spitzen Haken, mit denen der apikale Pol der Acanthoren bewehrt ist. Je nach Acanthocephalenart unterscheidet sich die Bewehrung der Acanthoren in der Anzahl der Haken und ihrer Anordnung (siehe 3.10.2, Abbildung 57, 58, 59). Diese massiven Haken sind

sowohl bei den beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* als auch bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* in vier Reihen angeordnet, die den apikalen Pol des entsprechenden Acanthors spiralig umgeben (siehe Tabelle 9 auf Seite 134). Die Haken der einzelnen Hakenreihen, die stets “in Reihe” oder “auf Lücke” ausgerichtet sind, können von den Acanthoren der untersuchten Acanthocephalenarten aktiv bewegt werden (siehe Abbildung 57a-c, 60b-c). Der Acanthor kann die Haken entweder eng an seinen Körper anlegen (siehe Abbildung 57a, 58b, 60b) oder sie mehr oder weniger weit vom Körper abspreizen (siehe Abbildung 57b-c, 58a, 59). Hinzu kommt, dass der Acanthor durch Kontraktion bzw. Dehnung der beiden zentral gelegenen Retraktormuskeln in der Lage ist seinen apikalen Pol mitsamt den großen Haken vollständig zu invaginieren bzw. zu evaginieren. Mit Hilfe dieser apikalen Haken bohren sich die Acanthoren der untersuchten Acanthocephalenarten, ähnlich wie ein moderner Fräzkopf von Untertagemaschinen, durch die Darmwand ihrer entsprechenden Zwischenwirte (Amphipoden, Isopoden, usw.).

Ein weiteres ins Auge stechendes Merkmal der untersuchten Acanthoren stellen zahlreiche Stacheln ( $n > 100$ ) dar, die bis auf den apikalen Pol über den gesamten Körper der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* verteilt sind (siehe 3.10.3, Abbildung 57, 58, 59). Diese Körperstacheln sind deutlich kleiner und weniger massiv als die apikalen Haken, denen sie zahlenmäßig weit überlegen sind. Alle Körperstacheln von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* können, wie die apikalen Haken, von den entsprechenden Acanthoren aktiv bewegt werden. D.h., die Acanthoren sind in der Lage die Körperstacheln entweder eng an ihren Körper anzulegen oder sie weit von diesem abzuspreizen. Sowohl die Haken als auch die Körperstacheln der Acanthoren sind bereits im infektiösen Acanthocephalenei vollständig ausgebildet (siehe 3.1, 3.2, 3.3, 3.4).

Die Bewegung der apikalen Haken bzw. der zahlreichen Körperstacheln wird den Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* durch eine ausgeprägte Muskulatur ermöglicht. Die Muskulatur der Acanthoren dieser Acanthocephalenarten besteht sowohl aus zwei zentral gelegenen Retraktormuskelsträngen als auch zehn bzw. zwölf subepithelial gelegenen einzelnen Muskelsträngen (siehe Abbildung 61c). Obwohl diese zwei unterschiedlichen Kompartimente des Muskelsystems der Acanthoren nicht miteinander in Verbindung stehen, interagieren sie. Erst durch diese Interaktion der beiden Muskulaturuntereinheiten wird die effektive Bewegung der Haken, Stacheln und des gesamten Körpers der Acanthoren bewirkt (siehe 3.10.4 u. 4.7.4.1). Während der Vorderleib der Acanthoren in der Regel in- bzw. evaginiert wird, kann der Hinterleib der Acanthoren kontrahiert werden und weist dann zahlreiche, tiefe Einfaltungen der Oberfläche auf.

Durch Kontraktion der subepithelialen Muskulatur kommt es je nach Bewegungsphase im mittleren bzw. caudalen Bereich der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* zur Ausbildung von zahlreichen schmalen oder breiteren Körperfalten, die quer zur Längsachse der Acanthoren verlaufen (siehe Abbildung 57, 58, 59, 3.10.5). Da dadurch die Körperoberfläche der Acanthoren im caudalen Körper-

bereich zahlreiche tiefe und relativ symmetrische Einfaltungen aufweist, stellen diese Körperfalten neben den apikalen Haken bzw. den kleineren Körperstacheln ein charakteristisches Merkmal der geschlüpften Acanthoren aller untersuchten Acanthocephalenarten dar. Hinzu kommt, dass eine derartige Bewegungsfähigkeit des caudalen Körperabschnittes der Acanthoren bisher nur von dem Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* bekannt ist (REITZE, 1998).

Eine ventrale oder dorsale Lagebeziehung von gefundenen Strukturen kann im Acanthor nicht angegeben werden. Wie die Adulti der Acanthocephalen, sind die Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* bilateralsymmetrisch aufgebaut (siehe Abbildung 57, 58, 69b, 104a). Im Gegensatz dazu sind die Acanthoren von *P. ambiguus* radiärsymmetrisch aufgebaut (siehe Abbildung 59, 89, 90). Bei den Acanthoren der untersuchten Acanthocephalenarten ließen sich ultrastrukturell keine Nervenzellen oder sensorischen Organe nachweisen. Ebensowenig besitzt der Acanthor eine Mund- bzw. Afteröffnung, da er aufgrund seines hohen Glykogengehaltes während seiner gesamten Lebensphase keinerlei Nahrung zu sich nehmen muss (siehe Abbildung 100b-c).

Unter der gesamten Oberfläche der untersuchten Acanthoren verläuft ein stark verästeltes Kanalsystem (siehe 3.10.5). Dieses Kanalsystem vernetzt die zahlreichen Krypten, die die Oberfläche der Acanthoren durchbrechen, miteinander und bildet dadurch ein fusioniertes Kryptensystem aus (siehe Tabelle 12 auf Seite 167). Die Lakunen dieses fusionierten Kryptensystems sind mit zahlreichen elektronendichten Granula bzw. Vesikeln angefüllt. Die Krypten des fusionierten Kryptensystems dienen im Gegensatz zu den Adulti der Acanthocephalen der Ausscheidung von Sekretvesikeln bzw. Granula und nicht der Aufnahme von Nährstoffen.

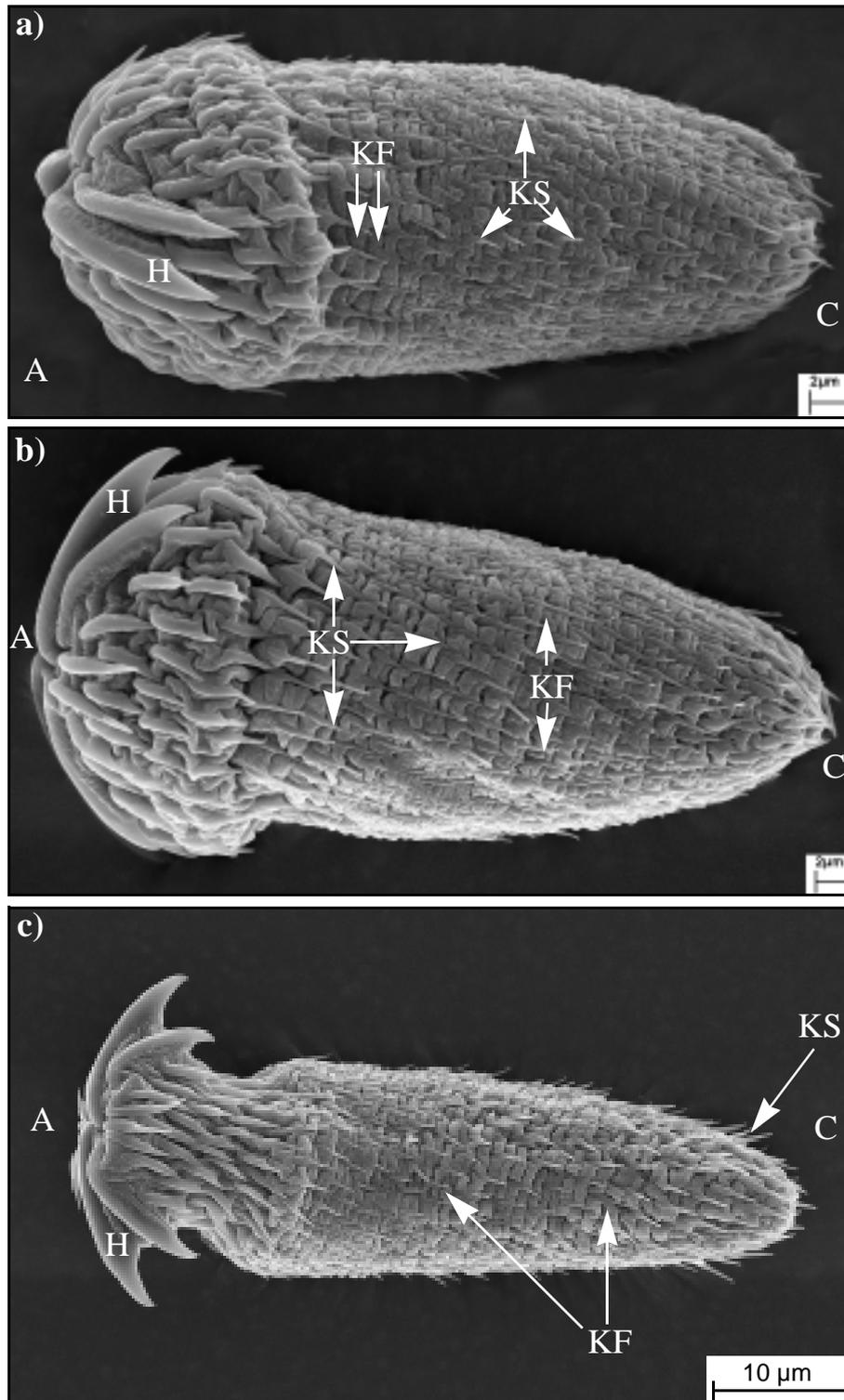
Sowohl die Acanthoren von *M. moniliformis* als auch von *M. hirudinaceus* sowie von *P. ambiguus* sind aus drei verschiedenen Syncytien aufgebaut (siehe Abbildung 61b-c, 94, 95). Apikal liegt das Frontalsyncytium und medial das Zentralsyncytium. Frontal- und Zentralsyncytium werden von dem Epidermalsyncytium eingebettet, das auch das Epithel des Acanthors bildet. Deutlich kann die ausgebildete Grenze zwischen zwei unterschiedlichen Syncytien erkannt werden (siehe Abbildung 94, 95a, 99a). Die Matrix aller drei Syncytien ist durchgängig elektronenhell. Während das Zentralsyncytium der untersuchten Acanthoren reich an kondensierten Nuclei (kN) ist, welche die zentrale Nucleusmasse verkörpern (siehe Abbildung 94), enthält das epidermale Syncytium große Mengen an Glykogen (G), zahlreiche "Schleimvesikel" (SV), Mitochondrien (M), Lipidtröpfchen (L) und dekondensierte Nuclei (dN). Während die Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* nur 2-5 dekondensierte Nuclei, die 2.6-4.1 µm groß sind, besitzen, sind deutlich mehr kondensierte Nuclei (20-40) vorhanden (siehe Tabelle 8). Die kondensierten Nuclei weisen eine Größe von 1.3-4.0 µm auf.

Die elektronenlichten, dekondensierten Nuclei stellen eine Differenzierung der kondensierten Nuclei des Zentralsyncytiums dar (siehe Abbildung 94, 95a, 97b, 98, 99). Diese kondensierten Nuclei sind äußerst polymorph und erscheinen durch Aufknäulung der

enthaltenen DNA als elektronendicht. Im Gegensatz dazu besitzen die elektronenlichten Nuclei immer einige periphere Chromatin- bzw. Heterochromatin-ansammlungen. Das nahe dem apikalen Pol des Acanthors gelegene Frontalsyncytium der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* enthält sowohl sehr viele elektronenlichte als auch elektronendichte Vesikel bzw. Granula (siehe Tabelle 8 auf Seite 107). Unter den Vesikeln befinden sich zahlreiche Sekret- (SK), "Schleim-" sowie ovoide bzw. kugelige Dottervesikel (DV). Die elektronenlichten, relativ großen "Schleimvesikel" (SV) enthalten vermutlich Mucopolysaccharide. Die Mucopolysaccharide dürften als eine Art "Gleitmittel" während der Darmwandpassage von den Acanthoren ausgeschieden werden, um eine besonders niedrige Reibung zwischen Darmwand und Acanthoroberfläche zu erzielen.

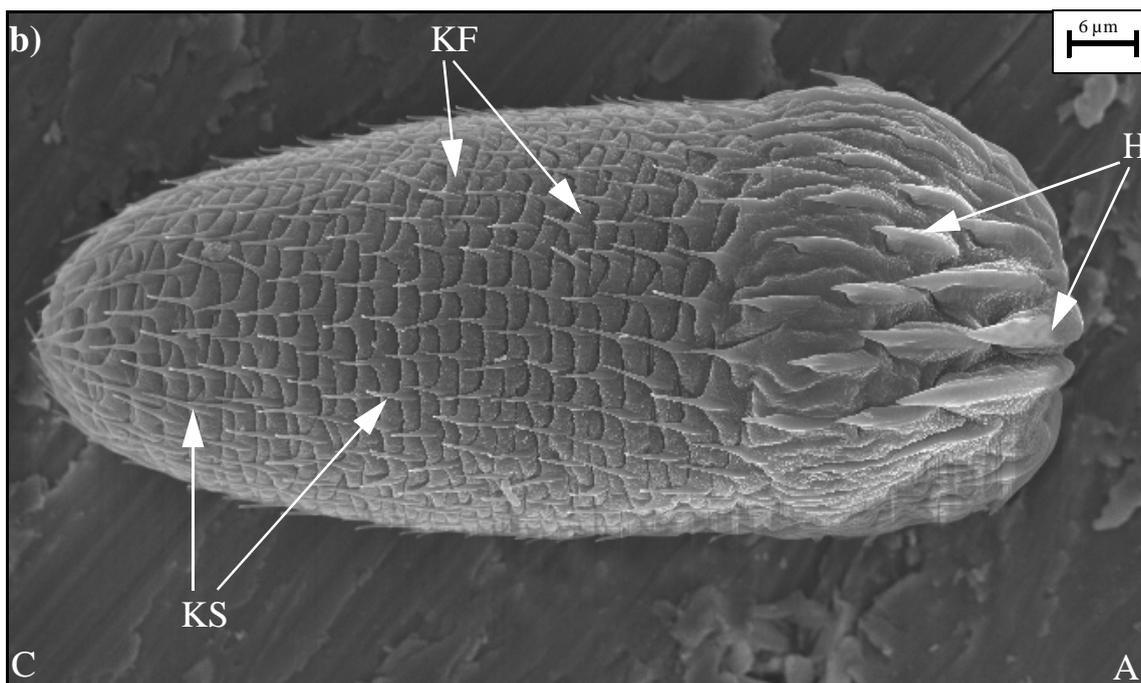
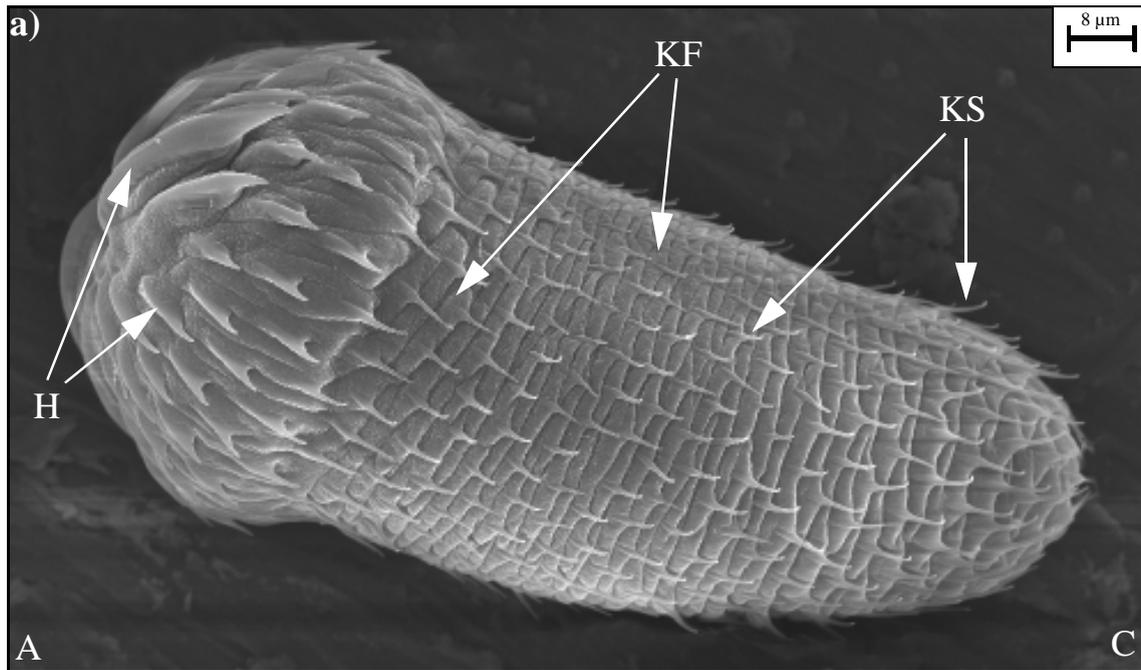
**Tabelle 8:** Kenndaten zu inneren Strukturen der geschlüpften Acanthoren (alle Angaben in  $\mu\text{m}$ ).

	<i>M. moniliformis</i>	<i>M. hirudinaceus</i>	<i>P. ambiguus</i>
Anzahl kondensierter Nuclei (kN)	34	40	20
Durchmesser kondensierter Nucleus	1.3 - 3.0	2.2 - 4.0	1.5 - 2.5
Anzahl dekondensierter Nuclei (dN)	4	5	2
Durchmesser dekondensierter Nucleus	3.2 - 3.8	3.6 - 4.1	2.6 - 3.1
Durchmesser "Schleimvesikel" (SV)	0.1 - 4.0	0.4 - 2.3	0.3 - 1.2
Durchmesser intrasyncytiale Verdichtung	0.08 - 0.15	0.09 - 0.18	0.11 - 0.20
Durchmesser Dottervesikel (DV)	0.5 - 2.5	0.3 - 0.8	0.8 - 2.4
Durchmesser Sekretvesikel (SK), der sich im Lakunensystem des Acanthors befindet	0.064 - 0.98	0.050 - 0.088	0.024 - 0.026
Durchmesser Sekretvesikel (SK), der sich außerhalb des Acanthors über Ausführgängen des fusionierten Kryptensystems befindet	0.055 - 0.073	-	0.022 - 0.028
Durchmesser Lipidtropfen (L)	0.2 - 0.3	0.1 - 0.18	0.5 - 1.7
Alle Angaben zu dem fusionierten Kryptensystem der Acanthoren sind in Tabelle 12 auf Seite 167 zusammengestellt.			

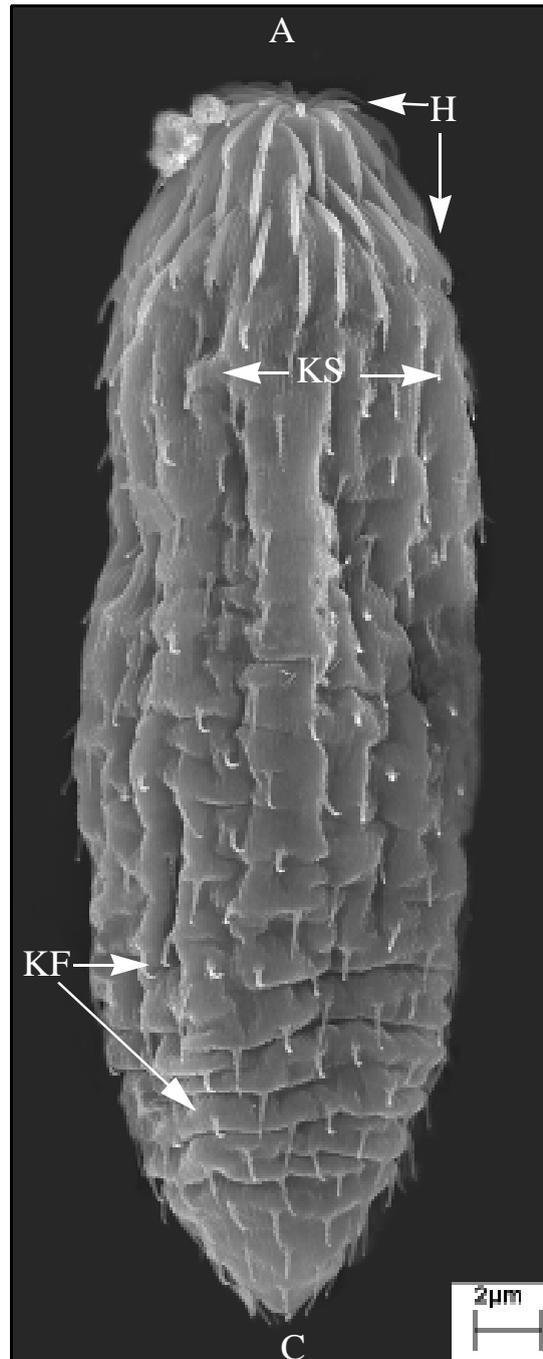


**Abbildung 57** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von geschlüpften Acanthocephalen *M. moniliformis*, die unterschiedliche Hakenstellungen aufweisen. **a)** Geschlüpfter Acanthor, der die Haken an seinem Vorderende angelegt hat. **b)** Geschlüpfter Acanthor, der die Haken an seinem Vorderende etwas abgespreizt hat. **c)** Geschlüpfter Acanthor, der die Haken an seinem Vorderende vollständig abgespreizt hat.

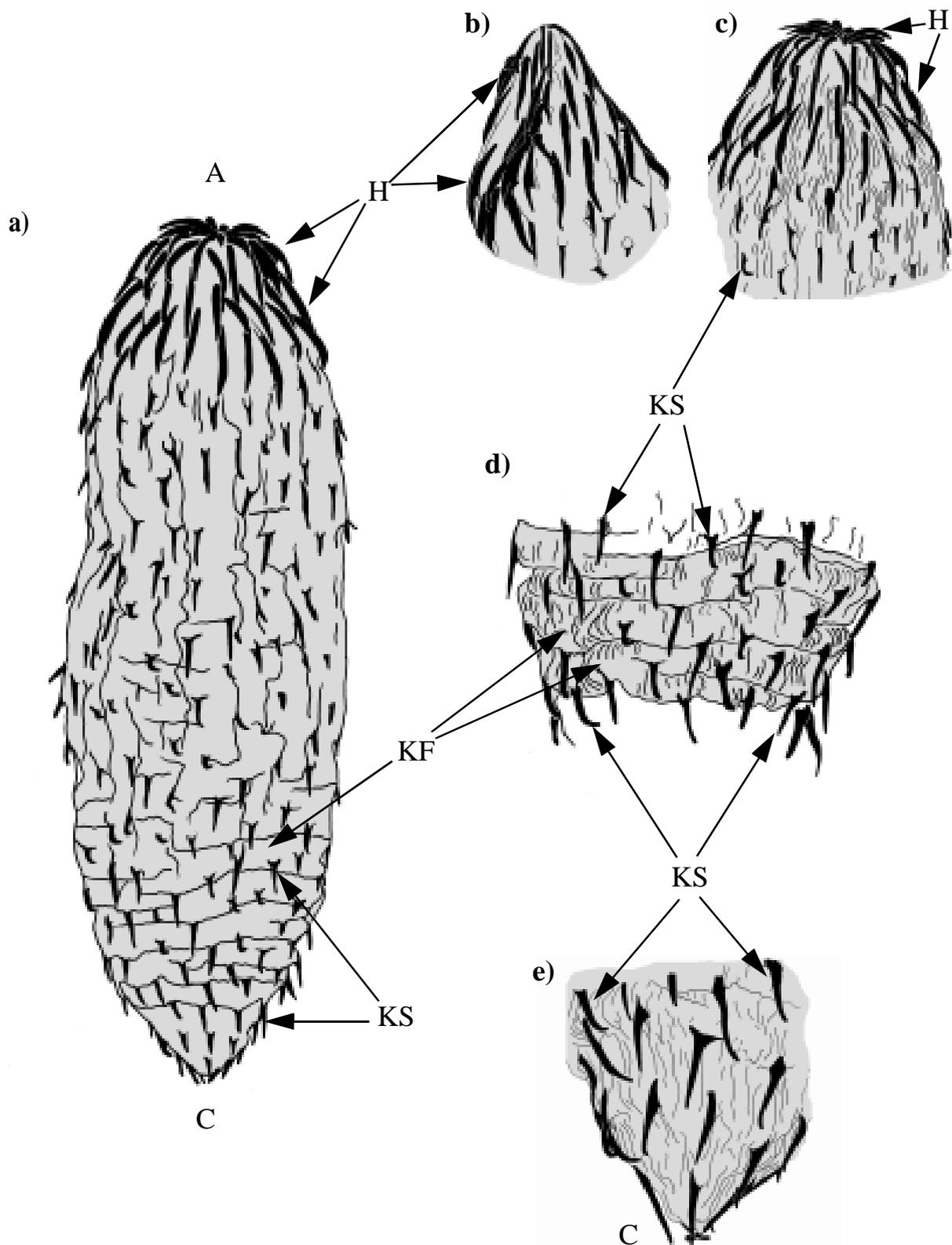
A: apikal, C: caudal, H: Haken, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel



**Abbildung 58** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von geschlüpften Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*. **a)** *In-vitro*-geschlüpfter Acanthor, dessen apikaler Pol nach links zeigt. **b)** *In-vitro* geschlüpfter Acanthor, dessen apikaler Pol nach rechts zeigt. A: apikal, C: caudal, H: Haken, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel

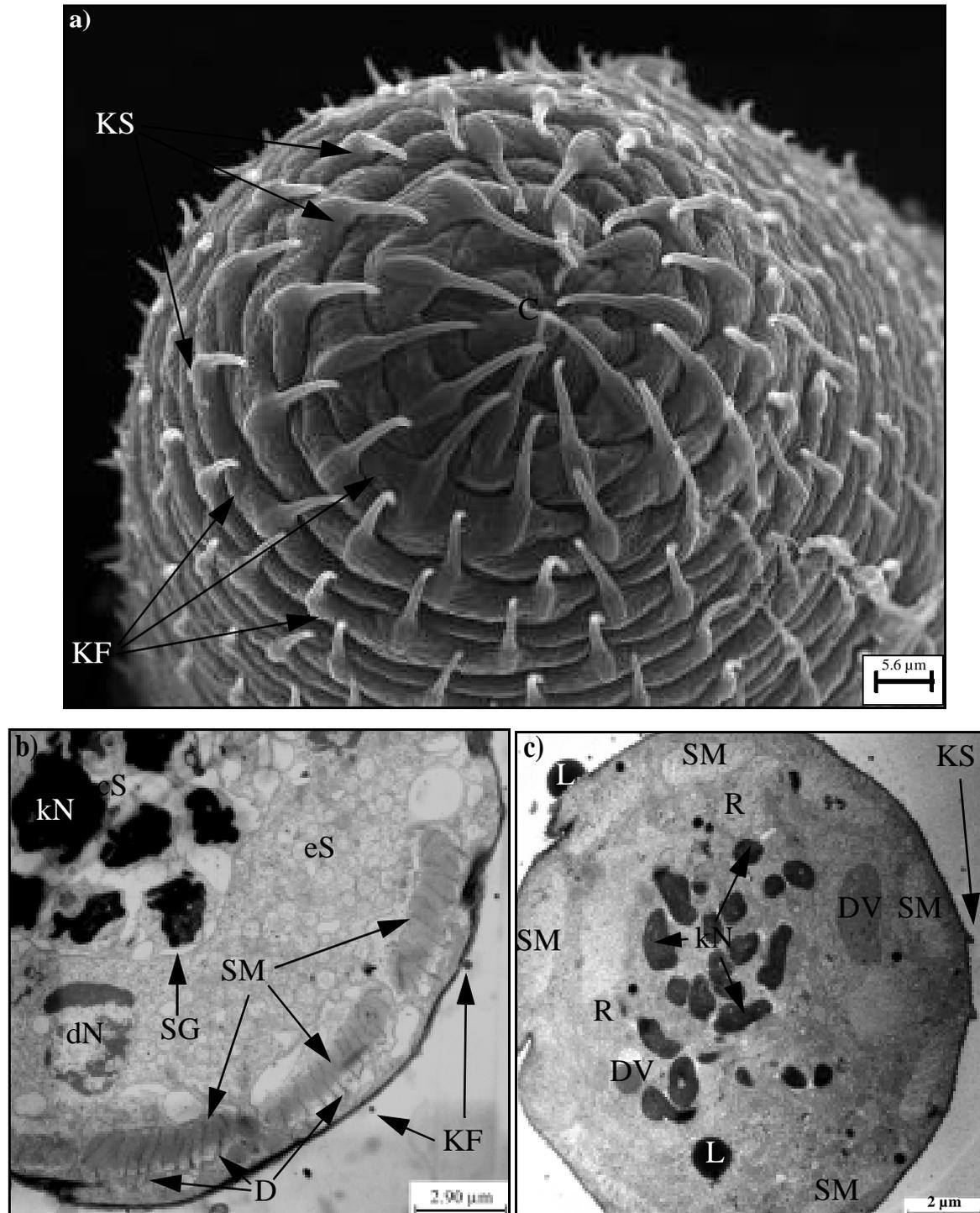


**Abbildung 59** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von einem *in-vitro*-geschlüpften Acanthoren des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*. A: apikal, C: caudal, H: Haken, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel



**Abbildung 60** Graphische Darstellung eines charakteristischen Acanthors von *P. ambiguus*.

**a)** Gesamter Acanthor. **b)** Detail des apikalen Pols des Acanthors. **c)** Die apikalen Haken des Acanthors sind abgespreizt. **d)** Detailzeichnung der Körperfalten im mittleren Körperbereich. **e)** Detailzeichnung des caudalen Acanthorpols. A: apikal, C: caudal, H: Haken, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel



**Abbildung 61** Der Querschnitt geschlüpfter Acanthoren ist nahezu kreisrund.

a) Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf den caudalen Pol eines Acanthors von *M. hirudinaceus*.

b) Transmissionselektronenmikroskopischer Querschnitt durch einen Acanthor von *M. moniliformis*.

c) Transmissionselektronenmikroskopischer Querschnitt durch einen Acanthor von *P. ambiguus*.

C: caudal, cS: zentrales Syncytium, D: Desmosom, dN: dekondensierter Nucleus, dV: Dottervesikel, eS: epidermales Syncytium, kN: kondensierter Nucleus, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel, L: Lipidtropfen, R: Retraktor-Muskel, SG: Syncytiengrenze, SM: subepithelialer Muskelstrang

### 3.10.2 Die apikalen Haken des Acanthors

Bereits das erste Larvalstadium der Acanthocephala besitzt ein Vorderende, das mit mehreren Reihen von spiralig angeordneten Haken bestückt ist (siehe Tabelle 9 auf Seite 134). Diese großen Haken, die bei den Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* "in Reihe" stehen und bei den Acanthoren von *P. ambiguus* "auf Lücke", stellen das charakteristischste Merkmal aller Entwicklungsstadien der Acanthocephalen dar. Sowohl die apikalen Haken als auch die kleineren Körperstacheln sind beim infektiösen Acanthocephalenei bereits vollständig ausgebildet (siehe Abbildung 20, 21, 25a, 31c, 30, 36b, e, 44, 51b, 57d).

Im Gegensatz zu den adulten Tieren verwenden die Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* ihre spitzen Haken aber nicht, um sich in der Darmwand ihrer Wirtstiere festzusetzen, sondern setzen sie zunächst lokal zur mechanischen Beschädigung bzw. Zerstörung der beiden inneren Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> (siehe Abbildung 44, 47, 48, 51, 96a) und anschließend der Darmwand ihres Zwischenwirtes ein. D.h., ohne ihre beweglichen Hakenreihen wären die untersuchten Acanthoren weder in der Lage sich nach ihrer Aktivierung rasch genug aus ihren Eihüllen zu befreien, noch könnten sie die massive Darmwand eines Zwischenwirtes aktiv überwinden.

Die mechanische Arbeit, die die frontalen Haken leisten, wird den Acanthoren durch die funktionelle Kombination der apikalen Bewehrung mit dem ausgeklügelten Muskulatursystem der Acanthoren ermöglicht. So sind die beiden zentral verlaufenden Retraktormuskelstränge für die Invagination bzw. Evagination des apikalen Acanthorhalses verantwortlich. Der direkte Kontakt zwischen den beiden Retraktormuskelsträngen und den Haken der Acanthoren ist jedoch minimal. Einzig am apikalen Pol der Acanthoren stehen die beiden "zentralen Hakenpaare" (siehe Abbildung 62, 64a, 69) der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* bzw. die 10 Haken der vordersten Hakenreihe des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* mit den Retraktormuskeln in direktem Kontakt. Dort inserieren die beiden Retraktormuskelstränge über Tonofilamente am Acanthorepithel und somit an der apikalen Basis der beiden "zentralen Hakenpaare" von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* bzw. der vordersten Hakenreihe von *P. ambiguus* (siehe Abbildung 67, 73, 74, 78). Möglicherweise inserieren kleine Teile der Retraktormuskulatur in der cytoplasmatischen Zone der "zentralen Hakenpaare" (siehe Abbildung 74). Trotz dieser minimalen Muskelkontakte der apikalen Haken bewirkt jede Kontraktion bzw. Dehnung der Retraktormuskulatur, dass diese frontalen Haken eine "Säge-" bzw. "Schneidbewegung" durchführen. Daher verändert sich die Position der apikalen Haken während die Acanthoren ihre rhythmischen, stereotypen Bewegungszyklen durchführen zwischen den Stellungen "vollständig invaginiert" und "vollständig evaginiert", d.h., bei einer vollständigen Kontraktion der Retraktormuskulatur sind die apikalen Haken vollständig invaginiert und bei einer vollständigen Relaxation der Retraktormuskulatur sind die Haken vollständig evaginiert (siehe Abbildung 57, 62, 64a, 69). Die Acanthoren können somit ihre apikalen Haken

aktiv und äußerst flexibel einsetzen. Sie sind aufgrund von cytoplasmatischen Strömungen sogar in der Lage ihre Haken aufzurichten oder lateral umzuklappen (siehe Abbildung 20, 62a-b, 63a, 64a-b, 65d).

Gleichzeitig ändert sich auch die Richtung, in der die Hakenspitzen zeigen. Je nach Phase des Bewegungszyklusses können die Spitzen der einzelnen apikalen Haken entweder nach vorne zeigen (siehe Abbildung 62b, 64a) oder sie sind nach caudalwärts umgeklappt (siehe Abbildung 64b, 65, 70, 72, 73, 75b, 77, 78, 79). Außerdem sind die Haken während ihres Bewegungsablaufes entweder eng an den Körper des Acanthors angelegt (siehe Abbildung 63b, 65b-c, 69b, 72b, 77b, 79a-b) oder mehr oder weniger weit von ihrem Körper abgespreizt (siehe Abbildung 62a, 64b-c, 65a, 71d, 70b, 72a, 79c).

Bei den apikalen Haken der Acanthoren handelt es sich um massive Gebilde, die in ihrer Größe stark variieren (siehe Tabelle 9 auf Seite 134). Die beiden Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* besitzen zwei "zentrale Hakenpaare" (siehe Abbildung 62, 64a, 69), die die größten Haken dieser Parasitenarten darstellen. Alle übrigen Haken dieser Acanthocephalen sind deutlich kleiner als diese vier riesigen "zentralen Haken". Der Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* besitzt dagegen keine zentralen Hakenpaare, so dass die apikalen Haken dieser Acanthocephalenart keine derartig großen Differenzen in ihrer Größe aufweisen (siehe Abbildung 77). Im Gegensatz zu den beiden Archiacanthocephalen nimmt die Länge der apikalen Haken des Acanthors von *P. ambiguus* caudalwärts jedoch deutlich zu (siehe Abbildung 77 und Tabelle 9 auf Seite 134). Bei *P. ambiguus* sitzen somit die kleinsten Haken in der vordersten Hakenreihe und die größten Haken in der hintersten Hakenreihe (siehe Abbildung 59, 60, 77).

Die robusten Haken der untersuchten Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* werden intrazellulär durch Ausstülpung der apikalen Plasmamembran und der sie unterlagernden intrasyncytialen Verdichtung gebildet (siehe Abbildung 67, 68, 72a, 73, 74). Zur Stabilisierung der Haken bildet die die Plasmamembran unterlagernde intrasyncytiale Verdichtung an der Basis der Haken eine Art "Widerlager" aus und wölbt sich mehr oder weniger weit in das Cytoplasma des entsprechenden Acanthors hinein (siehe Abbildung 67, 68). Um die apikalen Haken besonders widerstandsfähig zu machen, findet eine kappenförmige Sklerotisierung dieser spitzen Haken statt. Die Sklerotisierung der Haken ist an ihrem apikalen Pol am stärksten ausgeprägt und nimmt in Richtung ihrer Basis bzw. nach innen hin ab (siehe Abbildung 67, 68, 72a, 73, 79c-e). Diese sklerotisierte Zone ist bei den Acanthoren von *M. moniliformis* 0.39-0.44  $\mu\text{m}$ , bei den Acanthoren von *M. hirudinaceus* 0.13-0.32  $\mu\text{m}$  und bei den Acanthoren von *P. ambiguus* 0.39-0.59  $\mu\text{m}$  dick. An diese sklerotisierte Zone der Haken schließt sich eine Zone an, die von ihrer Beschaffenheit der intrasyncytialen Verdichtungszone entspricht. Die Basis dieser Haken ist bei allen drei untersuchten Acanthocephalenarten durch einen kegelförmigen, cytoplasmahaltigen Kernbereich

geprägt (siehe Abbildung 67, 68a, 72, 73, 74, 76, 78, 78b). Das Cytoplasma der Haken steht über eine zentrale Öffnung in der Hakenbasis mit dem übrigen Cytoplasma der Acanthoren in direktem Kontakt (siehe Abbildung 67, 68a, 73, 74, 78b).

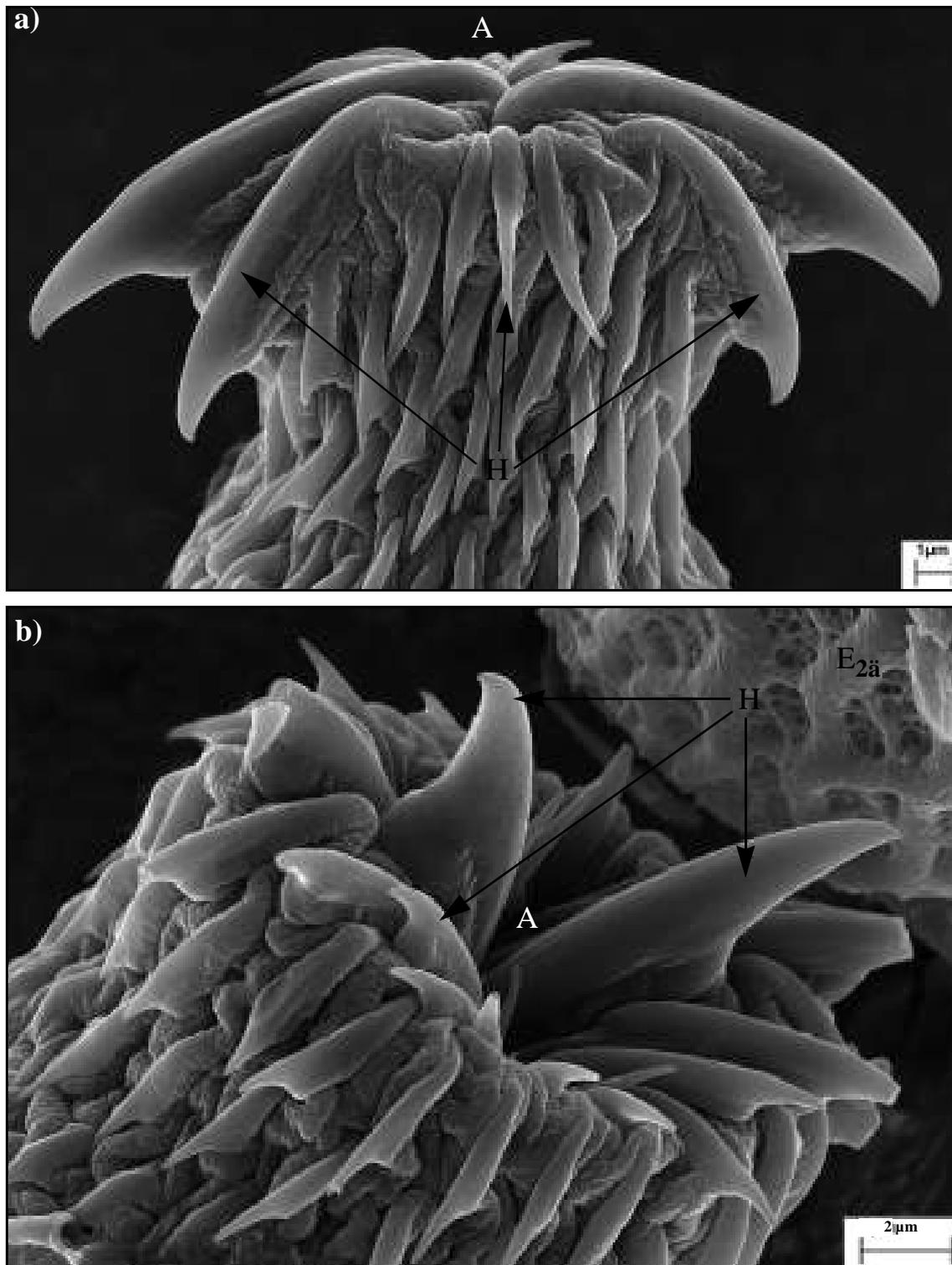
Die den apikalen Pol der Acanthoren dominierenden Haken besitzen sowohl bei den Acanthoren von *M. moniliformis*, als auch den Acanthoren von *M. hirudinaceus* sowie den Acanthoren von *P. ambiguus* eine länglich-ovale Basis, mit der sie am Acanthorepithel ansetzen. Von ihrer Basis aus verlaufen die robusten Haken aller drei Acanthocephalenarten mehr oder weniger stark gekrümmt (siehe Abbildung 62a, 63a, 64b, 65, 69, 70, 72b, 73, 75a, 77, 78, 79). Dadurch weisen die Haken eine sichelförmige bzw. enterhakenförmige äußere Gestalt auf, wodurch die Spitze der Haken bei entspannter Retraktormuskulatur stets caudalwärts zeigt. Um die Darmwand des Zwischenwirts besonders effektiv zerstören zu können, verjüngen sich die apikalen Haken in Richtung ihrer Spitze deutlich und laufen an ihrem massiven Ende äußerst spitz zu. Der Querschnitt der Haken ist stets nahezu kreisrund (siehe Abbildung 76, 79b).

Sowohl in einigen apikalen Haken als auch einigen Körperstacheln ist median elektrodichte Matrix (Lipid?) angereichert (siehe Abbildung 79b). Dies deutet auf einen Kanal hin, der zentral durch die Haken bzw. Körperstacheln verläuft. Tatsächlich ist die gesamte Spitze der apikalen Haken jedoch bei allen untersuchten Acanthoren massiv gebaut und weist keinerlei Kanal zur Ausscheidung von Enzymen, Sekretgranula bzw. Schmierstoffen auf (siehe Abbildung 62b, 64c, 66, 71, 72b, 75b, 79b). Dafür sind Krypten des fusionierten Kryptensystems eindeutig in der eigentlichen Hakenbasis vorhanden (siehe Abbildung 67, 73a, 78, 79c). Auch in unmittelbarer Nähe der Hakenbasen ist die apikale Oberfläche der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* durch unzählige Poren des fusionierten Kryptensystems durchbrochen (siehe Abbildung 63b, 67, 68, 78 u. 3.10.5).

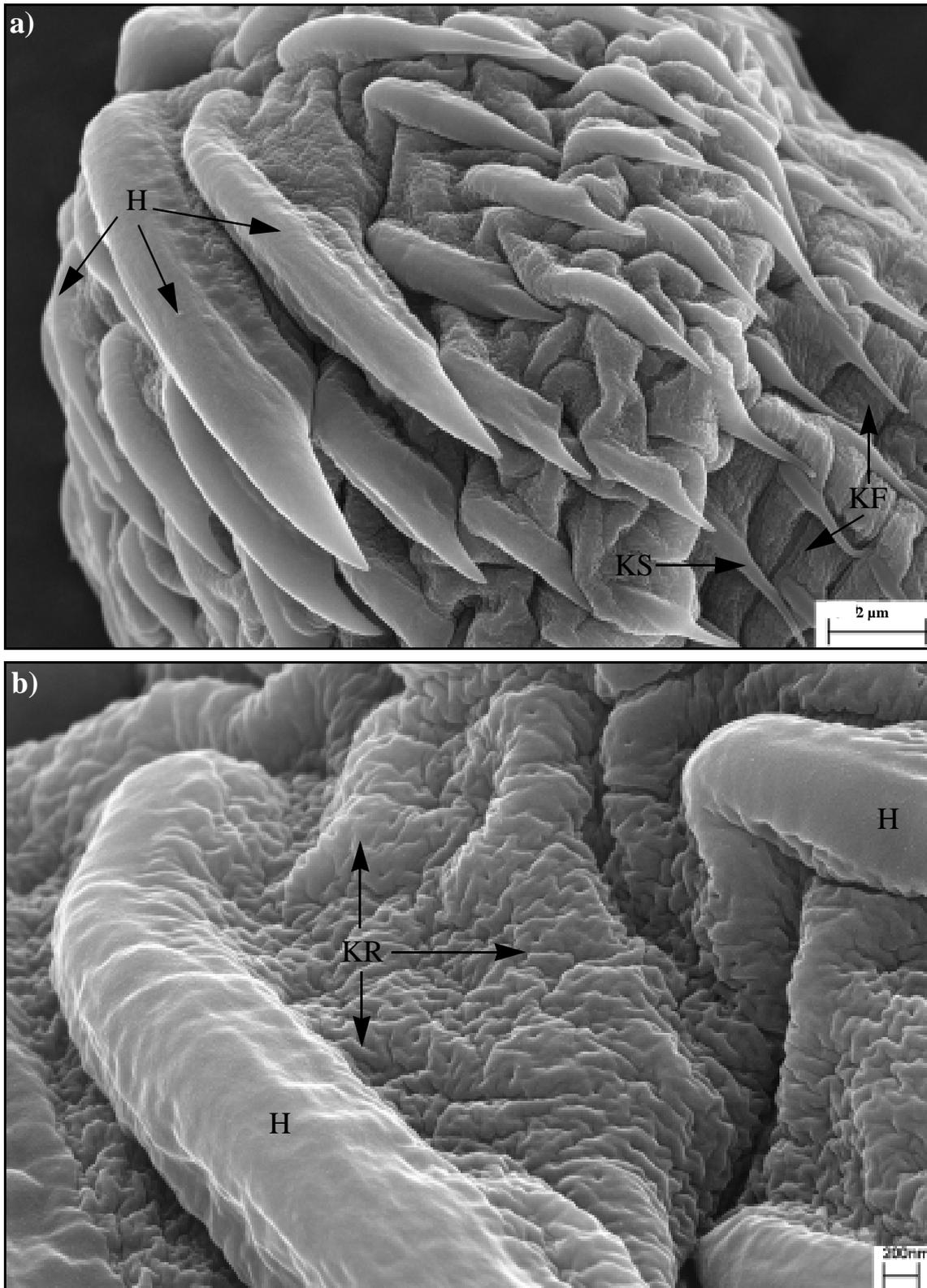
Die Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen besitzen an ihrem apikalen Pol jeweils vier Reihen von kreisförmig angeordneten, massiven Haken, die caudalwärts ihre Größe deutlich verringern. D.h., die größten Haken ("central blades") dieser Acanthoren sitzen im Gegensatz zu den Haken des Acanthors von *P. ambiguus* direkt am apikalen Acanthorpol. Diese apikalen Haken sind zwischen 9.2  $\mu\text{m}$  und 15.8  $\mu\text{m}$  lang (siehe Tabelle 9 auf Seite 134). Die 80-92 Haken der vier apikalen Hakenreihen sitzen bei den Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* stets "in Reihe".

Der Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* besitzt in vier symmetrisch um den apikalen Pol des Acanthoren angeordneten Reihen 76-80 "auf Lücke" sitzende Haken, die für die mechanische Zerstörung der Darmwand des Gammariden *G. tigrinus* verantwortlich sind (siehe Abbildung 59, 60, 77 und Tabelle 9 auf Seite 134). "Zentrale Hakenpaare" sind bei dem Acanthor von *P. ambiguus* nicht vorhanden (siehe Abbildung 77). Dabei ist ein deutlicher Größenunterschied zwischen den Haken der vordersten Reihe und den Haken der drei caudalwärts nachfolgenden Reihen zu erkennen. Die vorderste Hakenreihe besteht aus 10 kleinen Haken, die durchschnittlich 1.7  $\mu\text{m}$  lang und über weite Strecken 0.2  $\mu\text{m}$  breit sind. Die apikalen Haken der drei hinteren Reihen, die sich in der Regel etwa 0.7-0.8  $\mu\text{m}$  über die Acanthoroberfläche erheben, sind

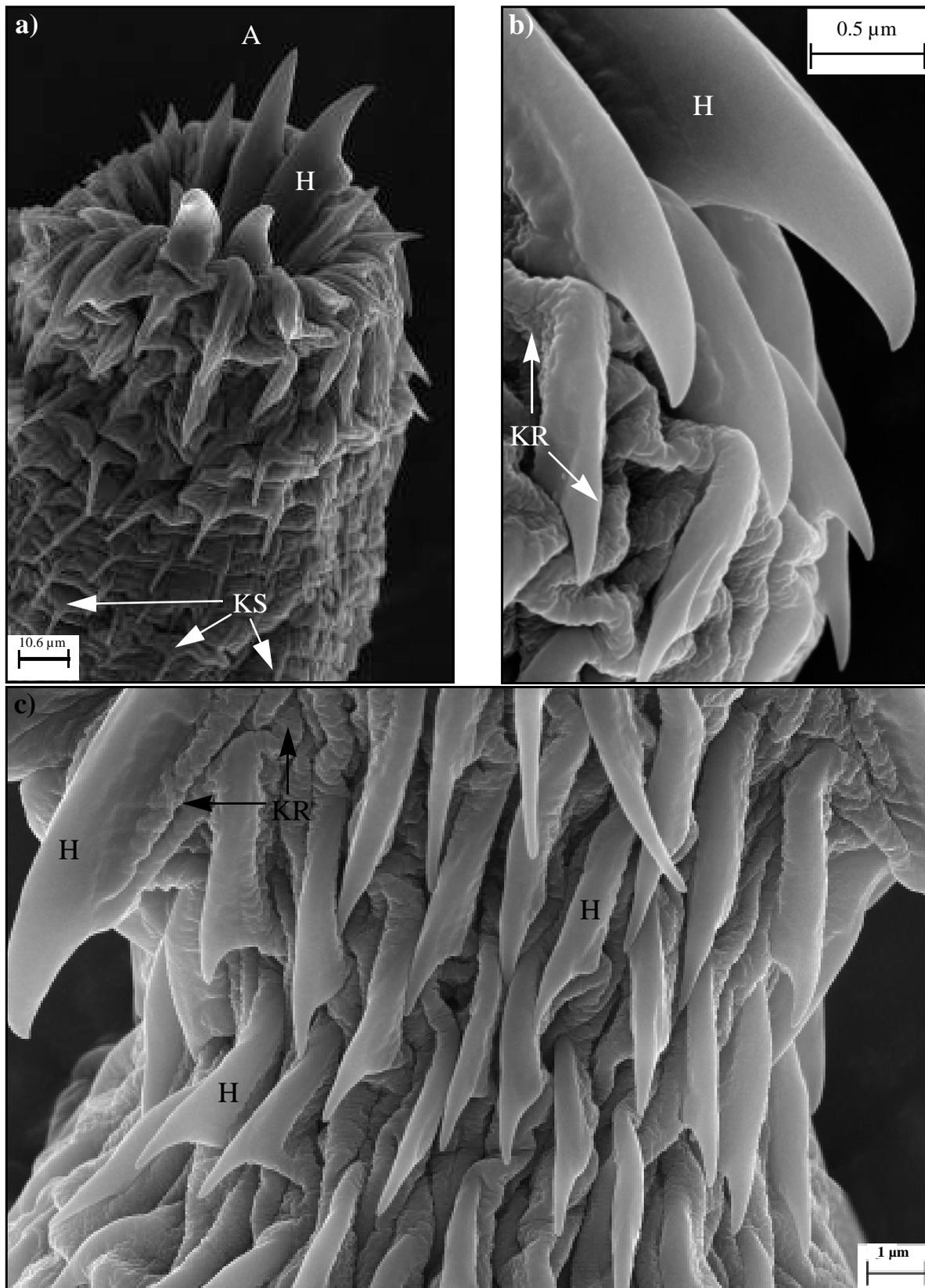
dagegen durchschnittlich  $3.0\ \mu\text{m}$  lang und an ihrer Basis  $0.5\ \mu\text{m}$  breit. Die drei hinteren Hakenreihen besitzen normalerweise zwischen 21-24 Haken. Die Hakenspitzen aller apikalen Haken des Acanthors von *P. ambiguus* besitzen einen durchschnittlichen Durchmesser von  $0.1\ \mu\text{m}$  (siehe Tabelle 9 auf Seite 134).



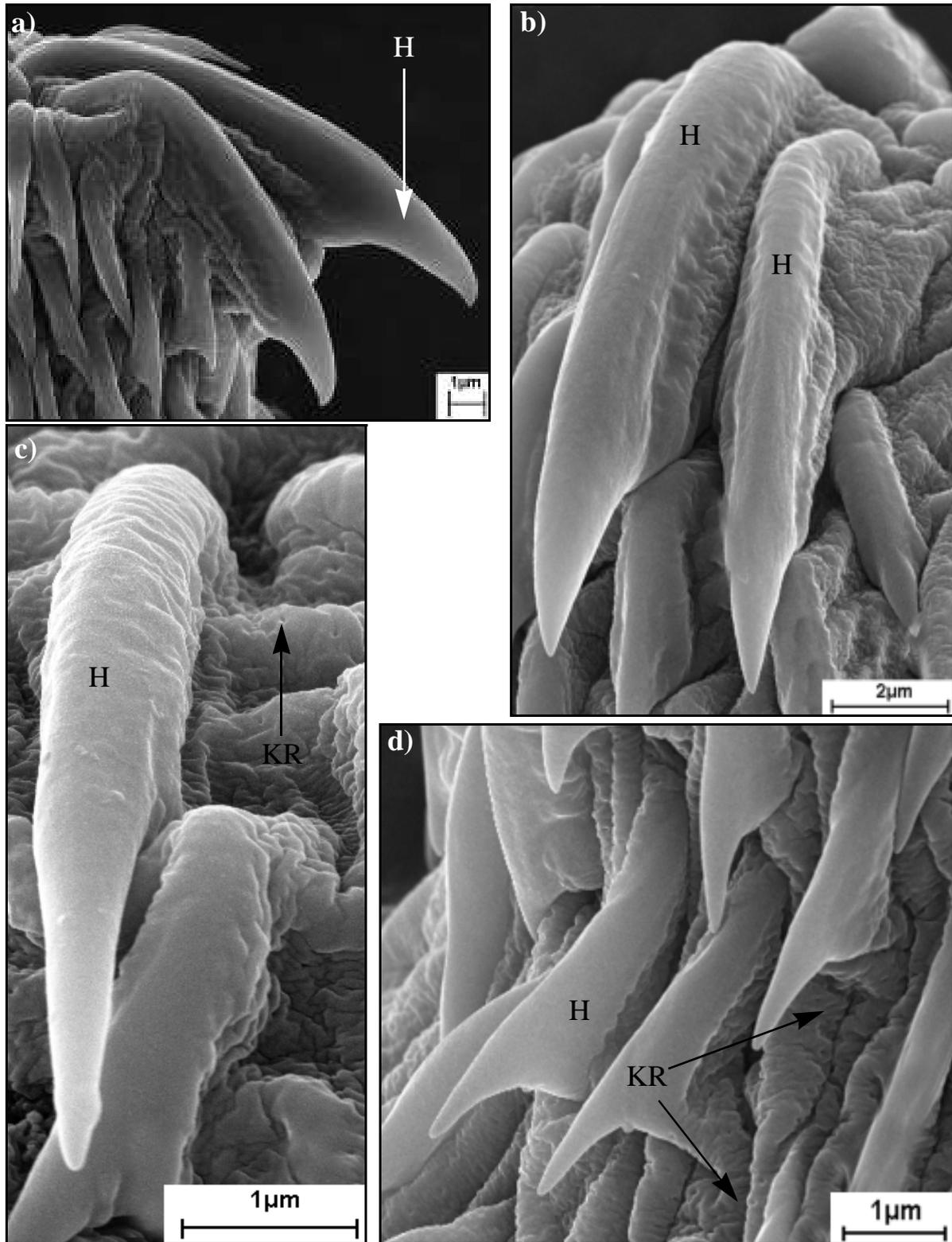
**Abbildung 62** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf das hakenbewehrte Vorderende des Acanthors von *M. moniliformis* mit unterschiedlichen Hakenstellungen. **a)** Vorderende des Acanthors mit abgespreizten Haken. **b)** Vorderende des Acanthors mit eingezogenen Haken. A: apikal,  $E_{2a}$ : äußerer Teil der Eihülle  $E_2$ , H: Haken



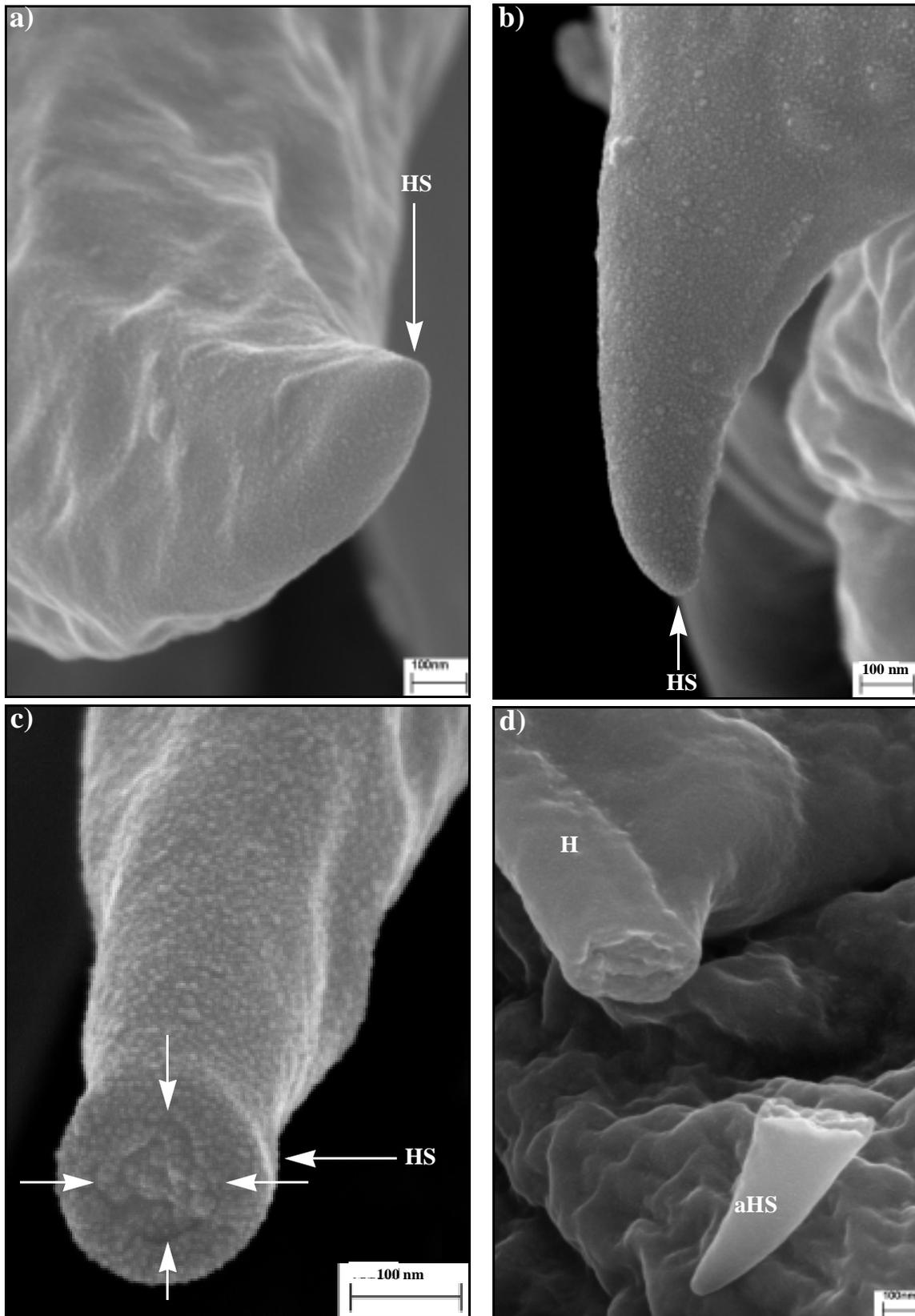
**Abbildung 63** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf das Vorderende eines Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Vorderende eines Acanthors von *M. moniliformis* mit caudalwärts gerichteten, angelegten Haken. **b)** Detailaufnahme einer Hakenbasis in der unmittelbaren Nähe des apikalen Pols eines Acanthors von *M. moniliformis*. Deutlich sind die zahlreichen Krypten in Hakennähe zu erkennen. *H*: Haken, *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte, *KS*: Körperstachel



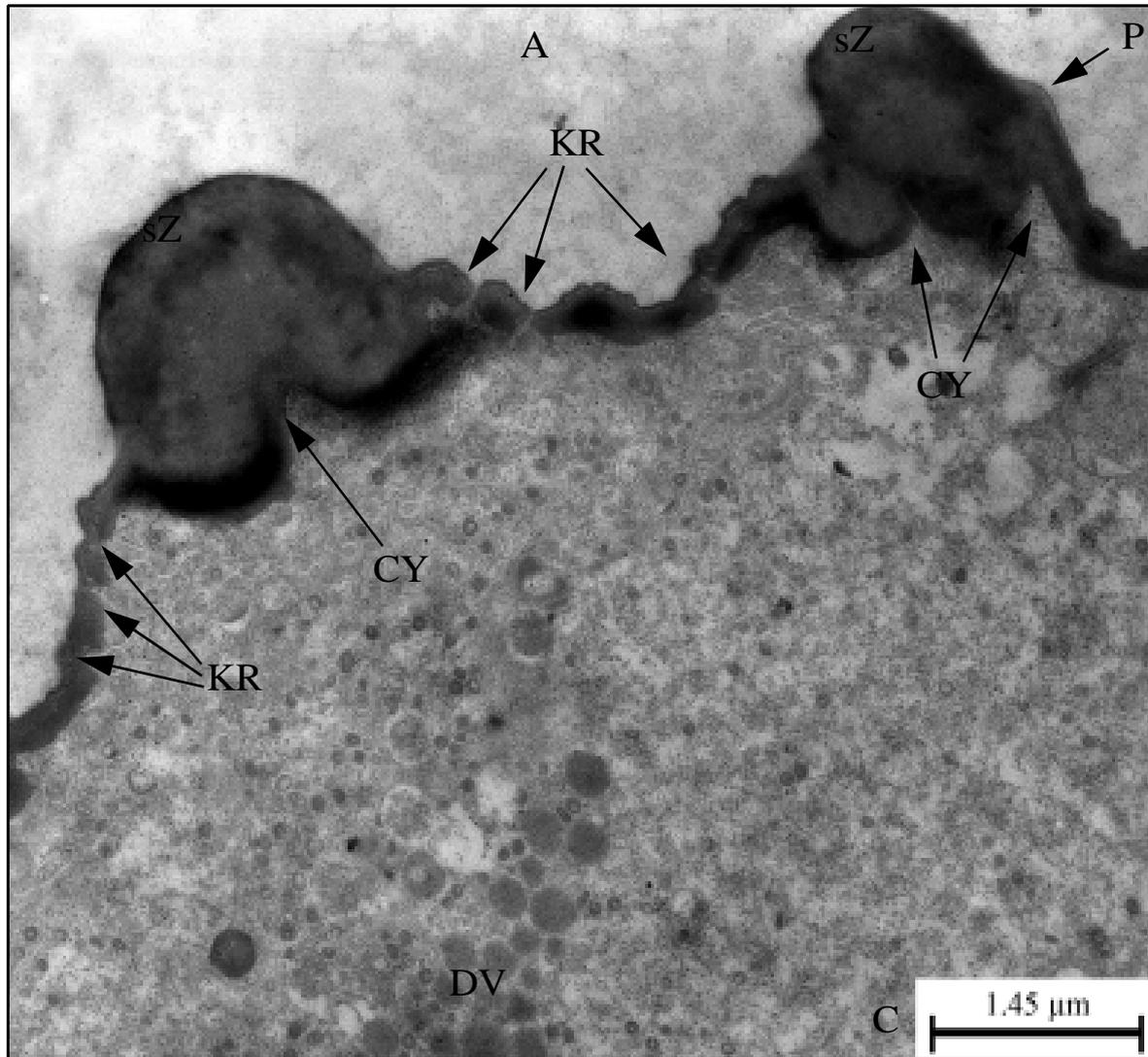
**Abbildung 64** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf das Vorderende von geschlüpften Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*. **a)** Acanthor mit vollständig eingestülpten Haken. **b)** Detailaufnahme von Haken und Körperstacheln. **c)** Aufsicht auf den Übergangsbereich zwischen Vorderende und Hinterleib, den sogenannten "Halsbereich" des Acanthors. *A*: Apikal, *H*: Haken, *KR*: Krypte, *KS*: Körperstachel



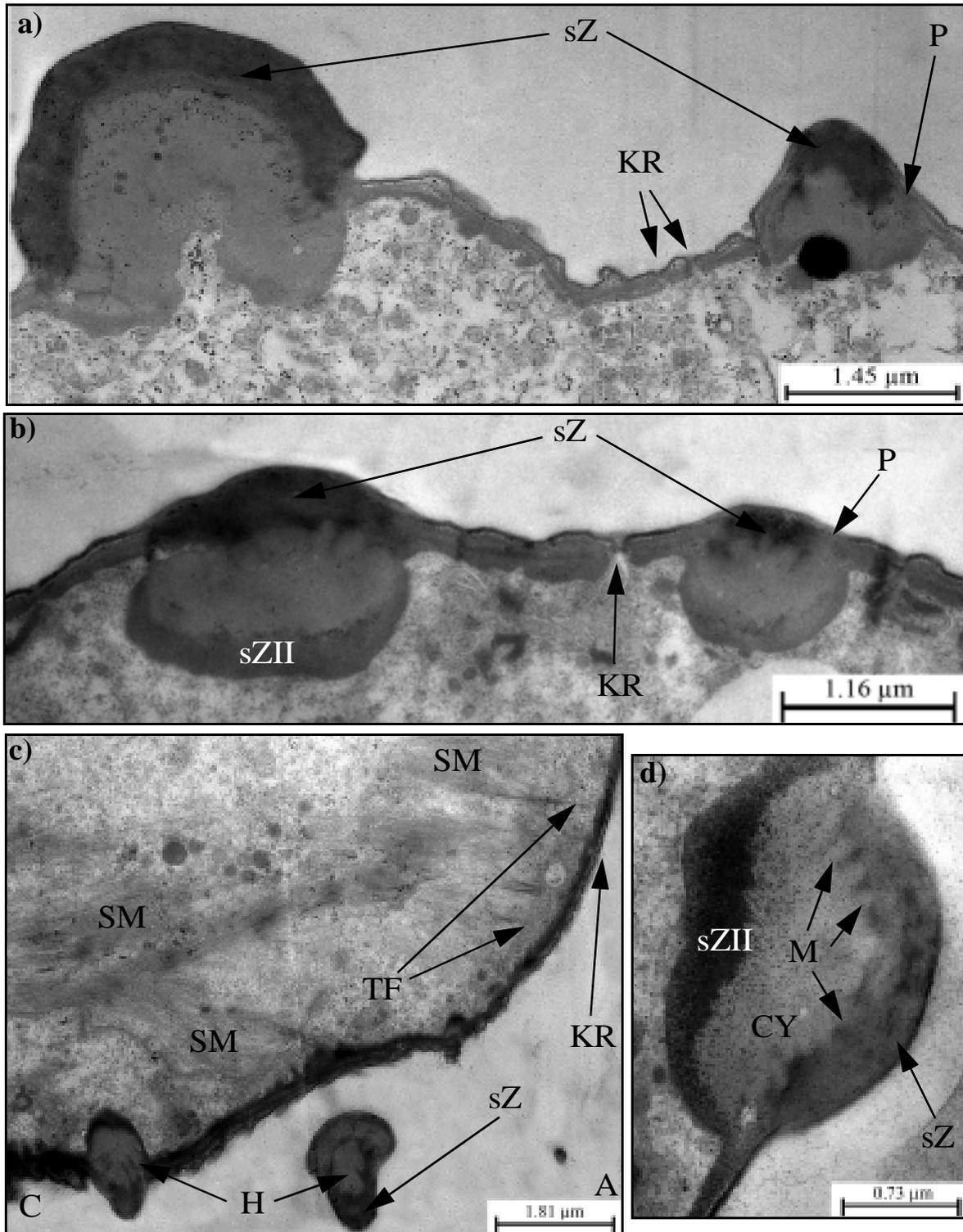
**Abbildung 65** Die Haken des Acanthors von *M. moniliformis* in rasterelektronenmikroskopischen Aufsichten. **a)** Die Haken des Acanthors von *M. moniliformis* sind von beeindruckender Größe und können aktiv bewegt werden. **b)** Hat der Acanthor die Haken angelegt, zeigen die Hakenspitzen caudalwärts. **c)** Detailaufnahme eines einzelnen Acanthorhakens. **d)** Blick auf die kleinsten apikalen Haken. *H*: Haken, *KR*: Krypte



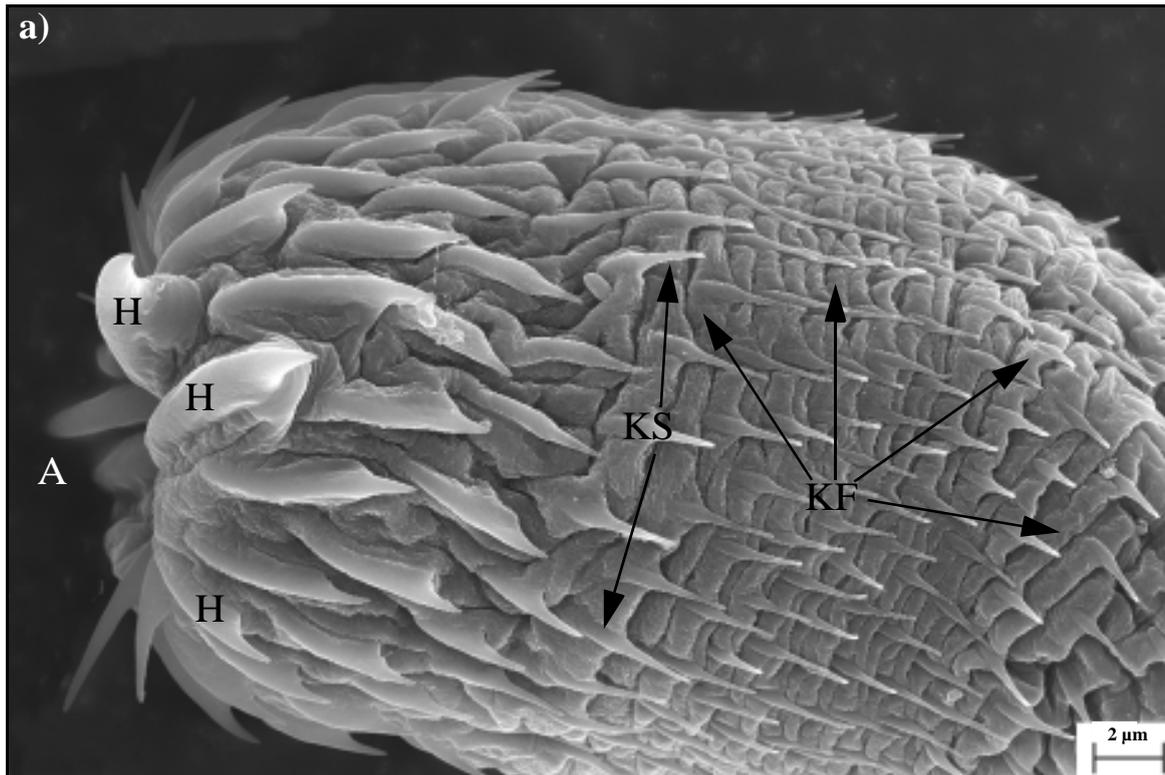
**Abbildung 66** Rasterelektronenmikroskopische Detailaufblicke auf die Haken des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Aufblick auf einen einzelnen Haken von vorne. **b)** Seitlichen Aufblick auf einen Einzelhaken. **c)** Direkte Aufsicht auf die Spitze eines Acanthorhakens. **d)** Aufsicht auf einen durchgebrochenen Haken. *aHS*: abgebrochene Hakenspitze, *H*: Haken, *HS*: Hakenspitze



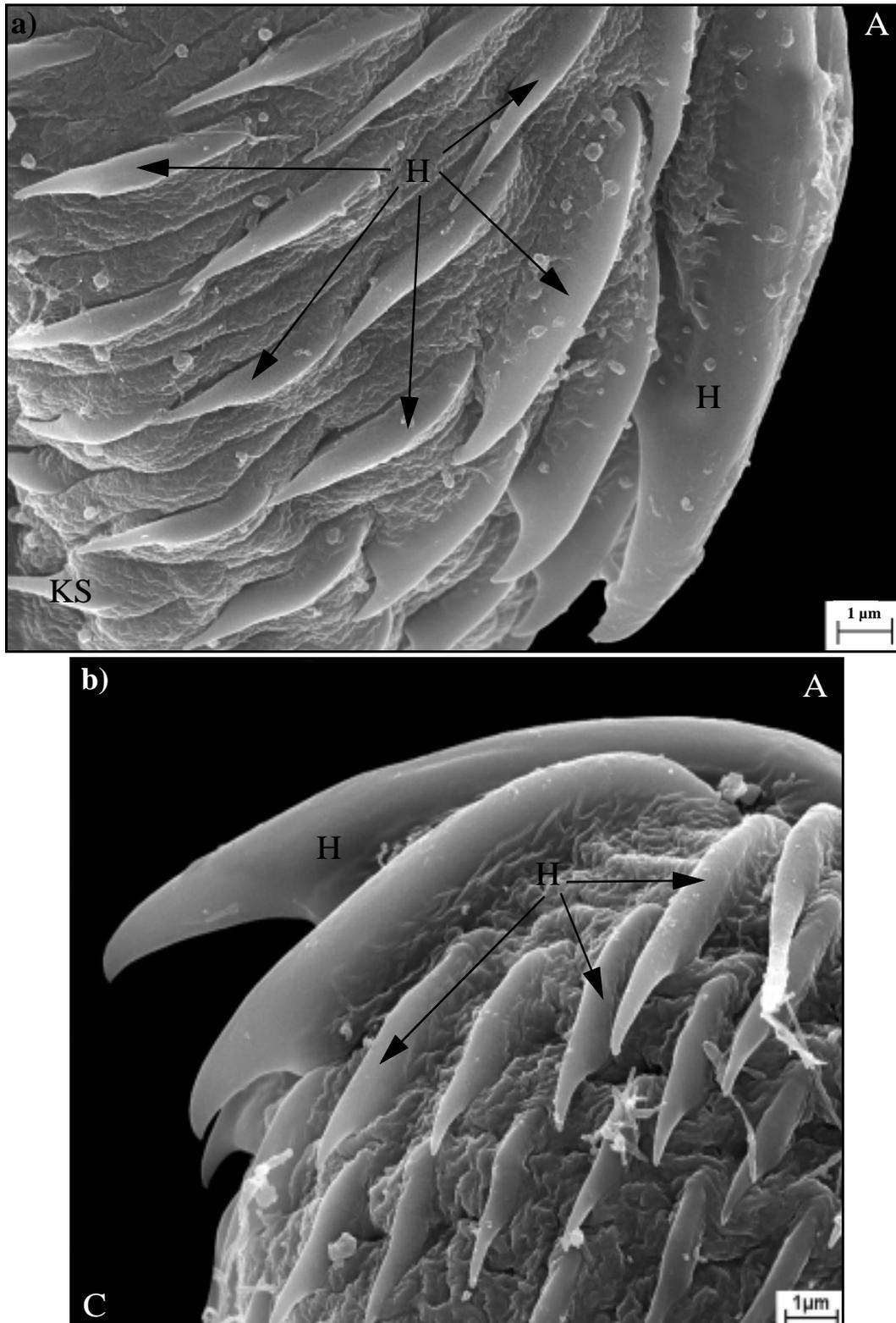
**Abbildung 67** Transmissionselektronenmikroskopischer Längsschnitt durch den apikalen Pol des Acanthors von *M. moniliformis*. A: apikal, C: caudal, CY: cytoplasmatische Zone des basalen Hakenbereichs, DV: Dottervesikel, KR: Krypte, P: Plasmamembran, sZ: sklerotisierte Zone der apikalen Haken



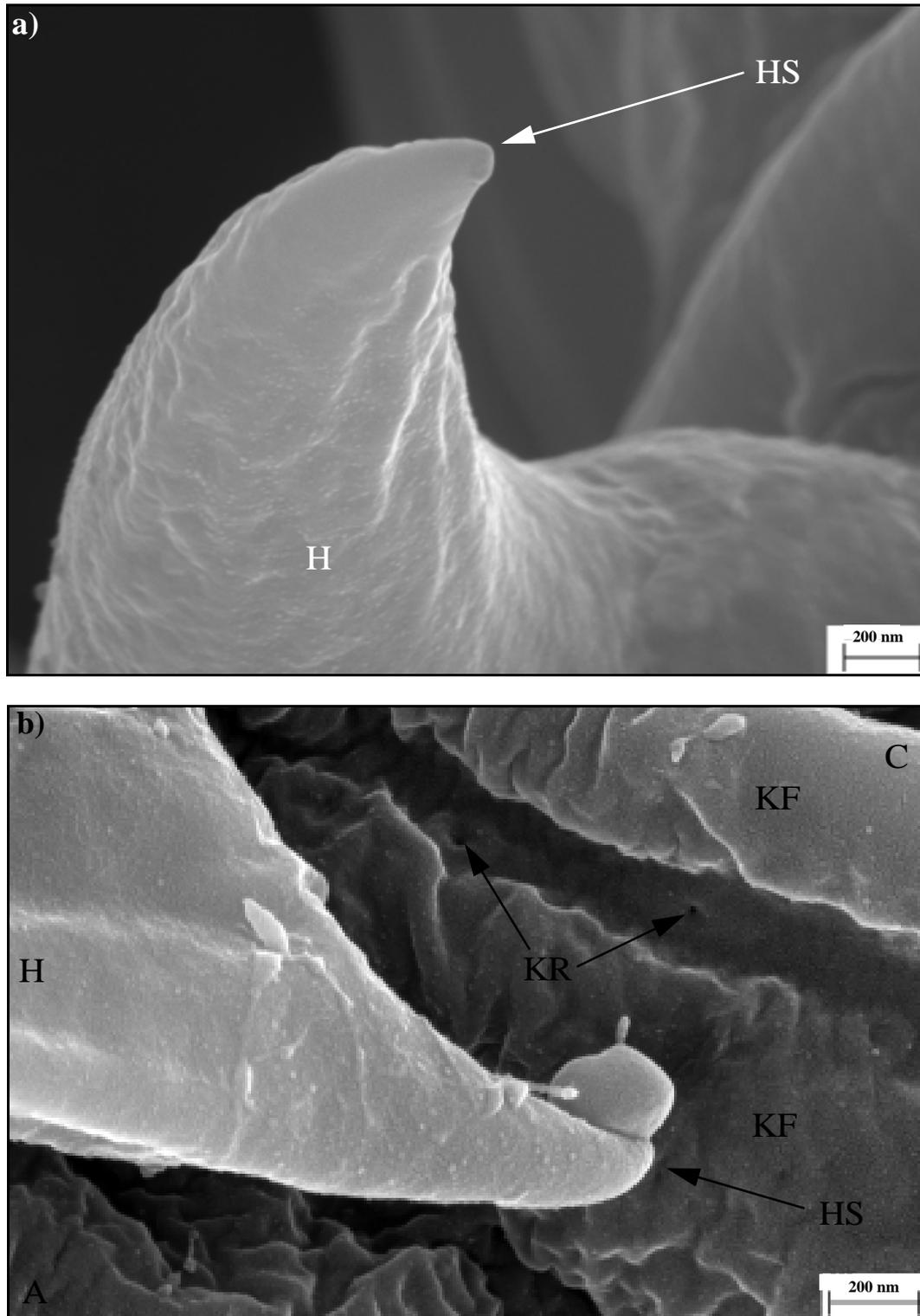
**Abbildung 68** Transmissionselektronenmikroskopischer Längsschnitt durch Haken bzw. Körperstachel des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Längsschnitt durch die Basis zweier apikaler Haken. **b)** Aufbau der Hakenbasis. **c)** Hakenlängsschnitt mit Muskulaturansatz. **d)** Längsschnitt durch einen einzelnen Haken. A: apikal, C: caudal, CY: cytoplasmatische Zone des basalen Hakenbereichs, H: Haken, KR: Krypte, M: Muskelansatz, P: Plasmamembran, SM: subepitheliale Muskulatur, sZ: sklerotisierte Zone des apikalen Haken, sZII: sklerotisierte Zone des basalen Haken, TF: Tonofilamente als Anheftungsstrukturen



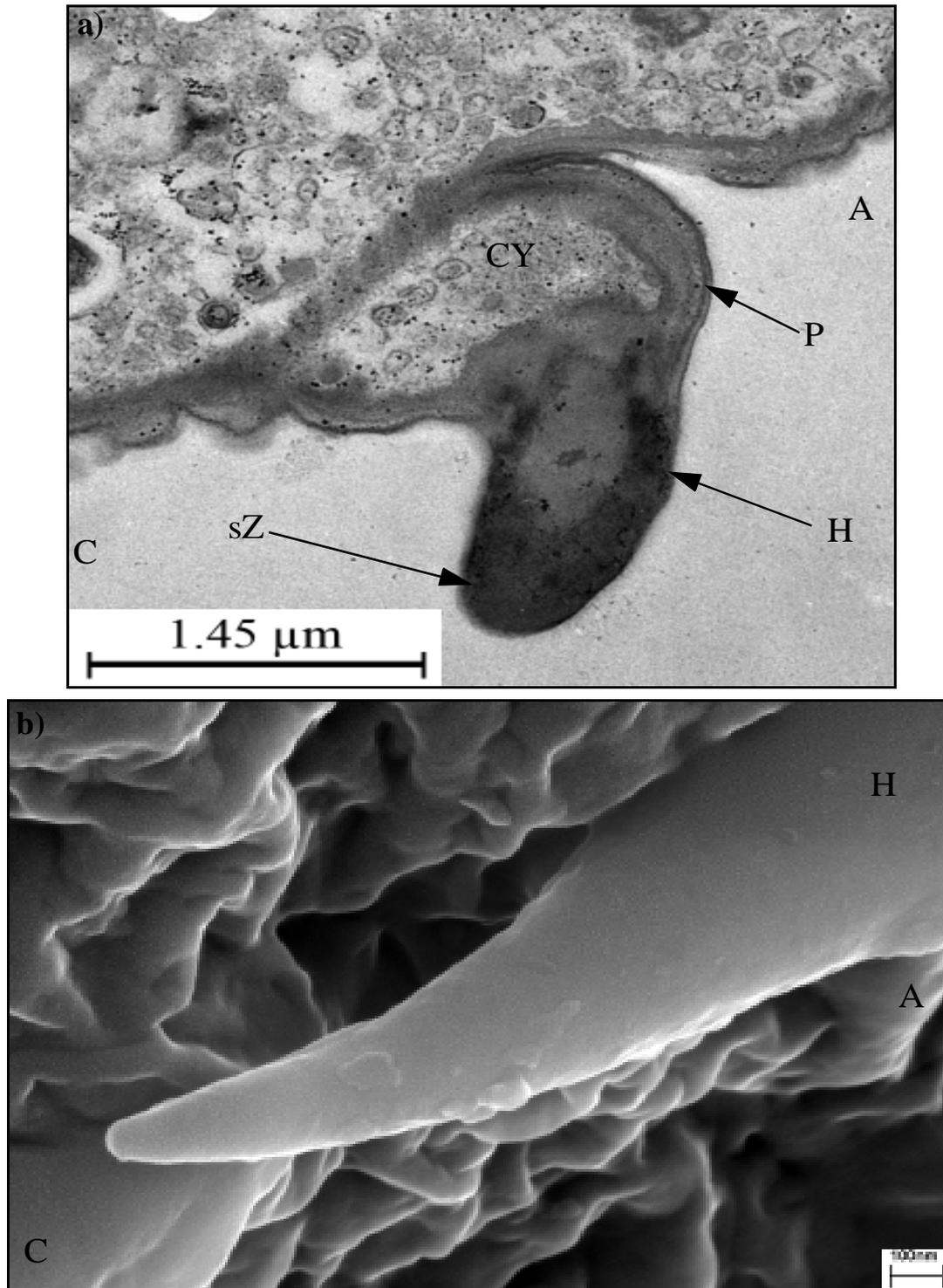
**Abbildung 69** Rasterelektronenmikroskopische Aufsicht auf den vorderen Körperbereich des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Seitlicher Blick auf den apikalen Pol eines geschlüpften Acanthors. **b)** Schräger Blick auf den apikalen Pol eines geschlüpften Acanthors. A: apikal, H: Haken, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel



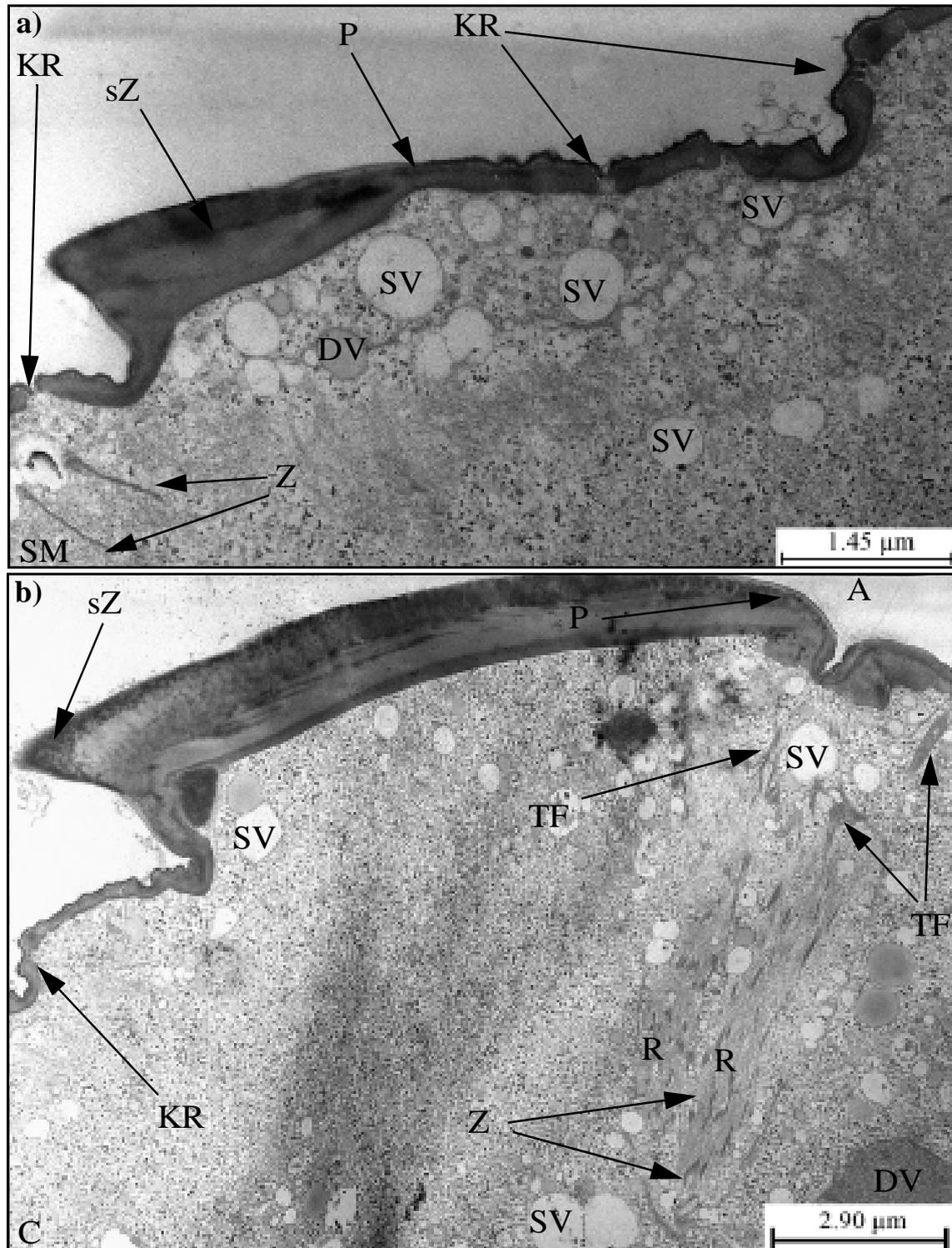
**Abbildung 70** Elektronenmikroskopische Detailaufnahmen der apikalen Haken des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf die großen, apikalen Haken. **b)** Die vordersten Haken sind etwas abgespreizt. A: apikal, C: caudal, H: Haken, KS: Körperstachel



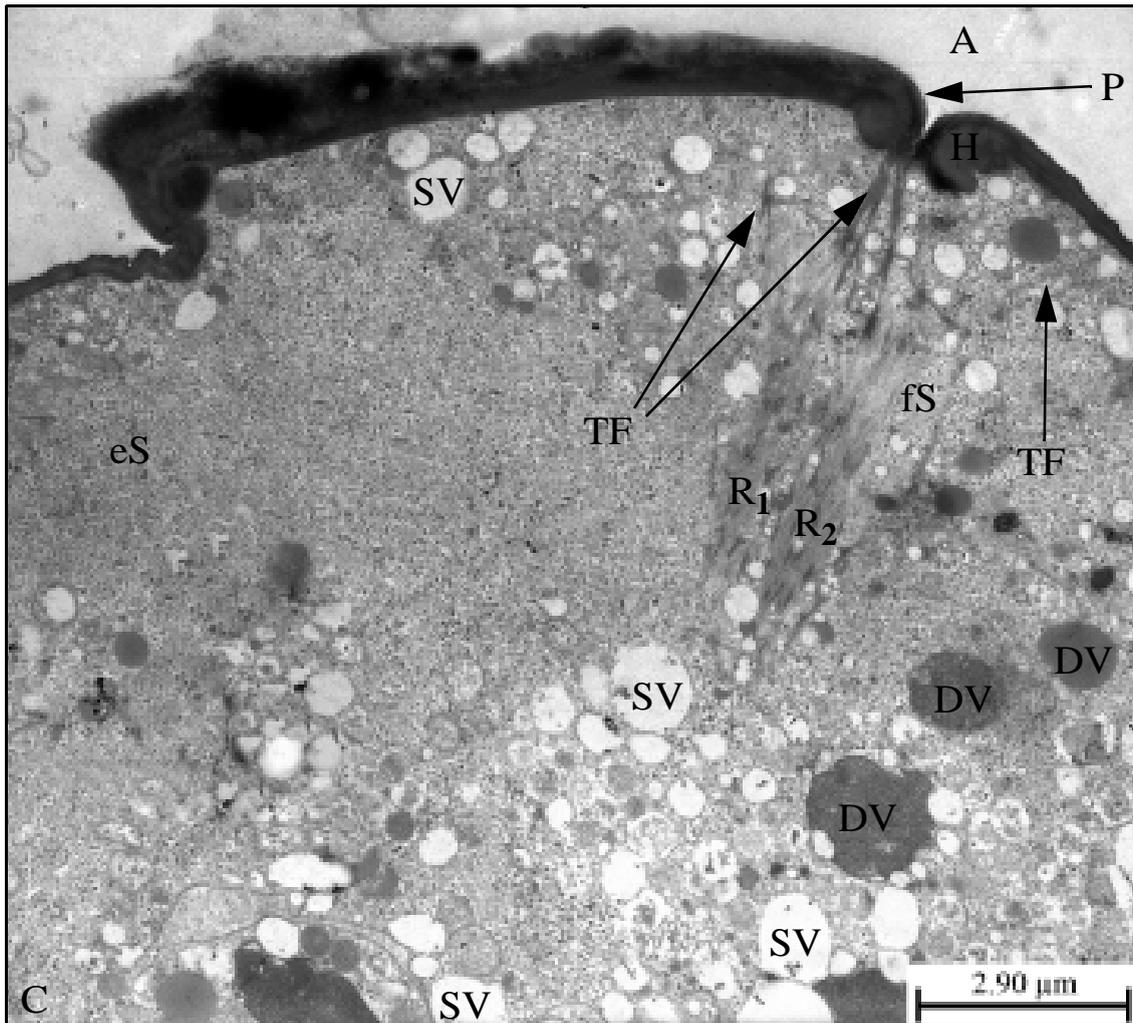
**Abbildung 71** Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahmen der Spitze der apikalen Haken des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Blick von hinten auf die Hakenspitze. **b)** Blick seitlich auf die Hakenspitze. A: apikal, C: caudal, H: Haken, HS: Hakenspitze, KF: Körperfalte, KR: Krypte



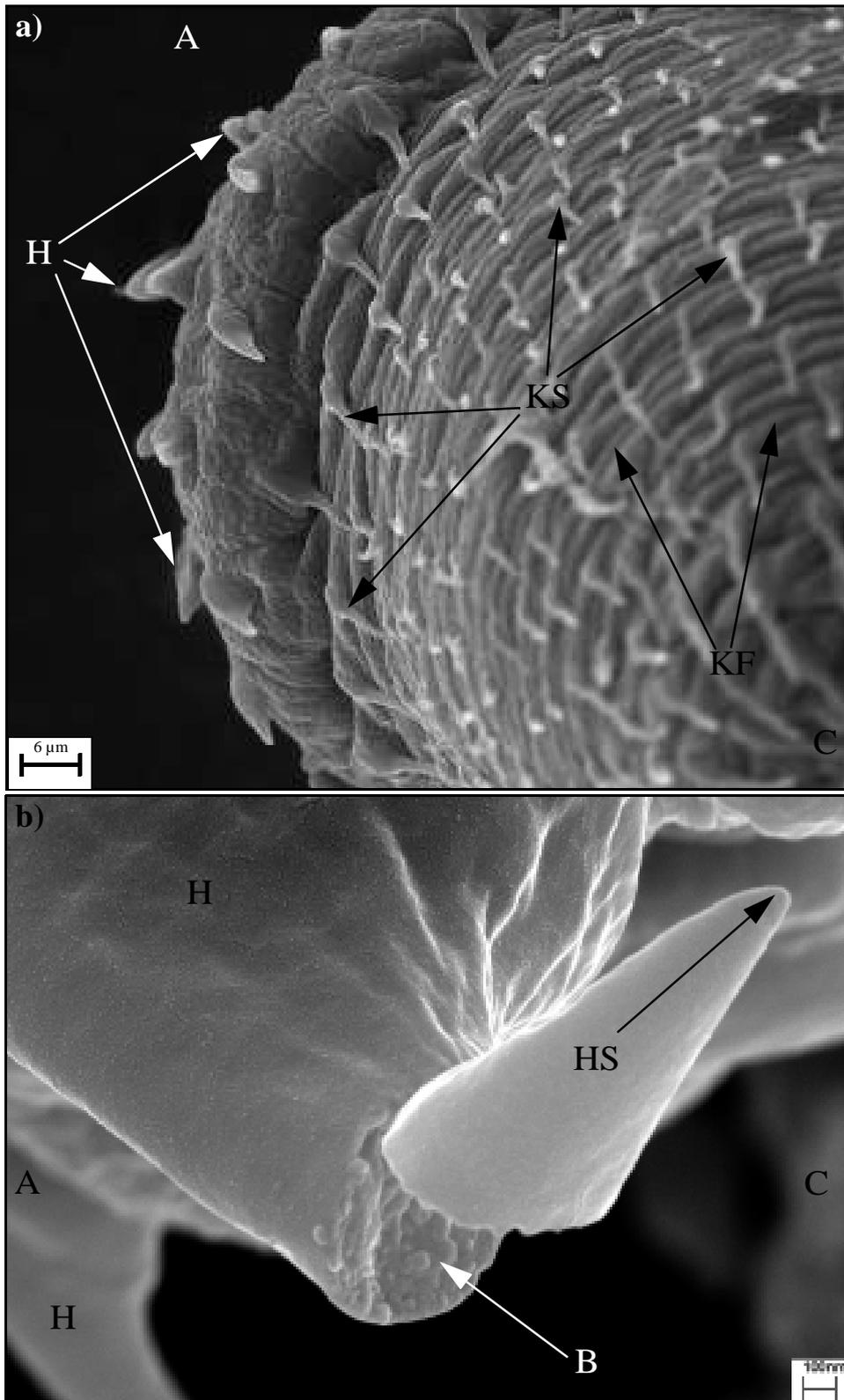
**Abbildung 72** Elektronenmikroskopische Detailaufnahmen einzelner Haken des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Transmissionselektronenmikroskopischer Längsschnitt durch einen apikalen Haken des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **b)** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Hakenspitze eines apikalen Hakens. A: apikal, C: caudal, CY: cytoplasmatische Zone des basalen Hakenbereichs, H: Haken, P: Plasmamembran, sZ: sklerotisierte Zone der apikalen Haken



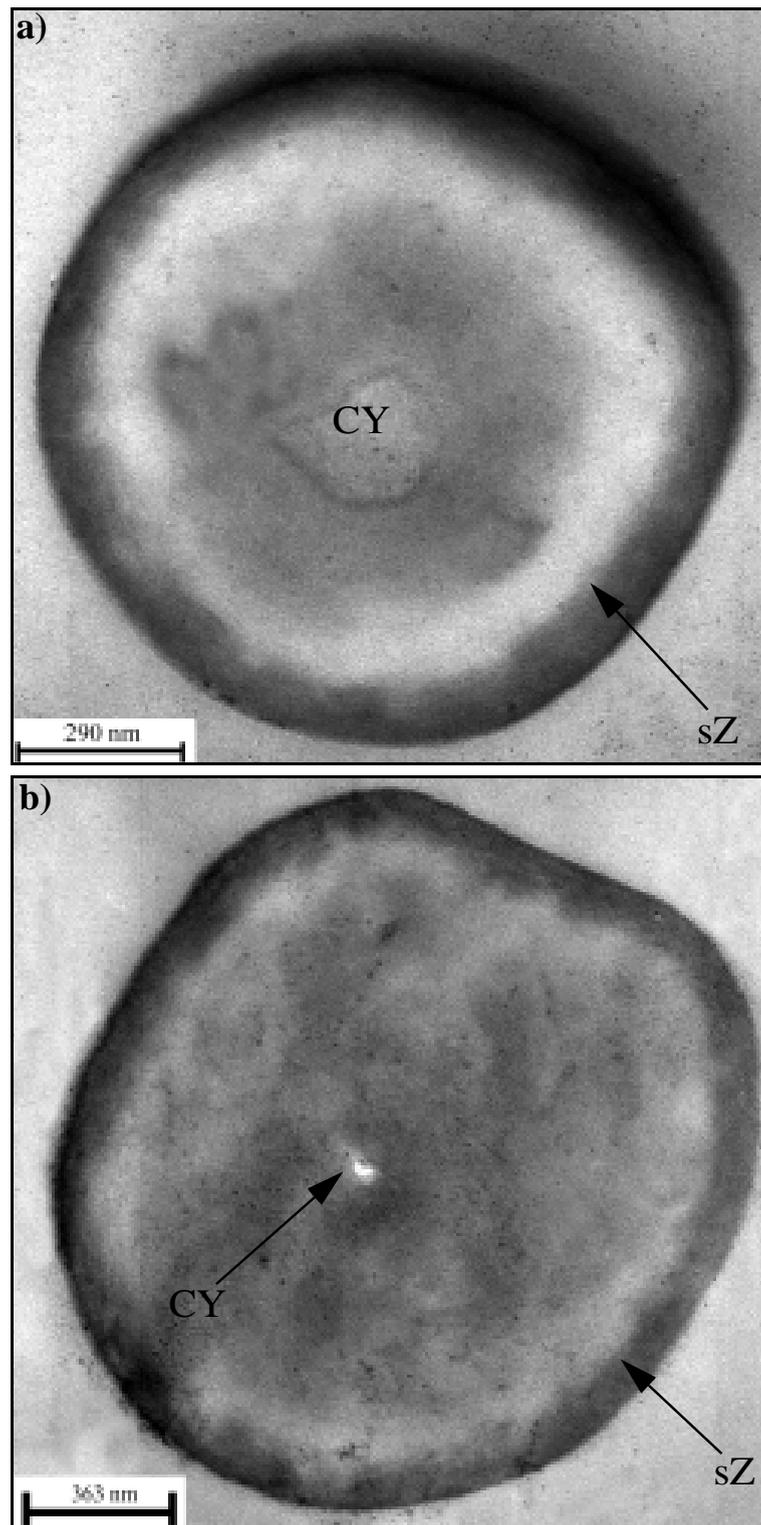
**Abbildung 73** Transmissionselektronenmikroskopischer Längsschnitt durch Haken des Acanthors von *M. hirudinaceus*. a) Längsschnitt durch einen apikalen Haken des Acanthors. b) Ansatz der Retraktormuskulatur an einem zentralen Hakenpaar des Acanthors. A: apikal, C: caudal, DV: Dottervesikel, KR: Krypte, P: Plasmamembran, R: Retraktormuskulatur, SM: subepitheliale Muskulatur, SV: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, sZ: sklerotisierte Zone der apikalen Haken, TF: Tonofilamente als Anheftungsstrukturen, Z: Z-Scheibe



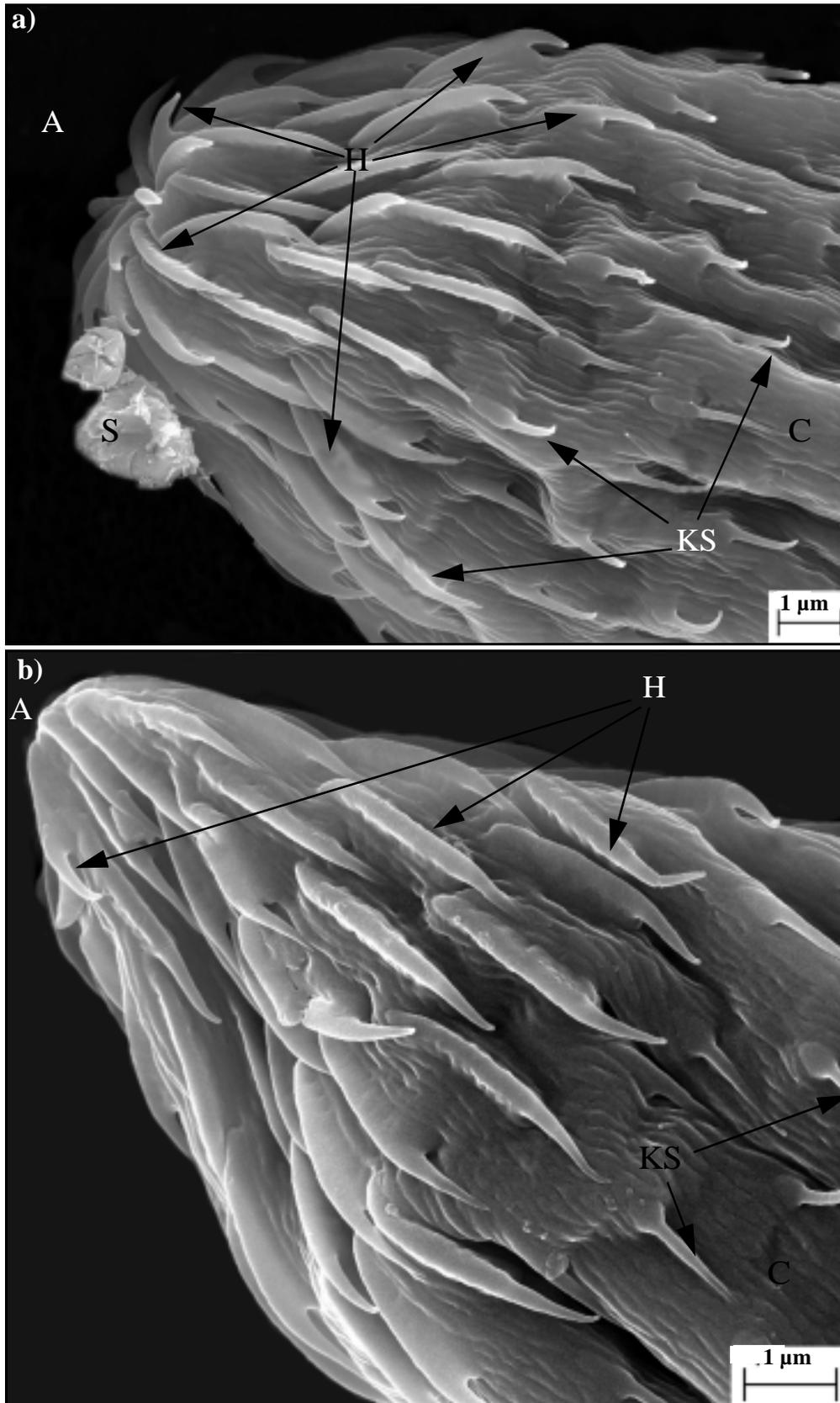
**Abbildung 74** Die Ansatzstelle der beiden Retraktormuskeln  $R_1$  und  $R_2$  am apikalen Pol bzw. einem zentralen Hakenpaar des Acanthors von *M. hirudinaceus*. A: apikal, C: caudal, DV: Dottervesikel, eS: epidermales Syncytium, fS: frontales Syncytium, H: Haken, P: Plasmamembran,  $R_{1,2}$ : Retraktormuskulatur, SV: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, TF: Tonofilamente als Anheftungsstrukturen



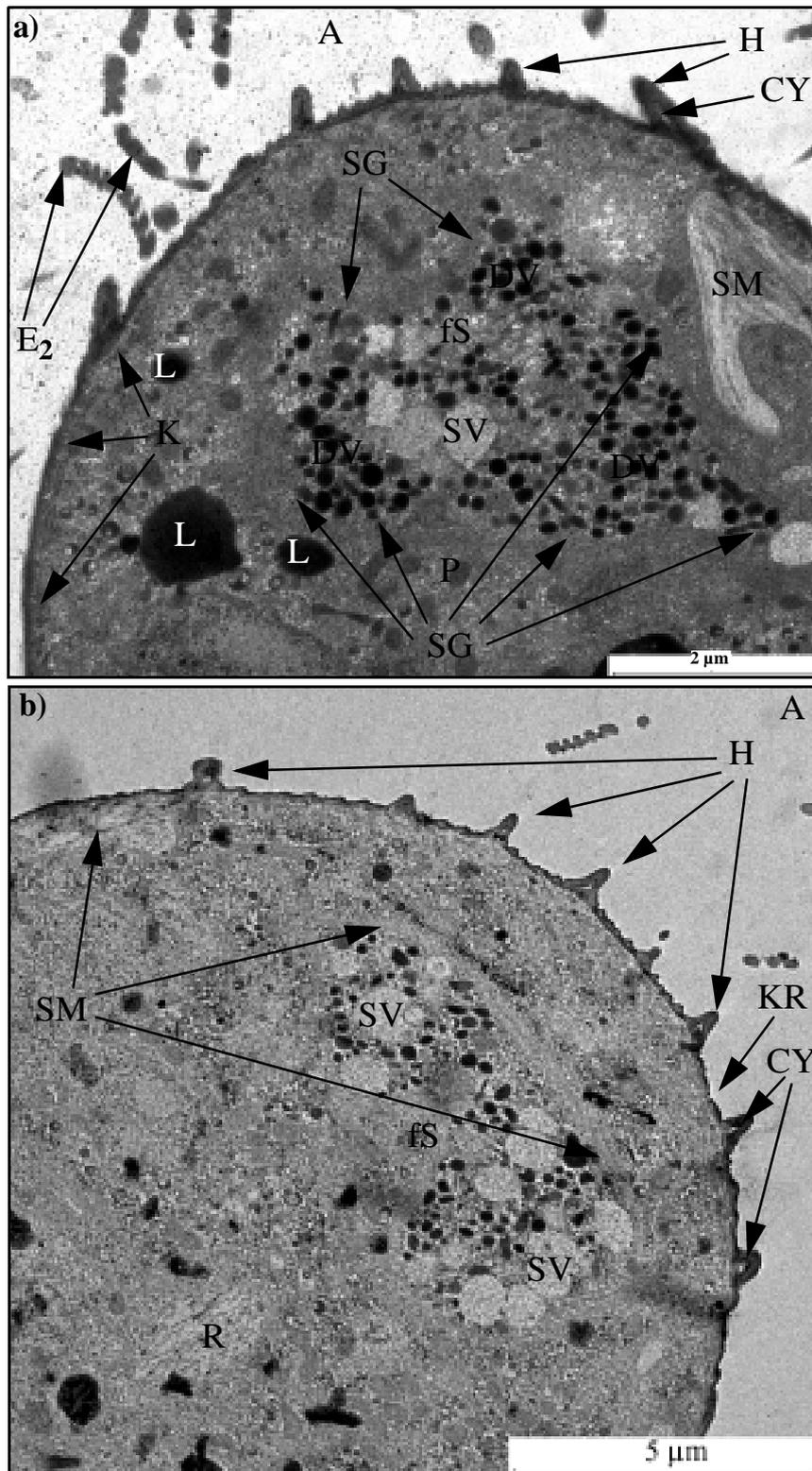
**Abbildung 75** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der apikalen Haken des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Rasterelektronenmikroskopischer Blick von caudal nach apikal. **b)** Blick auf einen Haken, dessen Hakenspitze fast vollständig abgebrochen ist. *A*: apikal, *B*: Bruchfläche des Hakens, *C*: caudal, *H*: Haken, *HS*: Hakenspitze, *KF*: Körperfalte, *KS*: Körperstachel



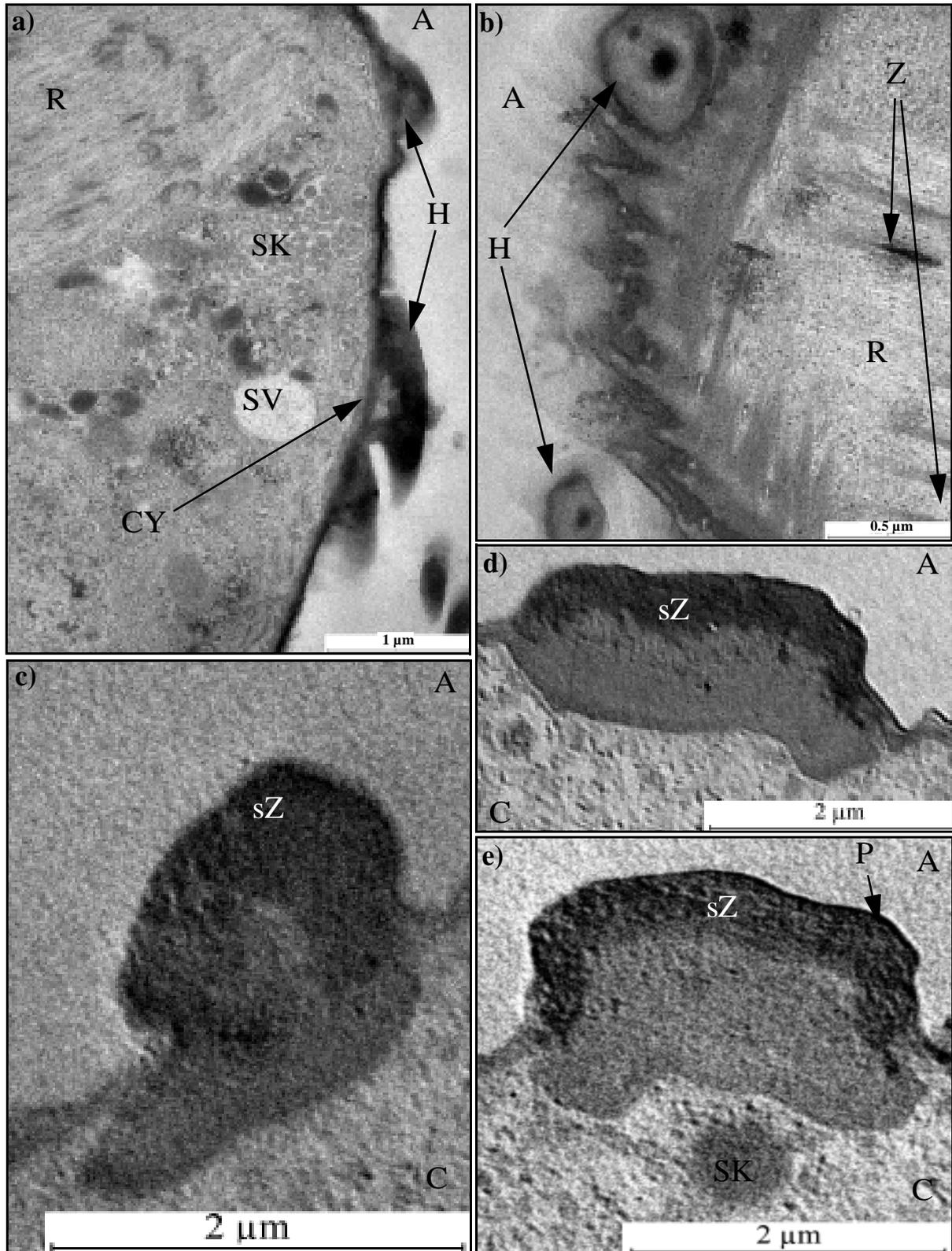
**Abbildung 76** TEM-Detailaufnahmen der apikalen Haken des Acanthors von *M. hirudinaceus*.  
CY: cytoplasmatische Zone des basalen Hakenbereichs, sZ: sklerotisierte Zone der apikalen Haken



**Abbildung 77** Der apikale Pol des Acanthors von *P. ambiguus* mit vier Reihen von symmetrisch auf Lücke sitzenden apikalen Haken. **a)** Die apikalen Haken sind abgespreizt. **b)** Die apikalen Haken sind eng an den Körper angelegt. A: apikal, C: caudal, H: Haken, KS: Körperstachel, S: anhaftende Schmutzpartikel



**Abbildung 78** TEM-Blick auf die apikalen Haken des Acanthors von *P. ambiguus*. **a)** Längsschnitt durch den apikalen Pol des Acanthors. **b)** Frontales Syncytium des Acanthors. *CY*: cytoplasmatische Zone des basalen Hakenbereichs, *DV*: Dottervesikel, *E<sub>2</sub>*: zweitäußerste Eihülle, *fS*: frontales Syncytium, *H*: Haken, *K*: Kanalsystem bzw. Lakunensystem des fusionierten Kryptensystems, *KR*: Krypte, *L*: Lipidtropfen, *P*: Peroxisom, *R*: Retraktormuskulatur, *SG*: Syncytiengrenze, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide



**Abbildung 79** Transmissionselektronenmikroskopische Detailaufnahmen der apikalen Haken des Acanthors von *P. ambiguus*. a) Längsschnitt durch einzelne apikale Haken. b) Mediane Hakenquerschnitte. c)-e) Sklerotisierung der apikalen Haken. A: apikal, C: caudal, P: Plasmamembran, R: Retraktormuskulatur, SK: Sekretvesikel, SV: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, sZ: sklerotisierte Zone der Haken

**Tabelle 9:** Kenngrößen der apikalen Haken der Acanthoren der untersuchten Acanthocephalenarten.

	<i>M. moniliformis</i>	<i>M. hirudinaceus</i>	<i>P. ambiguus</i>
Besitz von zwei "zentralen Hakenpaaren" ("central blades")	ja	ja	nein
Anzahl der apikalen Hakenreihen	4	4	4
Anzahl der apikalen Haken	87 - 92	80 - 83	76 - 80
Hakenanzahl der ersten Hakenreihe	4 + 6	4 + 6	10
Hakenanzahl der hinteren Hakenreihen	26 - 28	20 - 26	22 - 24
Vorkommen der größten Haken in der ... apikalen Hakenreihe	vordersten	vordersten	hintersten
Hakenlänge der "zentralen Hakenpaare" bzw. der Haken der vordersten Hakenreihe (in $\mu\text{m}$ )	9.2 - 10.7 / 5.4 - 6.2	12.5 - 15.8 / 6.3 - 7.0	- / 1.7
gesamte Hakenlänge der hinteren Haken (in $\mu\text{m}$ )	2.5 - 5.3	4.6 - 6.0	2.6 - 3.0
Länge der Hakenbasis der hinteren Haken (in $\mu\text{m}$ )	2.1 - 2.9	4.0 - 4.6	2.0 - 2.1
Durchschnittliche Hakenhöhe (in $\mu\text{m}$ )	1.2 - 1.7	1.2 - 1.45	0.7 - 0.8
Durchmesser Hakenbasis	4.0 - 7.3	0.6 - 1.0	0.4 - 0.5
Durchmesser Hakenspitze (in $\mu\text{m}$ )	0.10 - 0.14	0.1 - 0.2	0.1
Sklerotisierung der Haken	ja	ja	ja
Vorkommen einer cytoplasmatischen Zone in der Hakenbasis	ja	ja	ja
Hakenspitze massiv gebaut	ja	ja	ja
Krypten in der Hakenbasis	ja	ja	ja

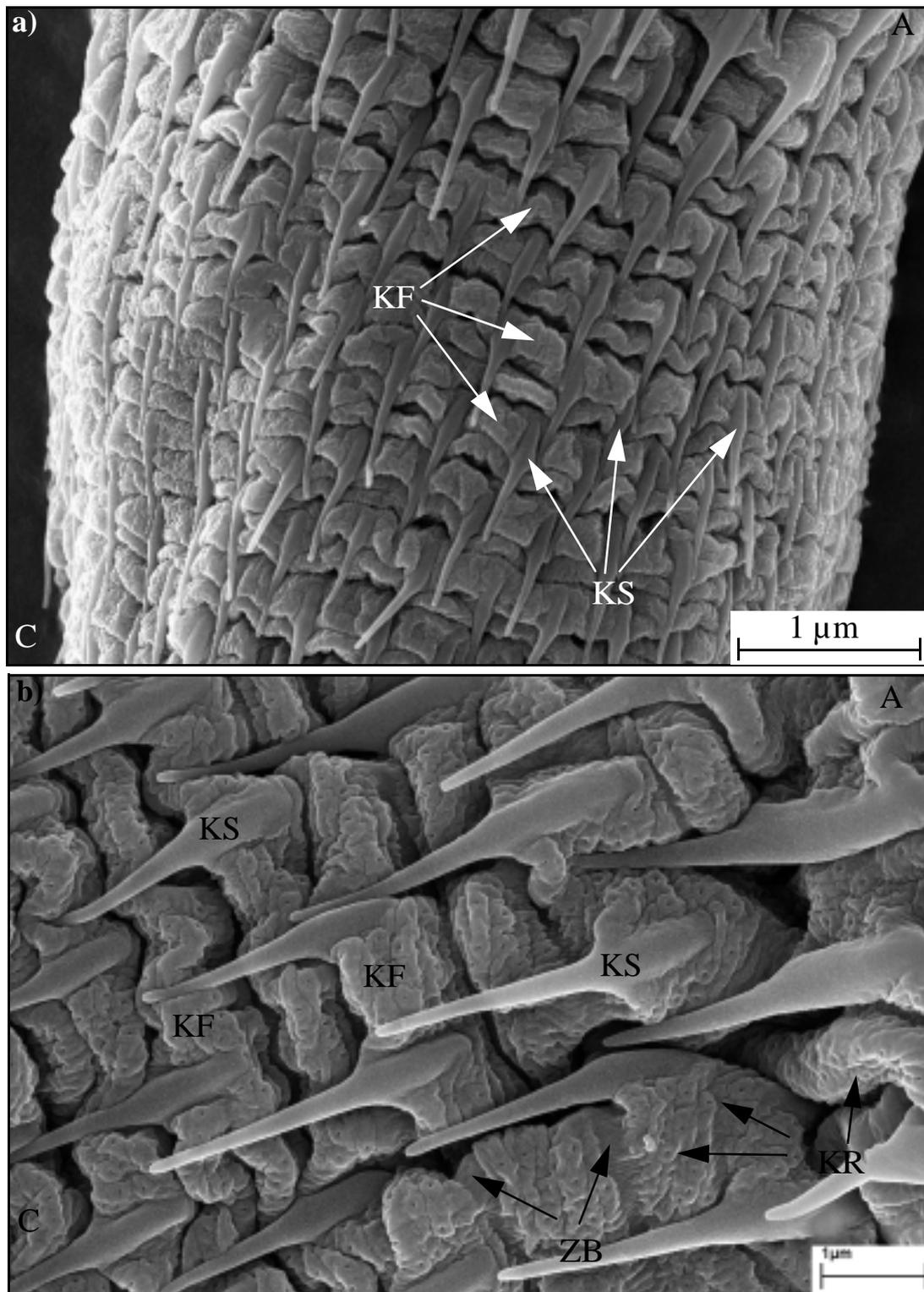
### 3.10.3 Die Körperstacheln des Acanthors

Während die Haken den apikalen Acanthorpol dominieren, stellen die kleineren Körperstacheln, neben den Körperfalten, das markanteste Charakteristikum der restlichen Körperoberfläche der untersuchten Acanthoren dar (siehe Tabelle 10 auf Seite 150).

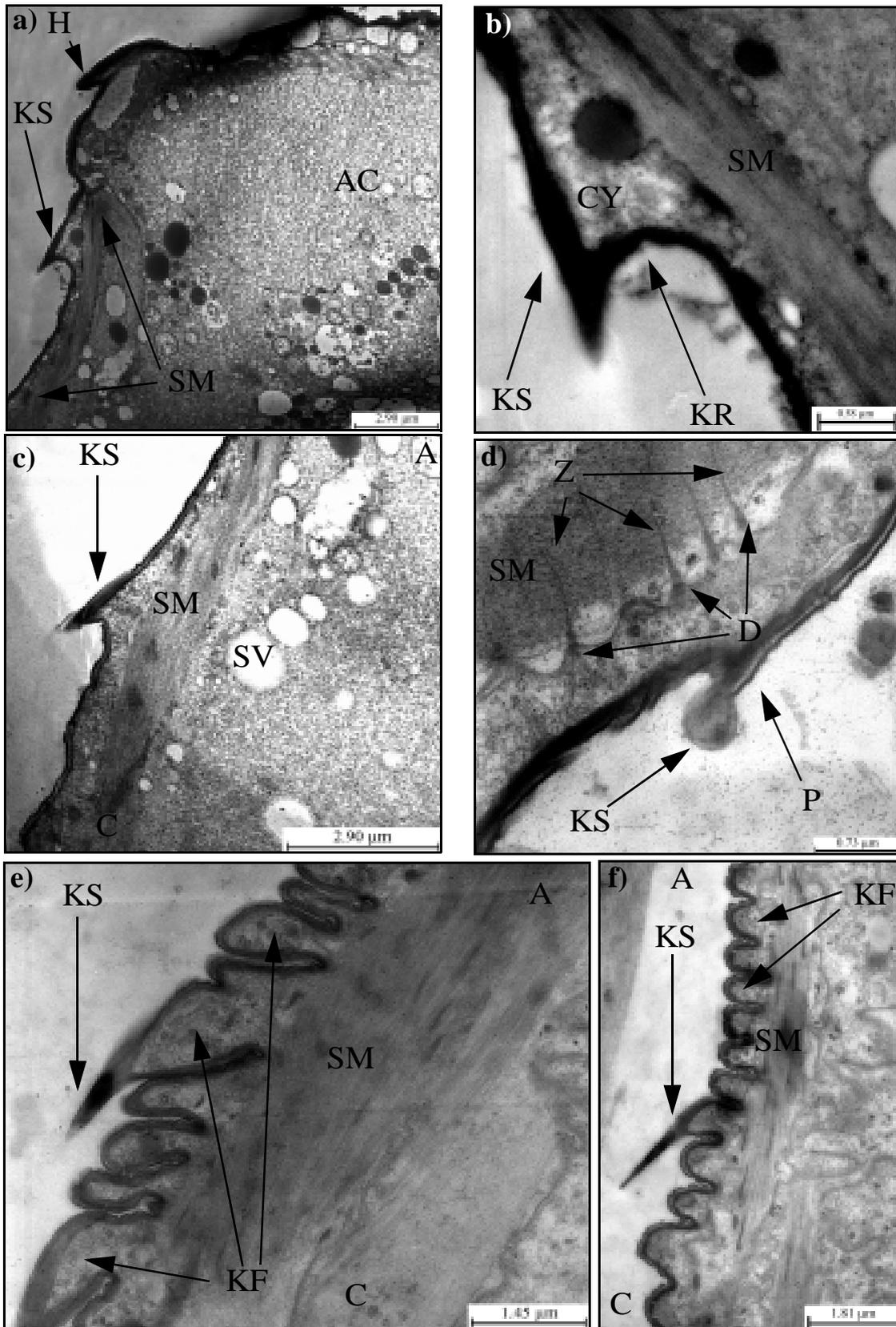
Sowohl die Körperoberfläche der Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* als auch die Oberfläche des Acanthors des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* ist mit zahlreichen kleinen Körperstacheln übersät (siehe Abbildung 80, 82, 83, 84, 86, 87, 89, 90). Diese schließen direkt an die Zone der apikalen Haken an und sind selbst am caudalen Pol des Acanthors noch in großer Anzahl vorhanden (siehe Abbildung 83, 87b, 90a, 91). Mit 300-310 Körperstacheln besitzt der Acanthor von *P. ambiguus* deutlich weniger Körperstacheln als die Acanthoren von *M.*

*moniliformis* und *M. hirudinaceus*, die beide zwischen 440 und 500 Körperstacheln besitzen (siehe Tabelle 10 auf Seite 150). Die Körperstacheln von *P. ambiguus* stehen aufgrund ihrer geringeren Anzahl weniger dicht als die Körperstacheln von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus*.

Wie die apikalen Haken, werden die Körperstacheln der Acanthoren intrazellulär durch Ausstülpung der oberflächlichen Plasmamembran und der sie unterlagernden intrasyn-cytialen Verdichtung gebildet (siehe Abbildung 81, 85, 88, 92). Während die Körperstacheln bei *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* in der Regel 2.2-4.3  $\mu\text{m}$  lang sind, weisen sie bei *P. ambiguus* eine Länge von 0.9-2.2  $\mu\text{m}$  auf (siehe Tabelle 10 auf Seite 150).



**Abbildung 80** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Körperstacheln des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Überblick über den kontrahierten, mittleren Körperbereich eines geschlüpften Acanthors. **b)** Ausschnittsvergrößerung einzelner Körperstacheln, die eng an den Körper des Acanthors angelegt sind. A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel, KR: Krypte, ZB: Bereich zwischen zwei Körperfalten



**Abbildung 81** Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von Körperstacheln des Acanthors des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*

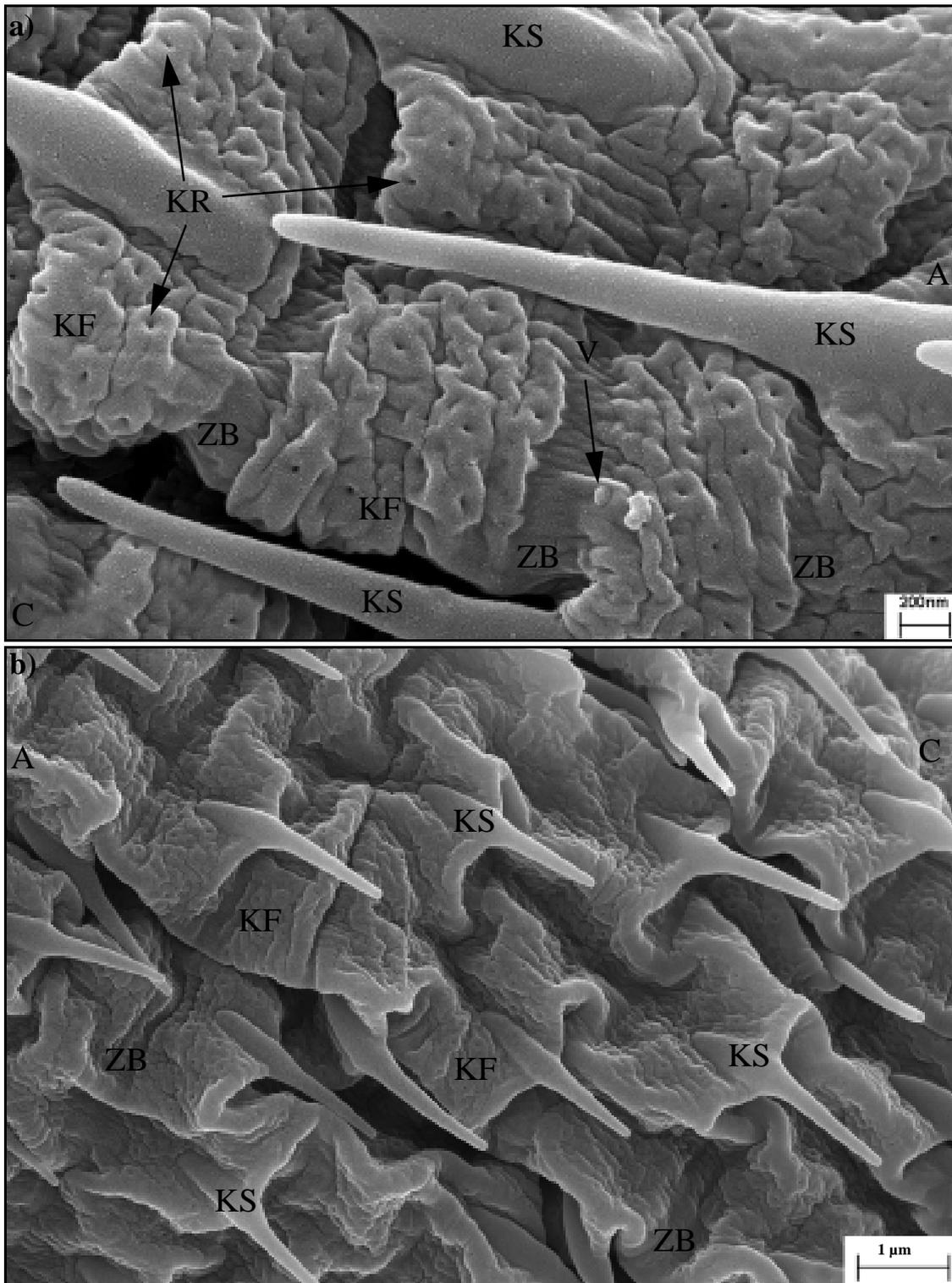
**Legende Abbildung 81:** **a)** Längsschnitt durch einen Teilbereich des vorderen Körpers des Acanthors. **b)** Ausschnittsvergrößerung eines Körperstachels von Abbildung 81a. **c)** Detailaufnahme eines Körperstachels. **d)** Ansatz der subepithelialen Muskulatur. **e)** Angelegter Körperstachel. **f)** Abgespreizter Körperstachel. *A:* apikal, *C:* caudal, *CY:* cytoplasmatische Zone des basalen Körperstachelbereichs, *D:* Desmosom, *H:* Haken, *KF:* Körperfalten, *KR:* Krypte, *KS:* Körperstachel, *P:* Plasmamembran, *SM:* subepitheliale Muskulatur, *SV:* Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z:* Z-Scheibe

Wie die apikalen Haken sind auch die kleinen Körperstacheln sklerotisiert, um ihnen eine besondere Stabilität zu verleihen (siehe Abbildung 81, 85, 88, 92). Die Basis der zierlicheren Körperstacheln ist ebenfalls durch eine cytoplasmatische Kernzone geprägt, auch wenn die intrasyncytiale Verdichtung unterhalb der Plasmamembran kein "Widerlager" bildet und sich nicht in das Acanthorcytoplasma hineinwölbt (siehe Abbildung 81, 88, 92).

Es besteht weder eine direkte Verbindung der Körperstacheln zu der Retraktormuskulatur noch zu der subepithelialen Muskulatur (siehe Abbildung 81, 88, 92). Dennoch ist der Acanthor in der Lage die Körperstacheln durch Kontraktion bzw. Dehnung der subepithelialen Muskulatur aktiv zu bewegen. Diese Bewegungsfähigkeit der Körperstacheln verleiht ihnen die Möglichkeit die mechanische Penetration der Darmwand des Zwischenwirtes effektiv zu unterstützen. So stellt der Acanthor die Körperstacheln durch Kontraktion der subepithelialen Muskulatur weit vom Körper ab (siehe Abbildung 83a, 86a, 88, 92). Durch dieses Abspreitzen fungieren die zahlreichen Körperstacheln der Acanthoren als Widerhaken und verhindern bzw. minimieren das Zurückrutschen der Acanthoren während der Darmwandpassage der Acanthoren. Aus diesem Grund zeigen alle Körperstacheln mit ihrer Spitze immer in Richtung des caudalen Acanthorpols. Sind die apikalen Haken eines Acanthors in der Darmwand eines Zwischenwirtes fest verankert, entspannen die Acanthoren ihre subepitheliale Muskulatur und legen dadurch ihre Körperstacheln eng an den Acanthorkörper an (siehe Abbildung 83, 86b, 87, 90). Jetzt kann der Hinterleib der Acanthoren einfach nachgezogen werden, so dass eine schnelle Darmwandquerung erzielt wird.

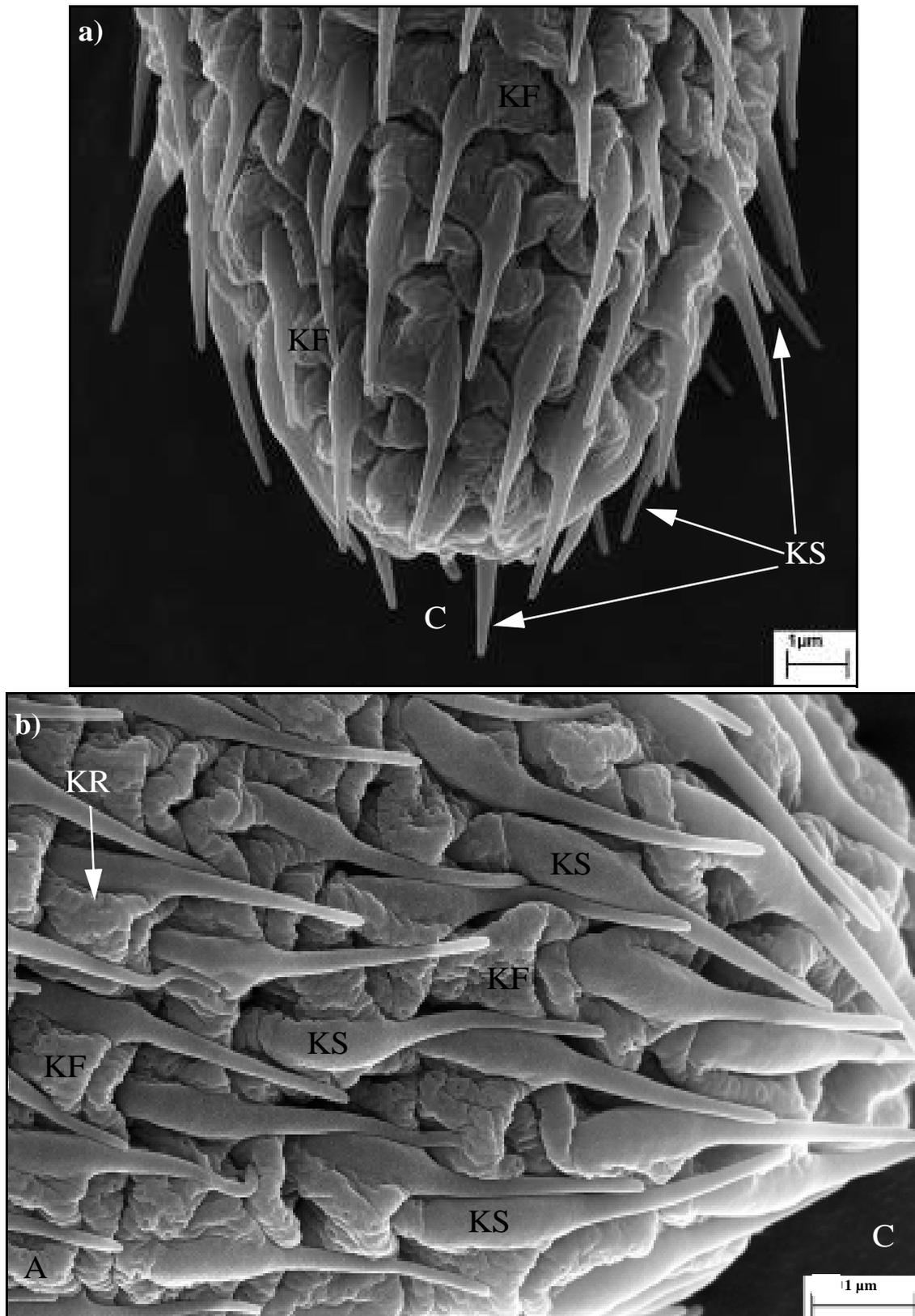
Wie in einigen apikalen Haken ist auch in einigen Körperstacheln median elektronendichte Matrix (Lipid?) angereichert (siehe Abbildung 81e-f, 85, 88, 92b). Dennoch sind die Körperstacheln, wie die apikalen Haken, bei allen untersuchten Acanthoren massiv und weisen keinerlei Ausführgänge in ihrer Körperstachelspitze auf (siehe Abbildung 84f). Stattdessen besitzen sie zahlreiche Krypten im Bereich ihrer Körperfalten, die möglicherweise für die Sekretion von Enzymen, Sekretgranula und Schmierstoffen verantwortlich sind (siehe Abbildung 80, 82, 83, 91, 83b und 3.10.5).

Die Körperstacheln der Acanthoren besitzen normalerweise eine breite, längliche Basis, womit sie an der Acanthoroberfläche ansetzen. Sie weisen in der Regel einen geraden Verlauf auf und verjüngen sich in Richtung ihrer Spitze (siehe Abbildung 82, 83, 84, 86b, 87b, 88, 89b-c, 90, 91, 92). Die Körperstacheln sind die erste Zeit nach dem Schlüpfen flexibel und biegsam, sie können jedoch auch brechen (siehe Abbildung 84, 87b, 89, 90a, 91).

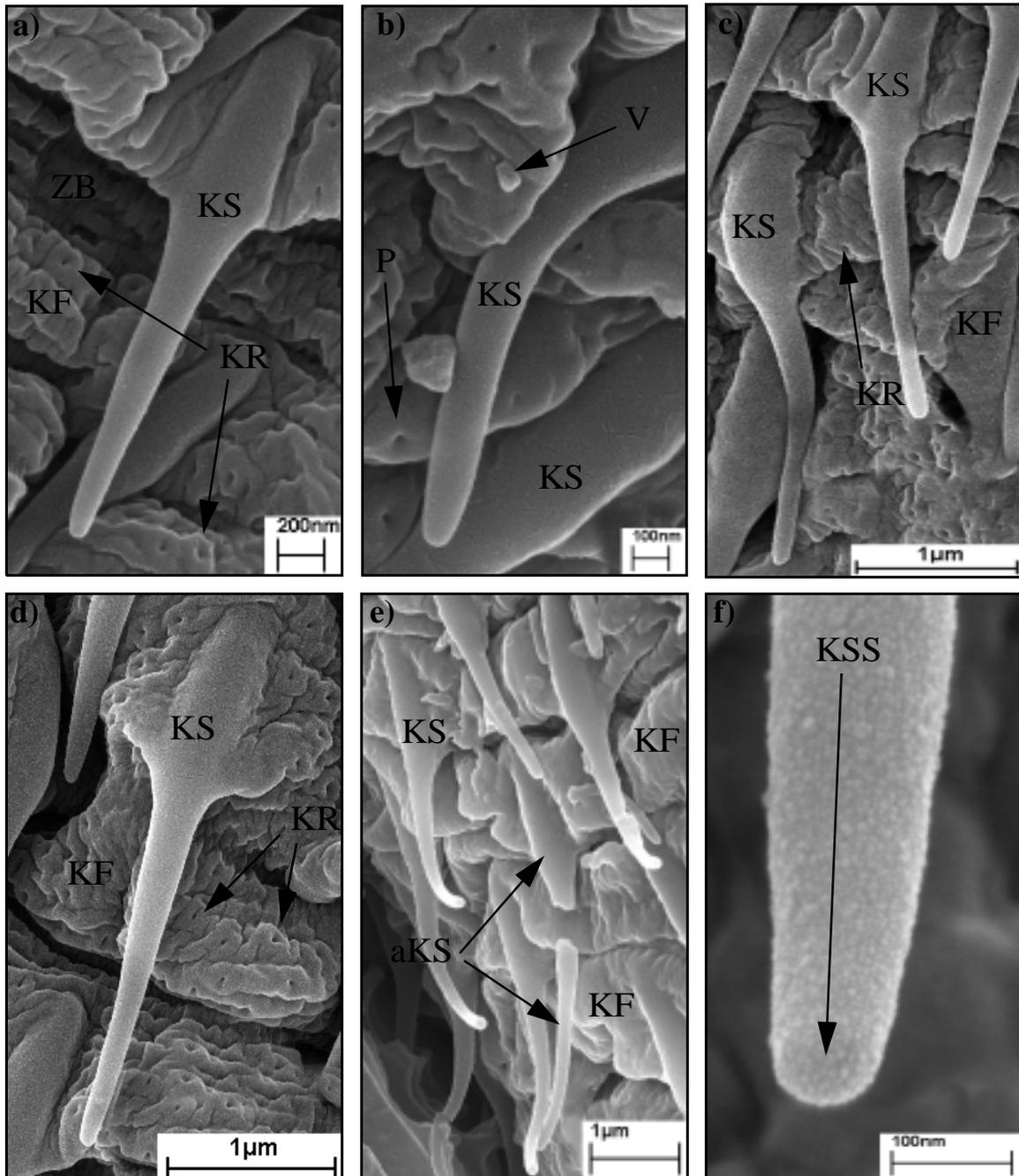


**Abbildung 82** Elektronenmikroskopische Detailaufnahmen der Körperstacheln, Körperfalten und Poren des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahme der Poren des fusionierten Kryptensystems in unmittelbarer Körperstachelnähe. **b)** Blick auf einige Körperstacheln, die in großer Anzahl über den gesamten hinteren Körper des Acanthors verteilt sind.

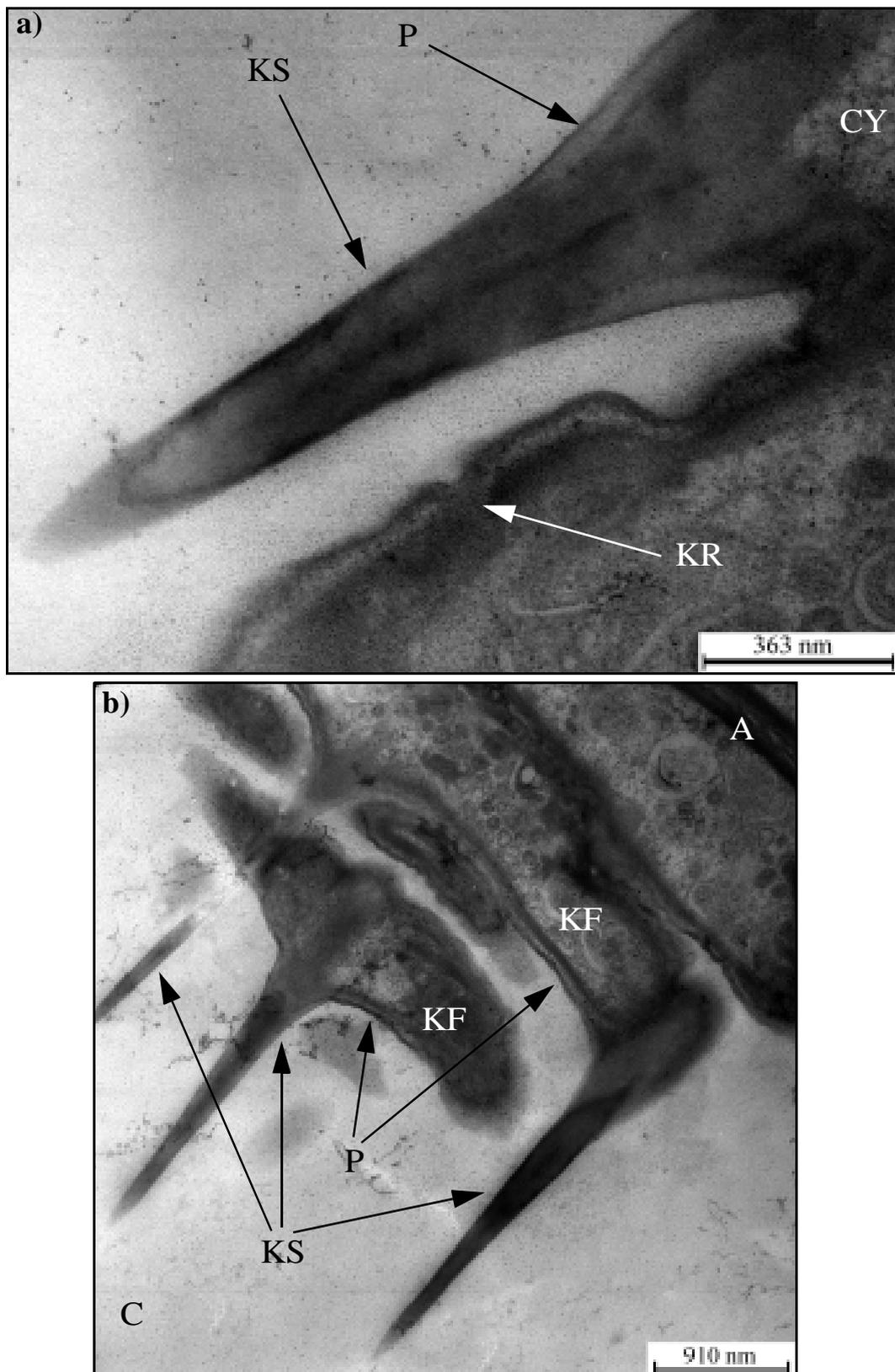
A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KR: Einzelne Krypte des fusionierten Kryptensystems, KS: Körperstachel, V: Vesikel, der sich über einer Krypte des Kryptensystems befindet, ZB: Bereich zwischen zwei Körperfalten



**Abbildung 83** Der caudale Pol des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Rasterelektronenmikroskopischer Überblick über den caudalen Pol des Acanthors, der von zahlreichen, beweglichen Körperstacheln bedeckt ist. **b)** Detailaufnahme von angelegten Körperstacheln und dazugehörigen Körperfalten. A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KR: Krypte des fusionierten Kryptensystems, KS: Körperstachel

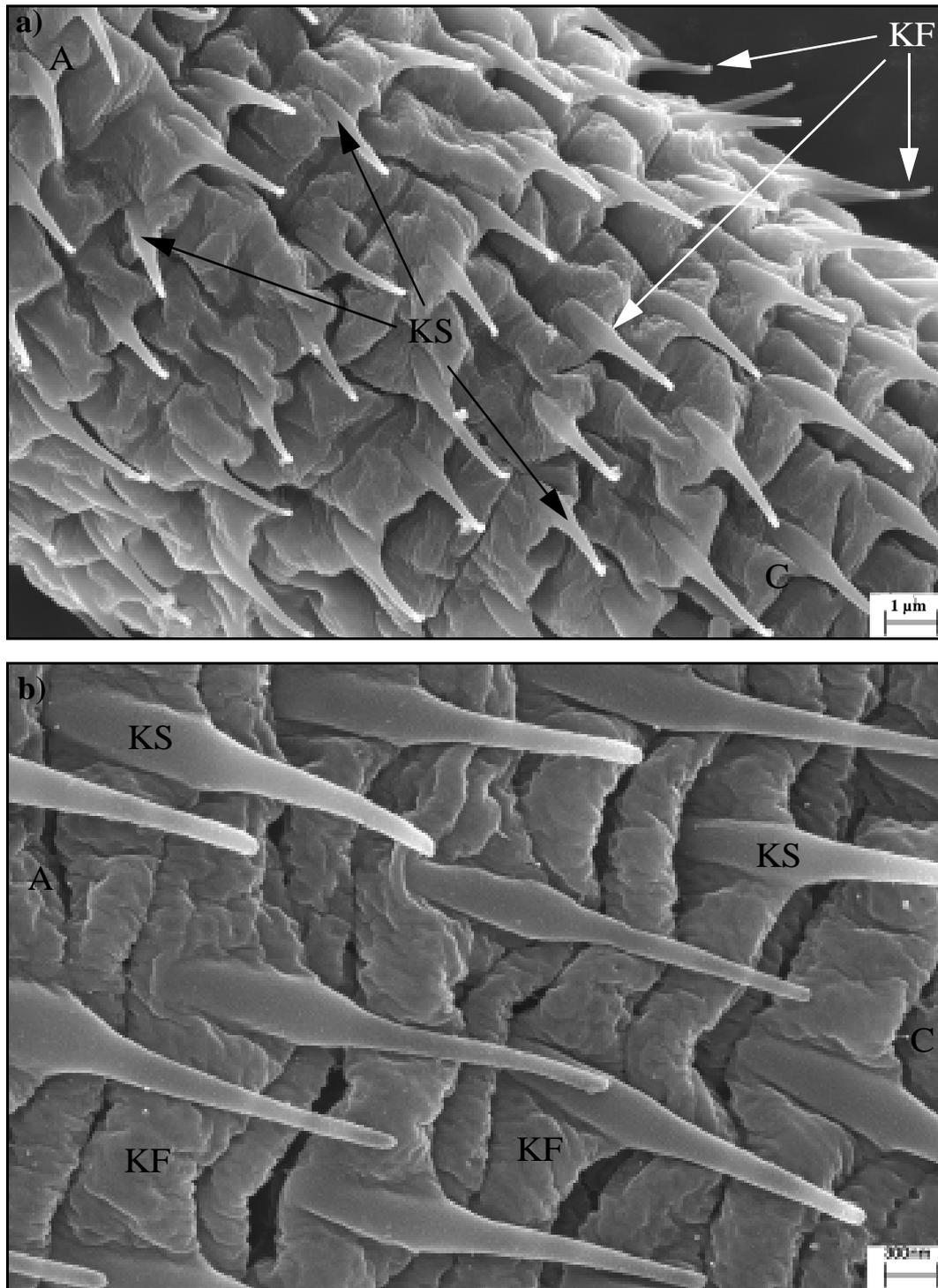


**Abbildung 84** Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahmen der Körperstacheln des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Detailaufnahme eines einzelnen Körperstachels. **b)** Verbogener Körperstachel. **c)** Unterschiedliche Formen von Körperstacheln sind möglich. **d)** Charakteristischer Körperstachel. **e)** Abgebrochener Körperstachel. **f)** Blick auf die Spitze eines ausgewählten Körperstachels. *aKS*: abgebrochener Körperstachel, *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *KS*: Körperstachel, *KSS*: Körperstachelspitze, *V*: Vesikel, der sich über einer Pore befindet, *ZB*: Bereich zwischen zwei Körperfalten

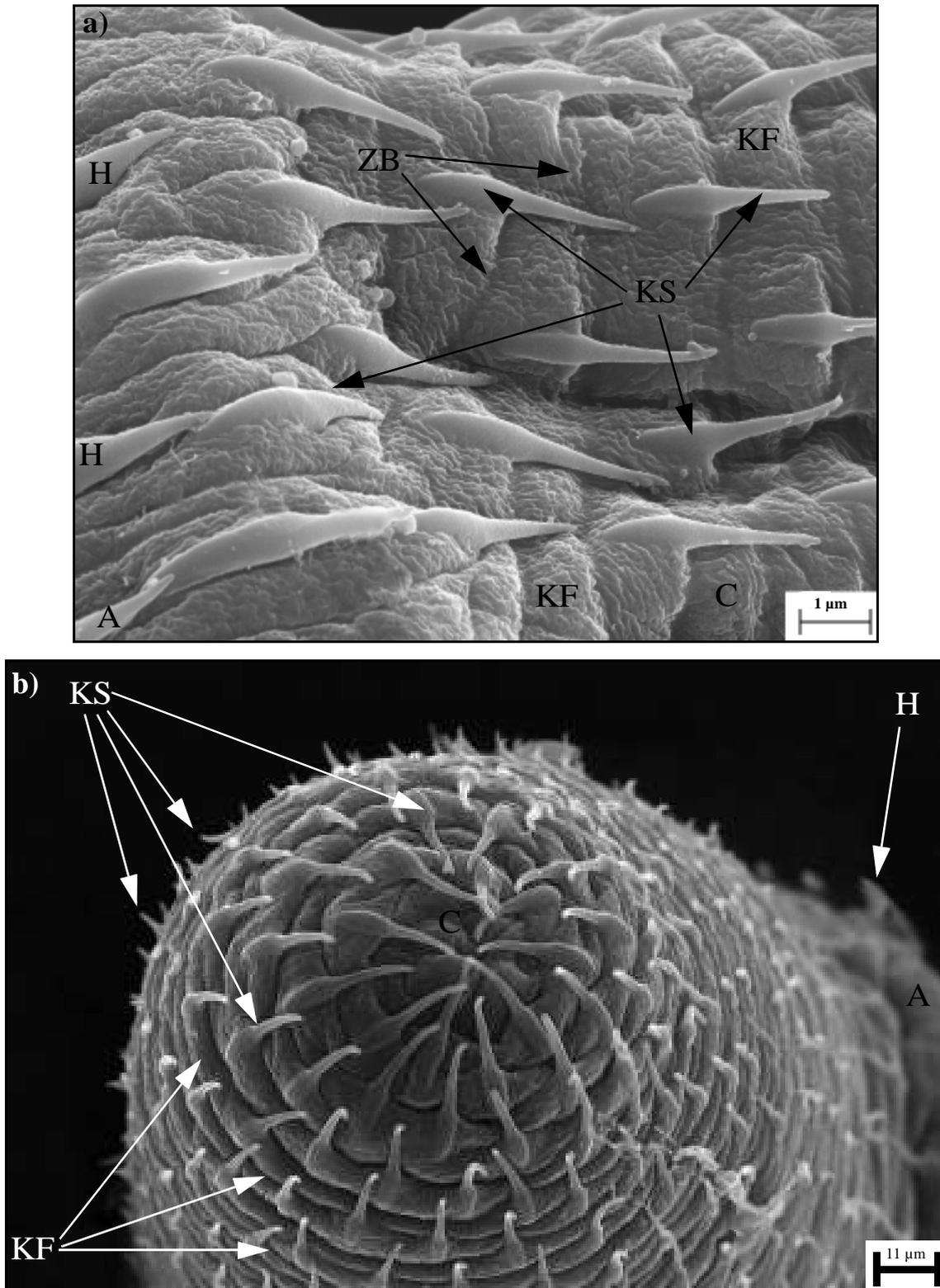


**Abbildung 85** Längsschnitt durch mehrere Körperstacheln des Acanthors von *M. moniliformis*.

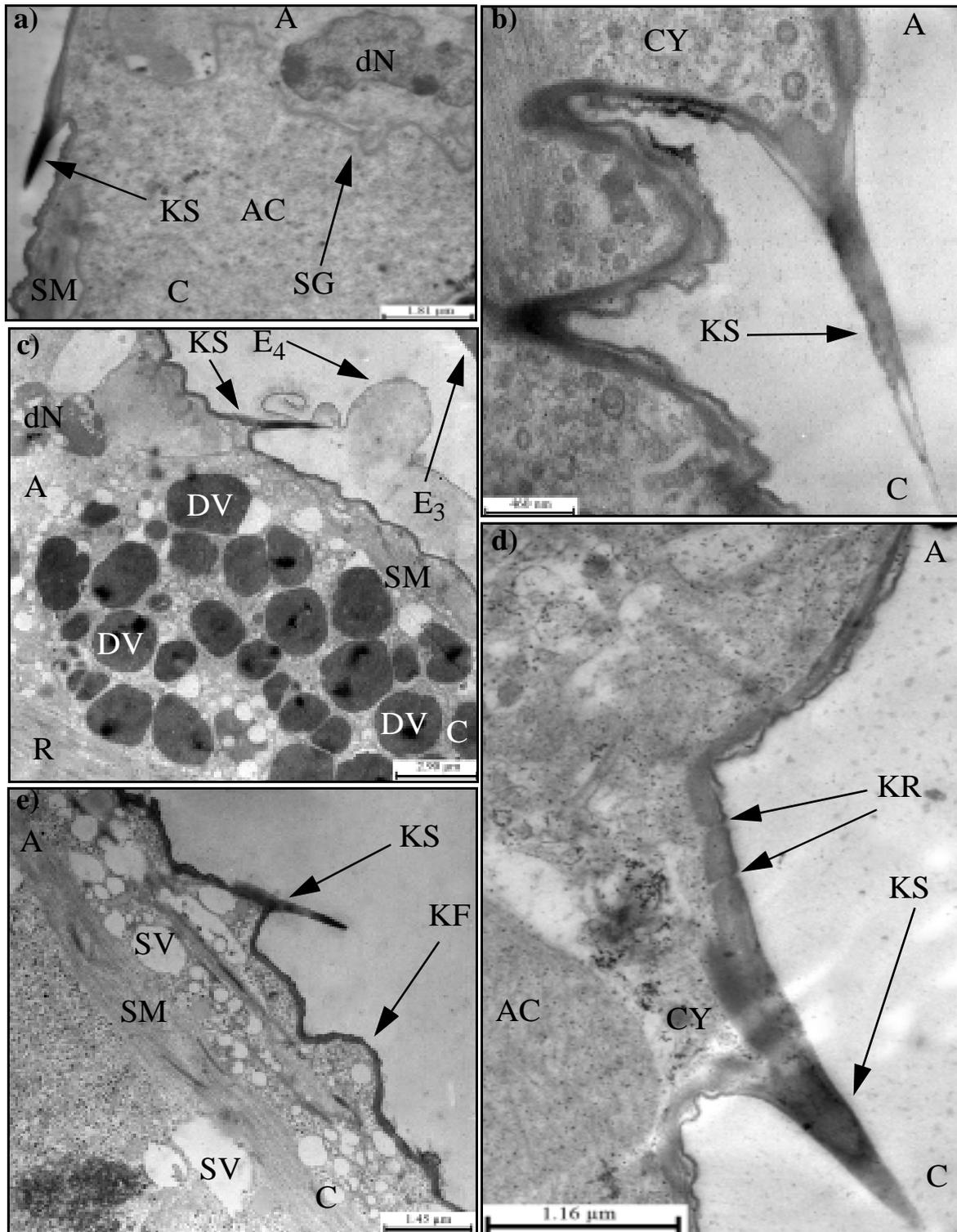
**a)** Detailaufnahme eines einzelnen Körperstachels. **b)** Mehrere Körperstacheln und Körperfalten sind angeschnitten. *A*: apikal, *C*: caudal, *CY*: cytoplasmatische Zone des basalen Stachelbereichs, *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *KS*: Körperstachel, *P*: Plasmamembran



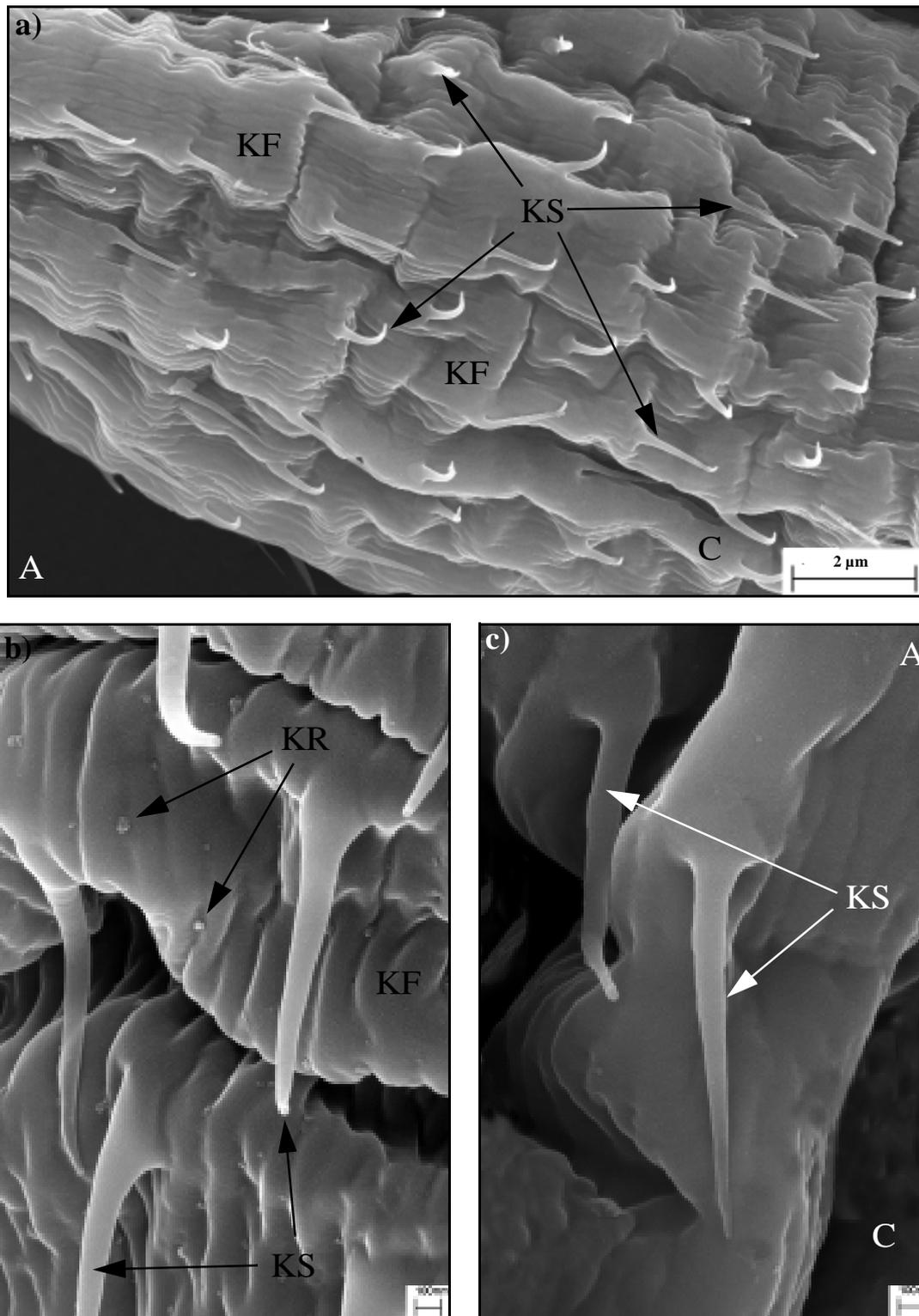
**Abbildung 86** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf die Körperstacheln des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Überblick über den mittleren Körperbereich des Acanthors. **b)** Detailaufnahmen einiger Körperstacheln. A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel



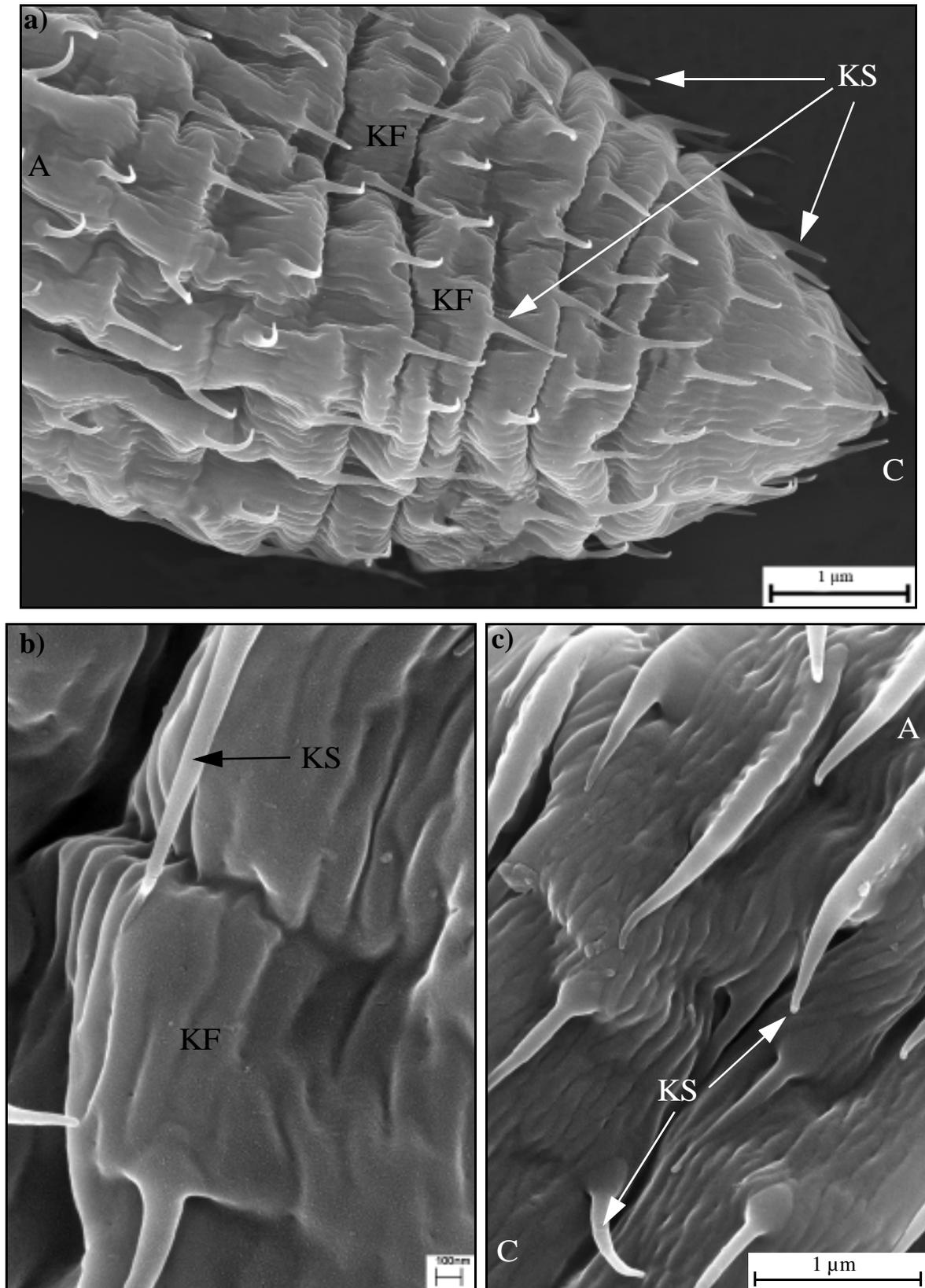
**Abbildung 87** Die Körperstacheln des Acanthors von *M. hirudinaceus*. a) Rasterelektronenmikroskopische Detailaufnahme der Körperstacheln im vorderen Körperdrittel des Acanthors. b) Blick auf den caudalen Pol des Acanthors von *M. hirudinaceus*. A: apikal, C: caudal, H: Haken, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel, ZB: Bereich zwischen zwei Körperfalten



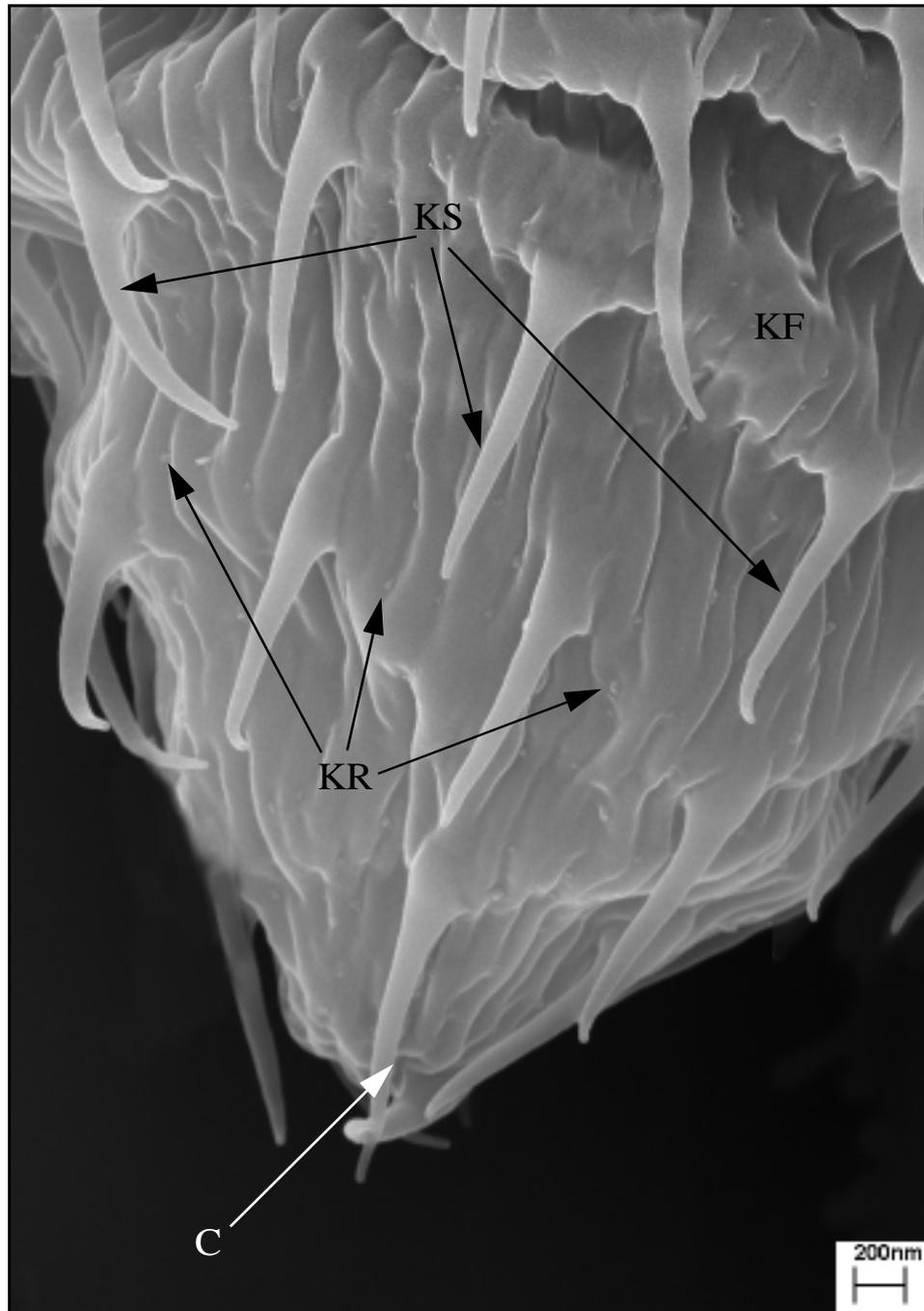
**Abbildung 88** Längsschnitte durch verschiedene Körperstacheln des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*. **a)** Körperstachel eines schlüpfenden Acanthors. **b)** Einzelner Körperstachel. **c)** Mit Hilfe der Körperstacheln befreit sich der Acanthor aus der Eihülle  $E_3$ . **d)** Detailaufnahme eines einzelnen Körperstachels. **e)** Abgespreizter Körperstachel. *A*: apikal, *AC*: Acanthor, *C*: caudal, *CY*: cytoplasmatische Zone des basalen Körperstachelbereichs, *dN*: dekondensierter Nucleus, *DV*: Dottervesikel,  $E_3$ : drittäußerste Eihülle,  $E_4$ : innerste Eihülle, *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte, *KS*: Körperstachel, *R*: Retraktormuskulatur, *SG*: Syncytiengrenze, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide



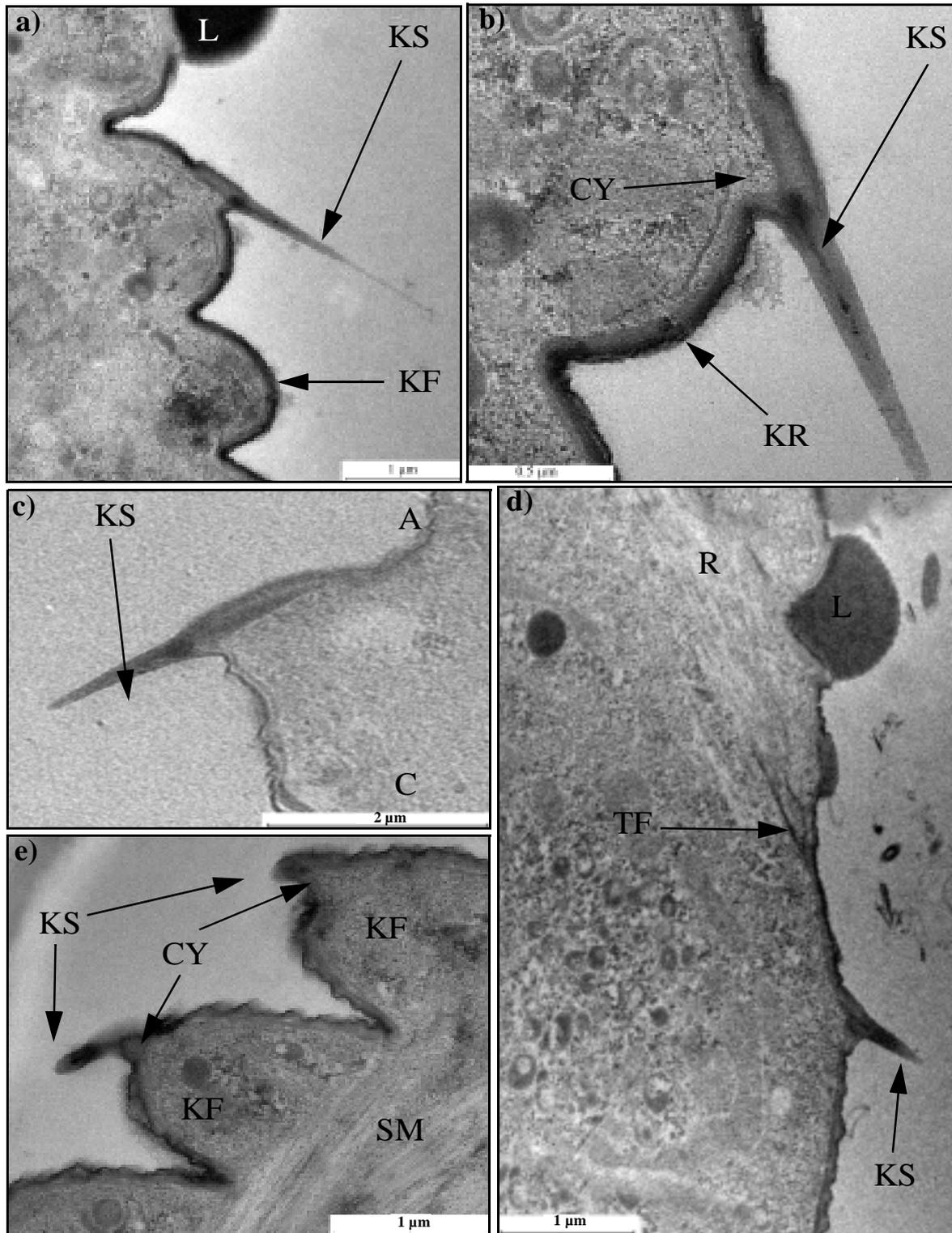
**Abbildung 89** Die Körperstacheln des Acanthors von *P. ambiguus*. **a)** Blick auf den mittleren Körperbereich des geschlüpften Acanthors. **b)** Detailaufnahme mehrerer Körperstacheln. **c)** Körperstachel mit charakteristischer Form. A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KR: Krypte des fusionierten Kryptensystems, KS: Körperstachel



**Abbildung 90** Der Körper des Acanthors von *P. ambiguus* ist ebenfalls von zahlreichen kleinen Körperstacheln gekennzeichnet. **a)** Überblick über den hinteren Körperabschnitt des Acanthors. **b)** Detailaufnahme einer Körperfalte. **c)** Detailaufnahme einzelner charakteristischer Körperstacheln des Acanthors. A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KS: Körperstachel



**Abbildung 91** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf den caudalen Pol eines Acanthors des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* (Ausschnittsvergrößerung von Abbildung 90a). *C*: caudal, *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *KS*: Körperstachel



**Abbildung 92** Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von Längsschnitten durch verschiedene Körperstacheln des Acanthors von *P. ambiguus*. **a)** Blick auf einen einzelnen Körperstachel, der vom Körper abgespreizt wird. **b)** Ausschnittvergrößerung von Abbildung 92a. **c)** Körperstachel. **d)** Ansatz der Retraktormuskulatur. **e)** Körperfalten mit Körperstacheln. A: apikal, C: caudal, CY: cytoplasmatische Zone des basalen Stachelbereiches, KF: Körperfalte, KR: Krypte des fusionierten Kryptensystems, KS: Körperstachel, L: Lipidtropfen, SM: subepitheliale Muskulatur, TF: Tonofilamente als Anheftungstrukturen

**Tabelle 10:** Kenndaten zu den Körperstacheln der geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* (alle Angaben, außer der Anzahl der Körperstacheln, in  $\mu\text{m}$ ).

	<i>M. moniliformis</i>	<i>M. hirudinaceus</i>	<i>P. ambiguus</i>
<b>Anzahl der Körperstacheln</b>	440 - 460	480-500	300 - 310
<b>Länge des gesamten Körperstachels im vorderen / mittleren / caudalen Körperbereich</b>	2.22 - 2.52 / 2.74 - 3.64 / 3.52 - 4.28	2.73 - 3.21 / 2.51 - 3.41 / 2.78 - 3.54	1.3-2.2 / 0.9-1.9 / 0.9-1.4
<b>Länge der Körperstachelbasis im vorderen / mittleren / caudalen Körperbereich</b>	0.82 - 1.12 / 0.94 - 1.46 / 1.23 - 1.83	1.11 - 1.55 / 0.96 - 1.22 / 1.18 - 1.67	0.7 / 0.4 / 0.4
<b>Durchmesser Körperstachelbasis im vorderen / mittleren / caudalen Körperbereich</b>	0.27 - 0.49 / 0.44 - 0.59 / 0.44 - 0.68	0.40 - 0.53 / 0.36 - 0.58 / 0.42 - 0.60	0.5 / 0.3 / 0.3
<b>Durchmesser Körperstachelspitze im vorderen / mittleren / caudalen Körperbereich</b>	0.08 - 0.14 / 0.10 - 0.13 / 0.10 - 0.14	0.07 - 0.10 / 0.13 - 0.18 / 0.15 - 0.19	0.10 / 0.07 / 0.07

### 3.10.4 Die Muskulatur des Acanthors

Die Muskulatur der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* setzt sich aus zwei unterschiedlichen Funktionseinheiten zusammen: der Retraktormuskulatur und der subepithelialen Muskulatur (siehe Tabelle 11 auf Seite 153). Eine morphologische Verbindung zwischen diesen beiden unterschiedlichen Muskelsystemen besteht bei Larven der drei untersuchten Acanthocephalenarten nicht. Dafür existiert eine äußerst bedeutende funktionelle Zusammenarbeit zwischen der Retraktor- und der subepithelialen Muskulatur. Einzig durch diese exakt aufeinander abgestimmte Interaktion der getrennten Muskelsysteme wird den Acanthoren eine erfolgreiche Penetration der Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes ermöglicht (siehe 4.7.4.1). Die Retraktormuskulatur bzw. die subepitheliale Muskulatur der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* setzen mit ihren Enden entweder über Desmosomen oder Tonofilamente an der intrasyncytialen Verdichtung des Acanthorepithels an (siehe Abbildung 95a). Sowohl Retraktor- als auch subepitheliale Muskulatur sind durch eine Plasmamembran vom übrigen Cytoplasma des Acanthors abgegrenzt (siehe Abbildung 94, 95, 96, 98, 99, 100b-c, 103).

Die Retraktormuskulatur besteht bei allen untersuchten Acanthoren aus zwei zentral verlaufenden Muskelsträngen, die normalerweise einen rundlichen bzw. ovalen Querschnitt aufweisen (siehe Abbildung 94, 99a). Am apikalen Pol des Acanthors fächern sich die Retraktorstränge auf und inserieren am apikalen Pol in breiter Front über Tonofilamente (siehe Abbildung 93, 94, 96b, 97, 103). Dadurch treten die beiden Retraktorstränge mit den vordersten Haken in direkten Kontakt (siehe Abbildung 74).

Möglicherweise ziehen kleinere Teile der Retraktormuskulatur in den cytoplasmatischen Bereich der Hakenbasis hinein und verankern die Muskulatur im Inneren dieser Haken (siehe Abbildung 68c).

Vom apikalen Pol der Acanthoren aus durchziehen die beiden Retraktormuskelstränge je nach Acanthocephalenart den Körper der Acanthoren mehr oder weniger weit in Richtung caudaler Pol. Während die beiden Retraktormuskeln den Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* nahezu vollständig vom apikalen Pol bis zum caudalen Pol durchziehen (siehe Abbildung 61c, 121), inserieren die Retraktormuskelstränge der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* ungefähr ein Drittel der Körperlänge vom caudalen Pol entfernt im Epithel des entsprechenden Acanthors (siehe Abbildung 42b). Wie bei den Helminthen üblich, handelt es sich bei der Retraktormuskulatur der Acanthoren um eine schräggestreifte Längsmuskulatur, die regelmäßig angeordnete Z-Scheiben besitzt (siehe Abbildung 93, 94, 103).

Die subepitheliale Muskulatur setzt sich bei *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* aus zwölf und bei *P. ambiguus* aus zehn Längsmuskelsträngen zusammen, die peripher liegend direkt unter dem Epithel des Acanthors verlaufen und mehr oder weniger spiralg angeordnet sind (siehe Abbildung 94, 95, 98, 99, 100, 101, 102). Diese subepithelialen Muskelstränge, die normalerweise einen gleichmäßigen Durchmesser aufweisen (siehe Tabelle 11), ziehen vom caudalen Pol bis weit in Richtung apikaler Pol des entsprechenden Acanthors. Bei allen drei untersuchten Acanthocephalenarten *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* reicht die subepitheliale Muskulatur der Acanthoren bis zu den hintersten apikalen Hakenreihen (siehe Abbildung 96a). D.h., einzig im vordersten Bereich der untersuchten Acanthoren ist keine subepitheliale Muskulatur vorhanden (siehe Abbildung 93a, 97a-b, 100a, 103 u. REITZE, 1998). Im Gegensatz dazu ist die subepitheliale Muskulatur im übrigen Körper großflächig vorhanden (siehe Abbildung 94, 95, 98, 99, 101, 102).

Die Muskelstränge der subepithelialen Muskulatur sind nur durch einen schmalen cytoplasmatischen Bereich voneinander getrennt, so dass fast unter der gesamten Oberfläche der Acanthoren eine kontraktile Muskelschicht existiert (siehe Abbildung 94, 95a, 102). Dieses großflächige Vorkommen der subepithelialen Muskulatur ermöglicht es den Acanthoren ihren mittleren bzw. caudalen Körperbereich zu kontrahieren. Die simultane Kontraktion der zehn subepithelialen Muskelstränge führt an der Oberfläche der Acanthoren zur Ausbildung von charakteristischen und tiefen Körperfalten (siehe Abbildung 95b, 98, 100a, 101a-b und 3.10.5). Zwischen den einzelnen Körperfalten befinden sich schmale Streifen (ZB), die eine glatte Oberflächenbeschaffenheit aufweisen (siehe Abbildung 80b, 82, 89). Interessanterweise wird die Oberfläche von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* gerade in diesen Bereichen zwischen zwei Körperfalten äußerst selten durch Ausführgänge des fusionierten Kryptensystems durchbrochen.

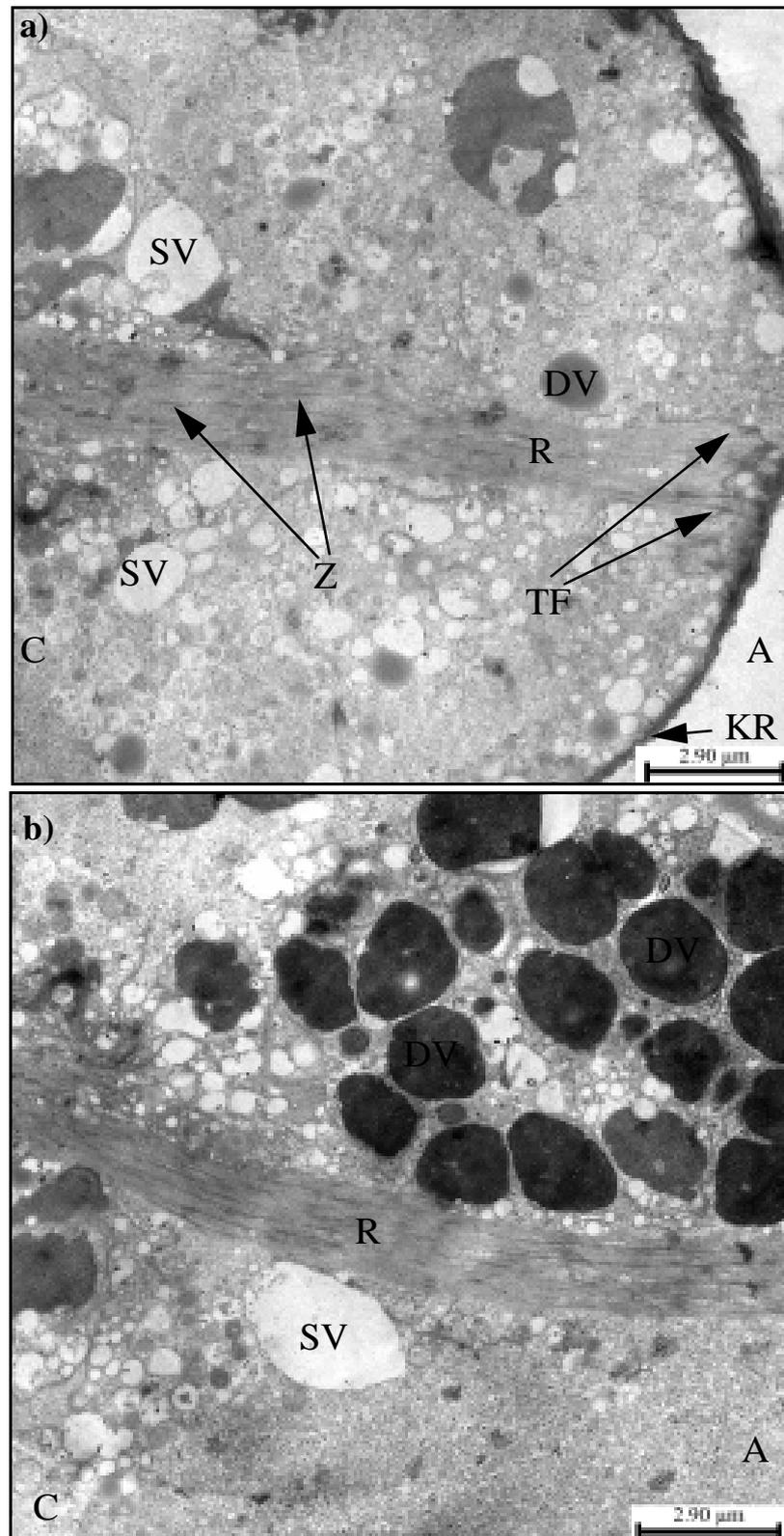
Die einzelnen subepithelialen Muskelstränge inserieren bei den untersuchten Acanthoren sowohl mit Hilfe von Desmosomen als auch Tonofilamenten an der intrasyncytialen Verdichtung des Acanthorepithels (siehe Abbildung 95a, 98, 99b, 102). Die subepitheliale Muskulatur weist weder zu den zahlreichen Körperstacheln noch zu den apikalen Haken eine direkte Verbindung auf (siehe Abbildung 81, 92).

Die subepithelialen Längsmuskelstränge setzen sich aus einem peripher gelegenen kontraktilen Bereich und einem proximalen cytoplasmatischen Bereich, der interessanterweise nur in Querschnitten der Acanthoren zu erkennen ist, zusammen (siehe Abbildung 94, 95a, 98, 99, 102). Dieser proximale cytoplasmatische Bereich der subepithelialen Muskelstränge ist stets reich an großen "Schleimvesikeln". Die subepitheliale Muskulatur der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* besitzt außerdem mehr oder weniger regelmäßig angeordnete Z-Scheiben, die eine einheitliche Orientierung und Form aufweisen (siehe Abbildung 95, 98, 99, 101c-d, 102). Alle Z-Scheiben der subepithelialen Muskelstränge sind radial ausgerichtet. Diese Anordnung der Z-Scheiben deutet darauf hin, dass es sich bei der subepithelialen Muskulatur um eine glatte Muskulatur handelt.

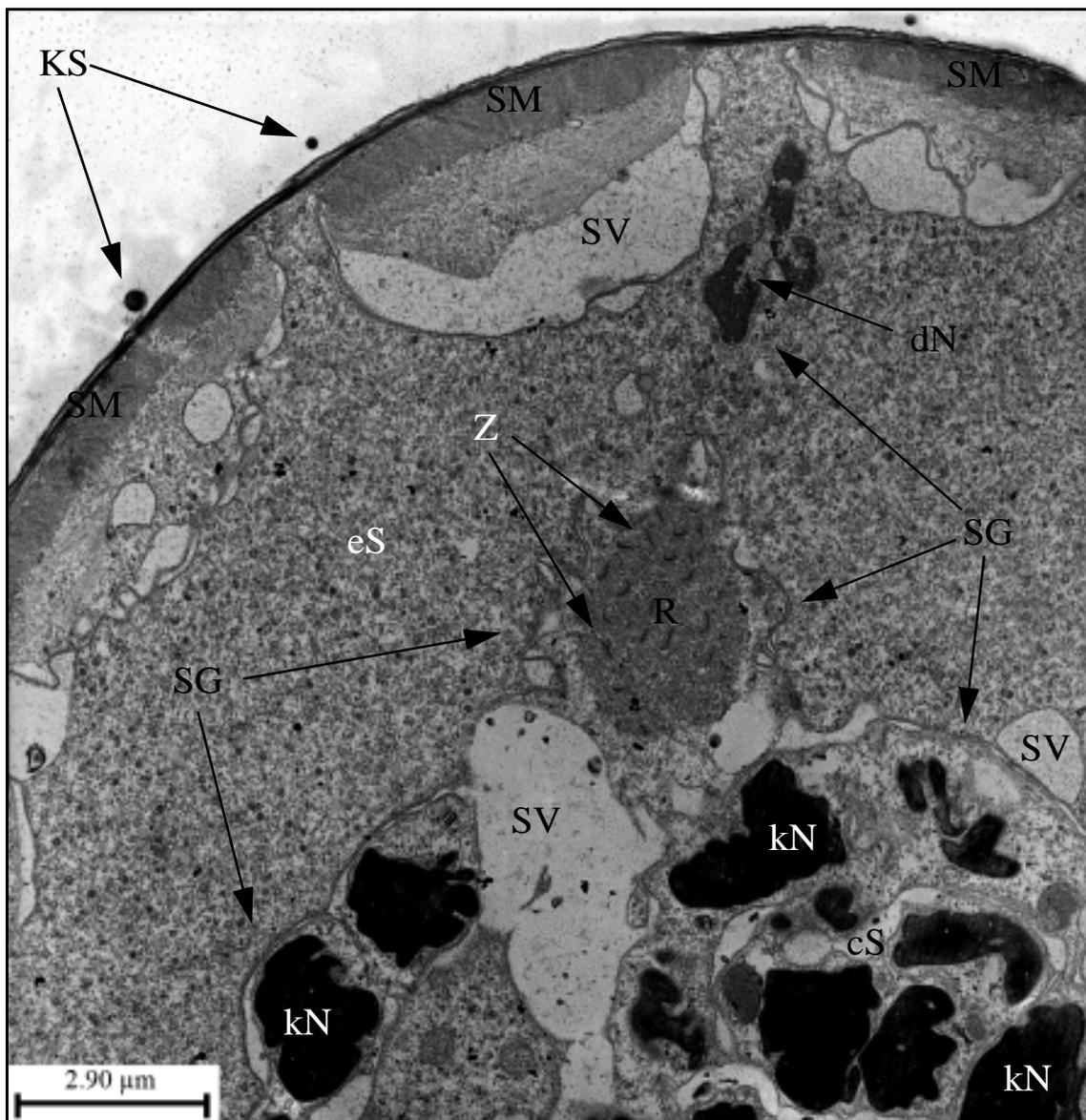
---

Tabelle 11: Kenndaten zur Muskulatur der geschlüpften Acanthoren (alle Angaben in  $\mu\text{m}$ ).

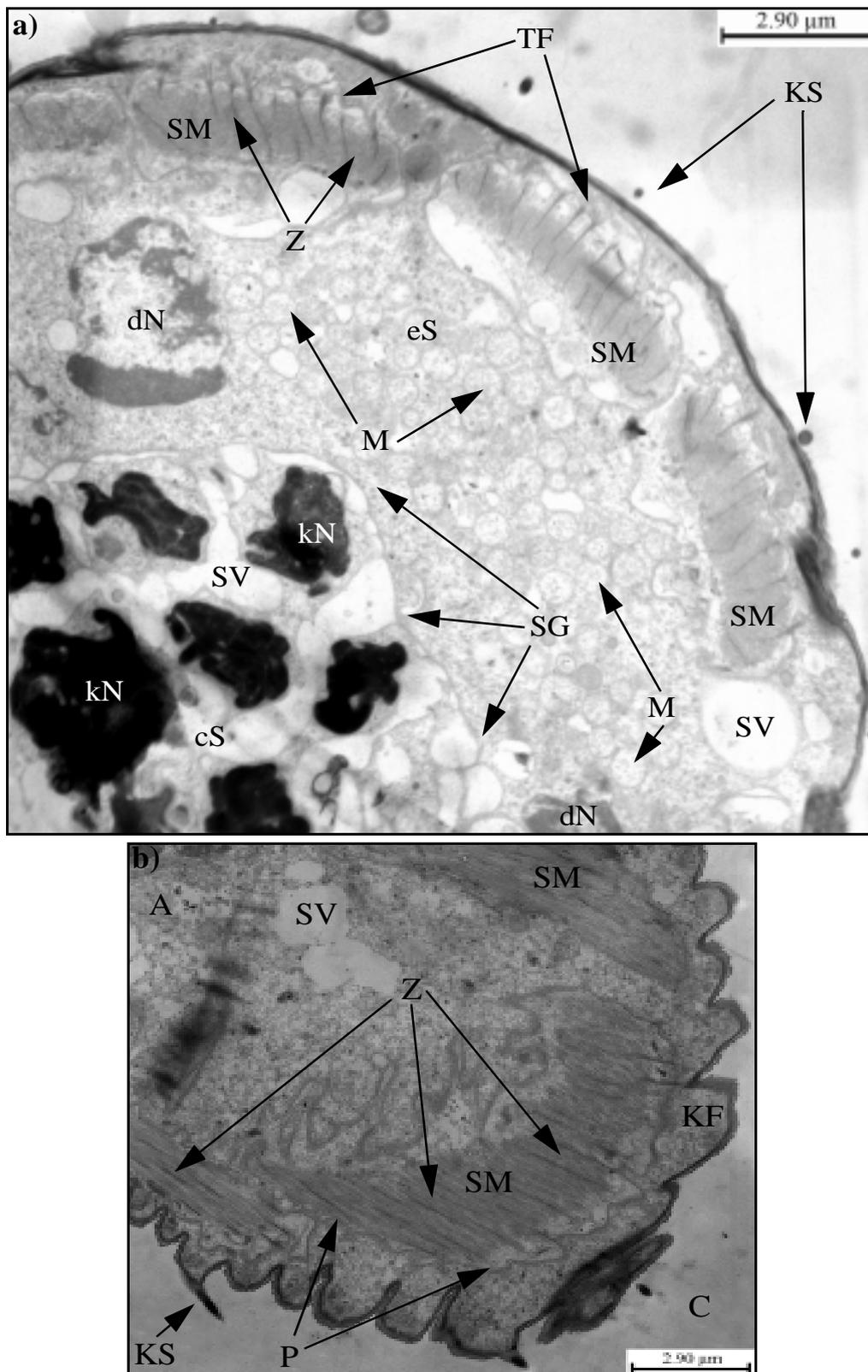
	<i>M. moniliformis</i>	<i>M. hirudinaceus</i>	<i>P. ambiguus</i>
Durchmesser der Retraktormuskulatur	1.96 - 3.00	1.45 - 4.79	0.6 - 2.3
Breite der Z-Scheiben der Retraktormuskulatur	0.08 - 0.11	0.05-0.09	0.03 - 0.06
Länge der Z-Scheiben der Retraktormuskulatur	0.3 - 1.5	0.6 - 1.7	0.3 - 0.8
Durchmesser des kontraktiven Bereichs der subepithelialen Muskulatur	0.5 - 0.8	1.3 - 2.7	0.6 - 1.4
Durchmesser des cytoplasmatischen Bereichs der subepithelialen Muskulatur	1.76 - 2.65	0.92 - 1.78	0.43 - 0.83
Breite der subepithelialen Muskelstränge	4.8 - 6.0	2.9 - 7.9	2.5 - 3.1
Abstand zwischen zwei subepithelialen Muskelsträngen	0.9 - 1.4	0.1 - 4.2	0.4 - 1.0
Abstand der subepithelialen Muskelstränge zur intrasyntialen Verdichtung	0.06 - 0.51	0.29 - 1.3	0.2 - 0.5
Breite der Z-Scheiben der subepithelialen Muskulatur	0.09 - 0.17	0.14 - 0.33	0.14 - 0.38
Länge der Z-Scheiben der subepithelialen Muskulatur	0.67 - 1.7	0.44 - 1.3	0.18 - 0.32
Durchschnittliche Anzahl der Körperfalten (n)	38	38	20
Breite der Körperfalten	0.8 - 1.4	0.4 - 1.0	0.9 - 1.8
Tiefe der Körperfalten	0.7 - 1.2	0.8 - 1.3	0.5 - 2.1



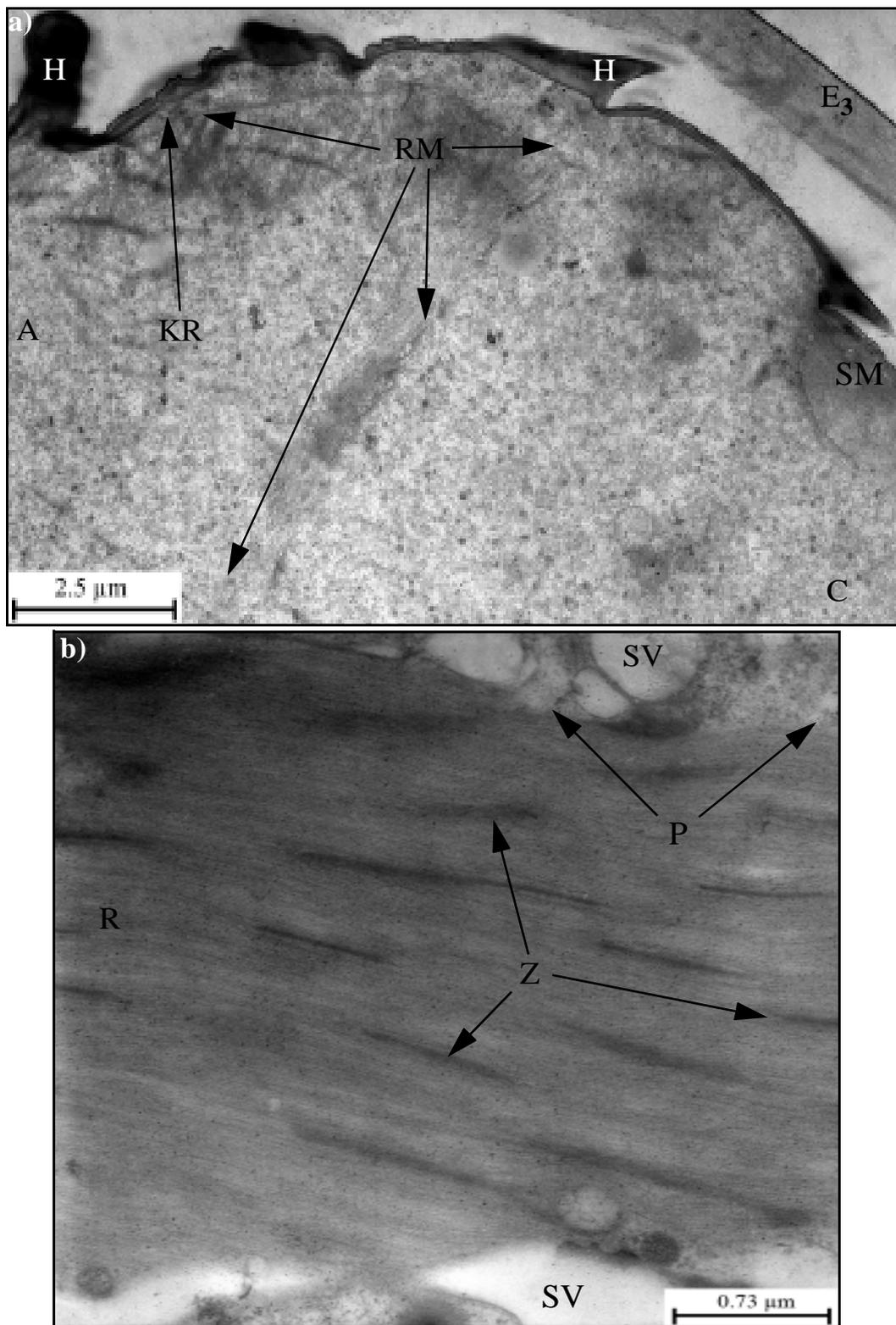
**Abbildung 93** Die Retraktormuskulatur des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** TEM-Längsschnitt durch den apikalen Pol. **b)** Detailaufnahme der Retraktormuskulatur. A: apikal, C: caudal, DV: Dottervesikel, KR: Krypte, R: Retraktormuskulatur, SV: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, TF: Tonofilamente als Anheftungsstrukturen der Retraktormuskulatur, Z: Z-Scheibe



**Abbildung 94** TEM-Querschnitt durch den mittleren Körperbereich des Acanthors von *M. moniliformis*. *cS*: zentrales Syncytium, *dN*: dekondensierter Nucleus, *eS*: epidermales Syncytium, *kN*: kondensierter Nucleus, *KS*: Körperstachel, *R*: Retraktormuskulatur, *SG*: Syncytiengrenze, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z*: Z-Scheibe

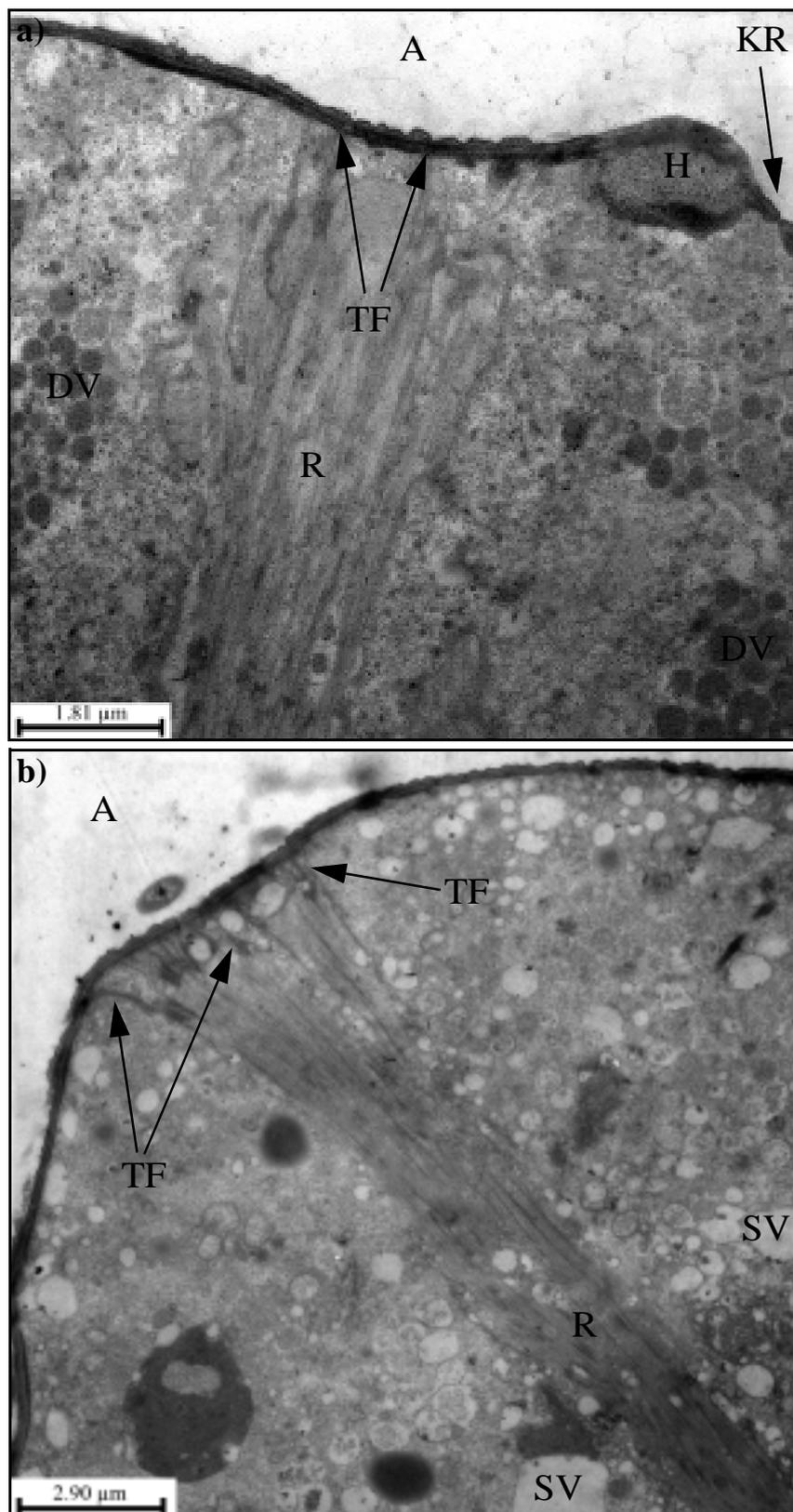


**Abbildung 95** Die subepitheliale Muskulatur des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Querschnitt durch Körperfalten des Acanthors. **b)** Längsschnitt durch das Körperende des Acanthors. *A*: apikal, *C*: caudal, *cS*: zentrales Syncytium, *dN*: dekondensierter Nucleus, *eS*: epidermales Syncytium, *kN*: kondensierter Nucleus, *KF*: Körperfalte, *KS*: Körperstachel, *M*: Mitochondrium, *P*: Plasmamembran, *SG*: Syncytiengrenze, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *TF*: Tonofilamente als Anheftungstrukturen, *Z*: Z-Scheibe

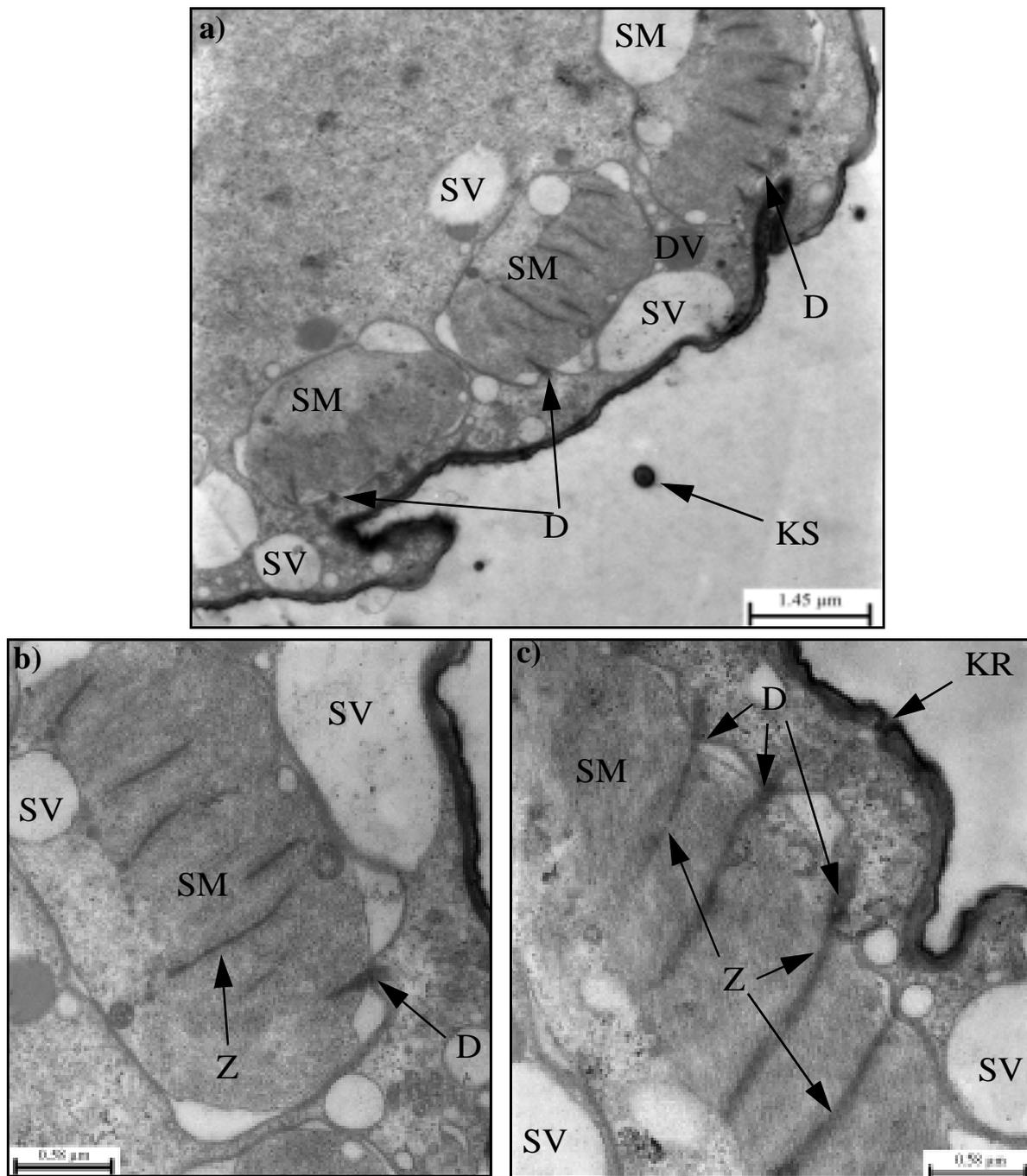


**Abbildung 96** Die Muskulatur des Acanthors von *M. moniliformis*.

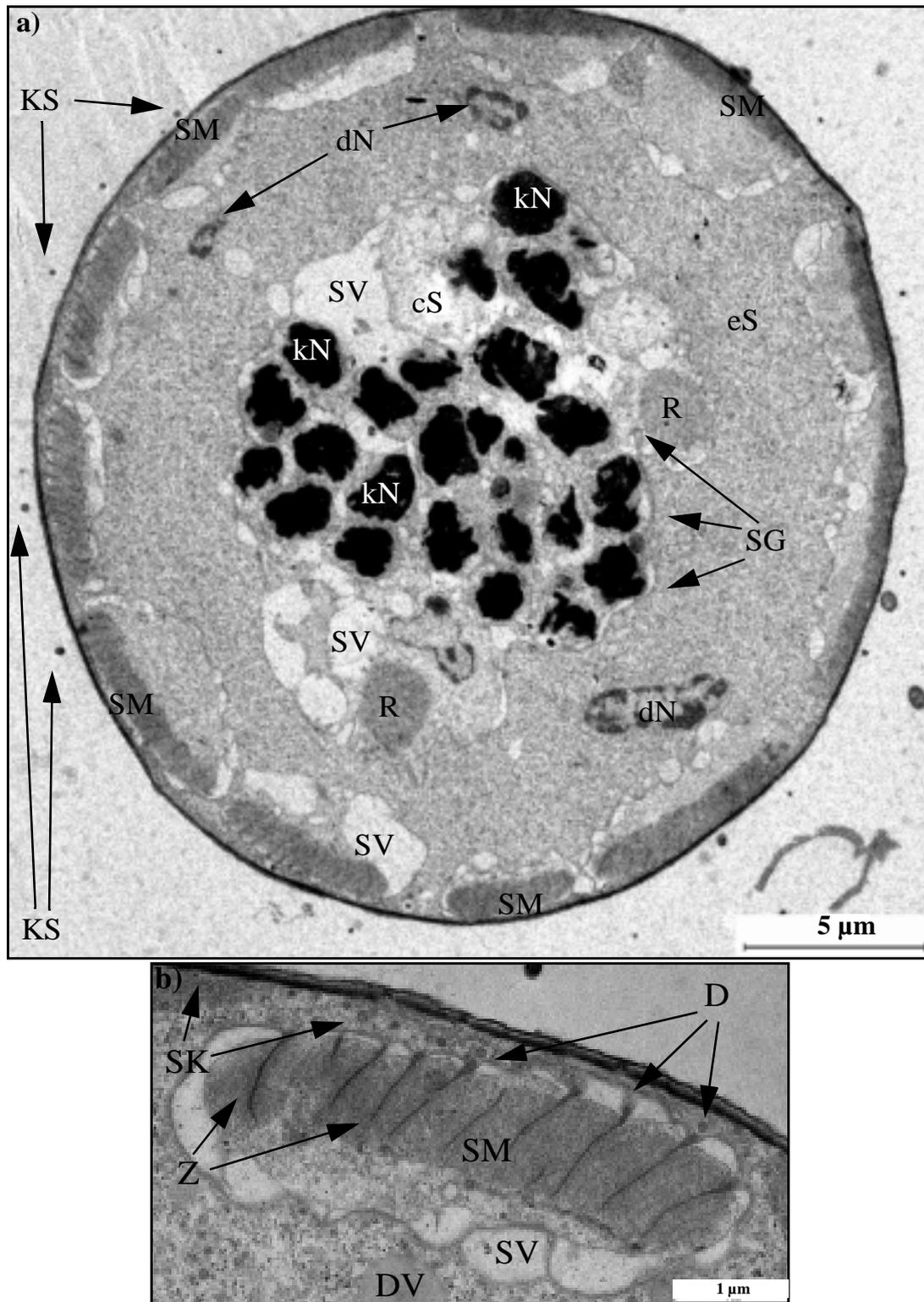
**a)** Am apikalen Pol verläuft ein ringförmiger Muskelstrang. **b)** Detailaufnahme der Retraktormuskulatur des Acanthors. *A*: apikal, *C*: caudal, *E<sub>3</sub>*: drittäußerste Eihülle, *H*: Haken, *KR*: Krypte, *P*: Plasmamembran, *R*: Retraktormuskulatur, *RM*: ringförmig verlaufender Muskelstrang am apikalen Pol des Acanthors, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z*: Z-Scheibe



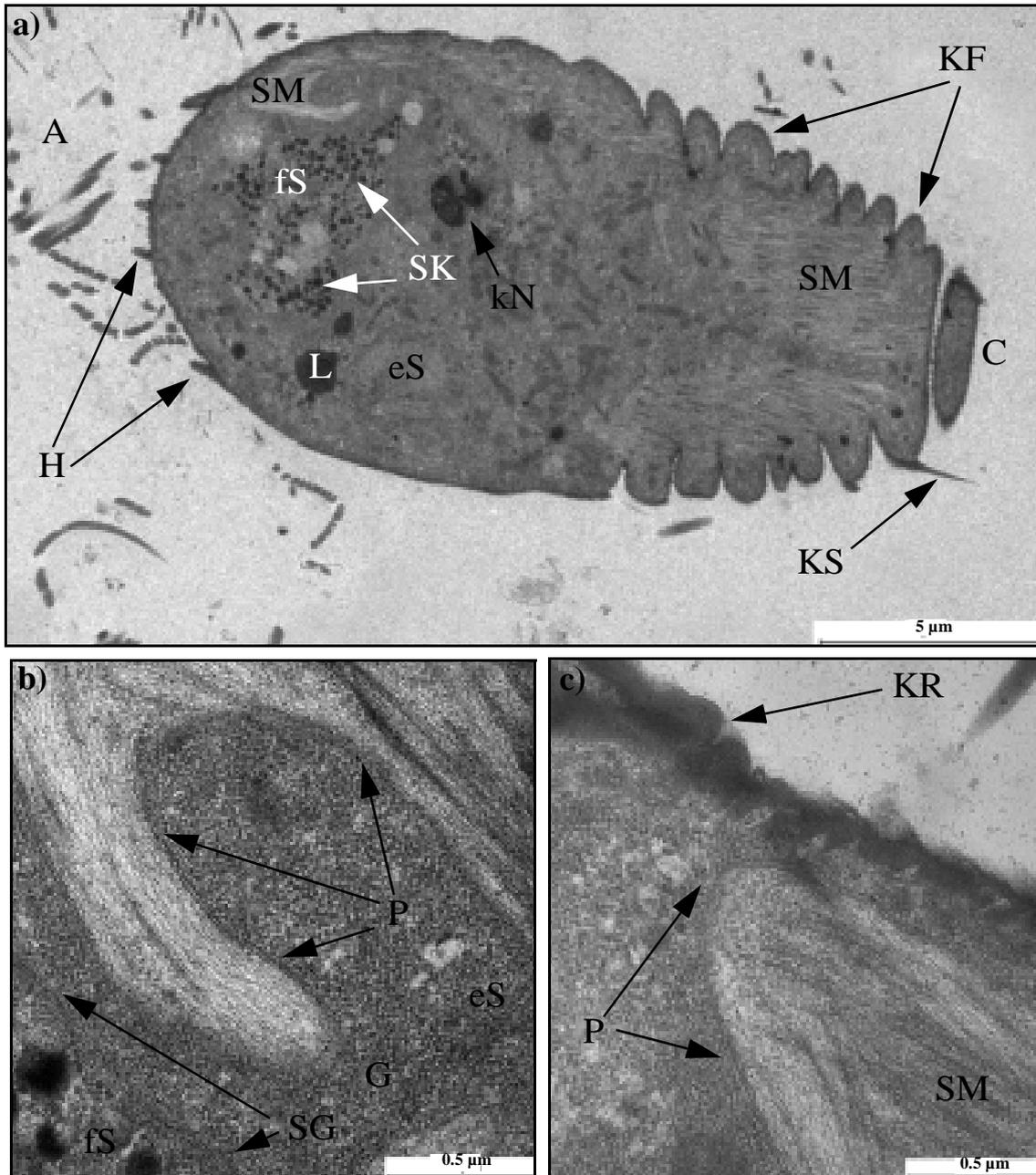
**Abbildung 97** Die Retraktormuskulatur des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Längsschnitt durch den apikalen Pol des Acanthors. **b)** Anheftungsstrukturen der Retraktormuskulatur am apikalen Pol des Acanthors. *A*: apikal, *H*: Haken, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *R*: Retraktormuskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *TF*: Tonofilamente als Anheftungsstrukturen der Retraktormuskulatur



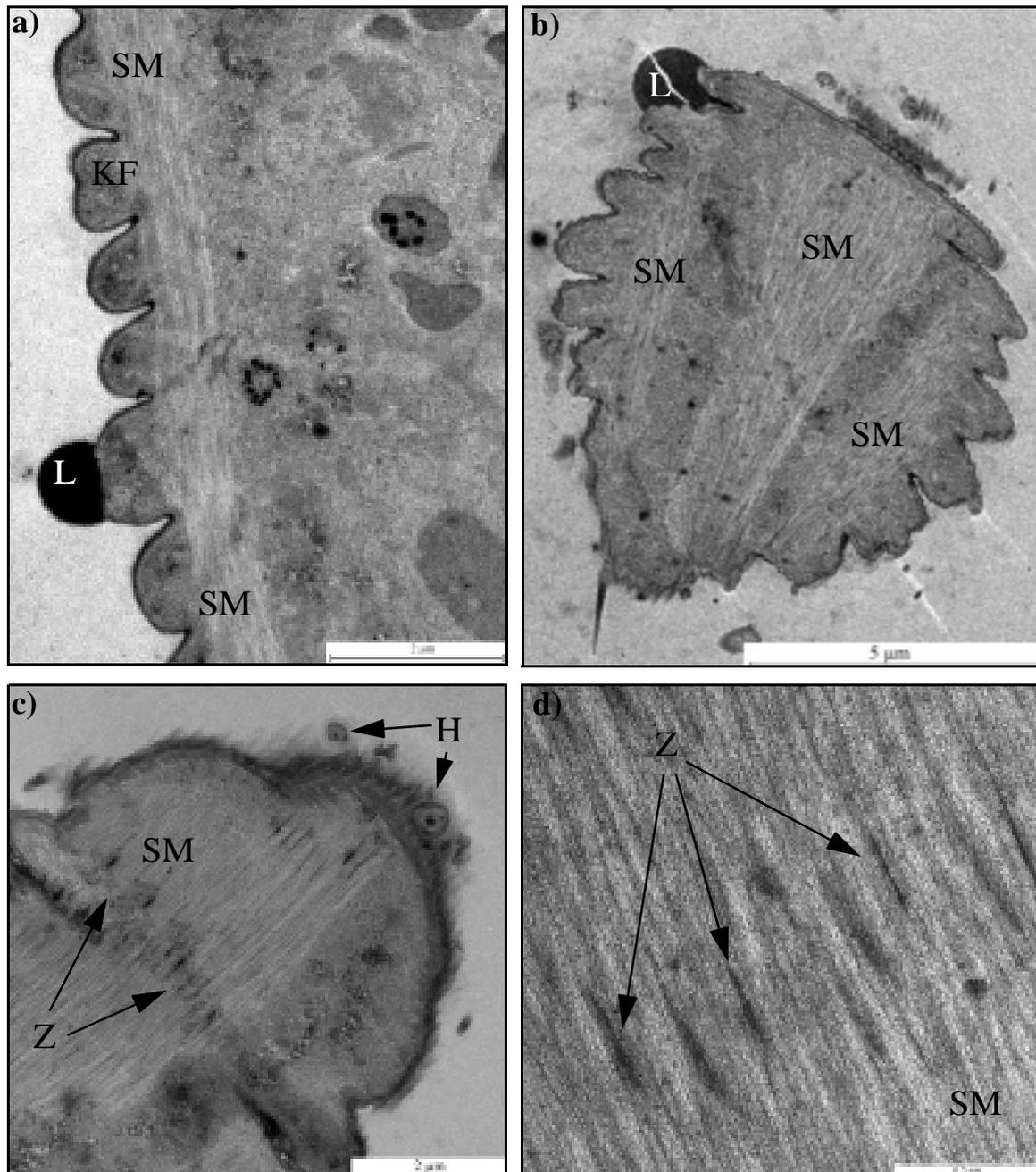
**Abbildung 98** Die subepitheliale Muskulatur des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Mehrere Muskelstränge der subepithelialen Muskulatur. **b)** Detailaufnahme eines subepithelialen Muskelstranges. **c)** Die Anheftungsstrukturen der subepithelialen Muskulatur. *D*: Desmosom, *DV*: Dottervesikel, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *KS*: Körperstachel, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z*: Z-Scheibe



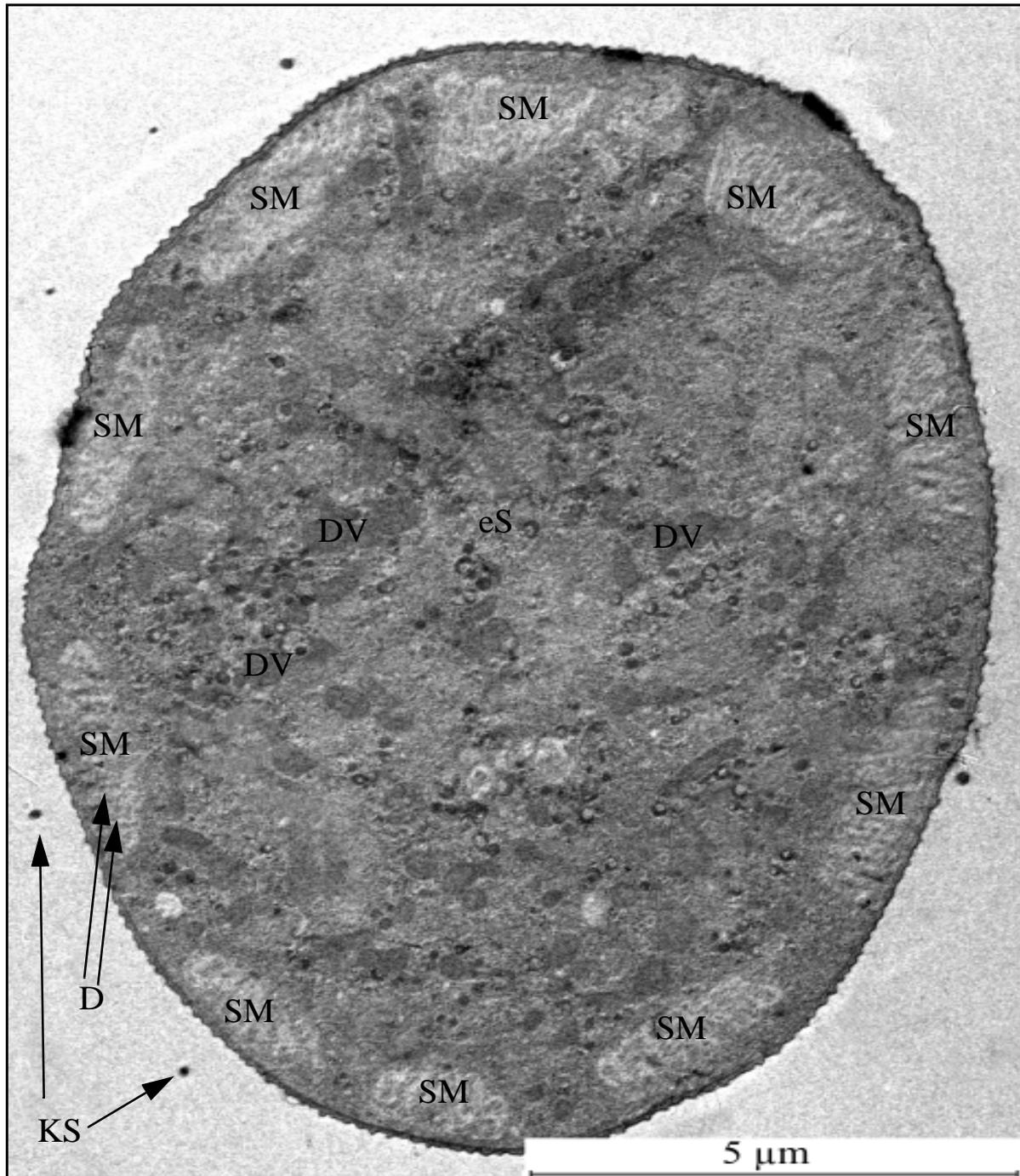
**Abbildung 99** Querschnitt durch den mittleren Körperbereich des Acanthors von *M. hirudinaceus*.  
**a)** Gesamter Querschnitt im Überblick. **b)** Ausschnittsvergrößerung von subepithelialer Muskulatur.  
*cS*: zentrales Syncytium, *D*: Desmosom, *dN*: dekondensierter Nucleus, *DV*: Dottervesikel, *eS*: epidermales Syncytium, *kN*: kondensierter Nucleus, *KS*: Körperstachel, *SG*: Syncytiengrenze, *SK*: Sekretvesikel, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z*: Z-Scheibe



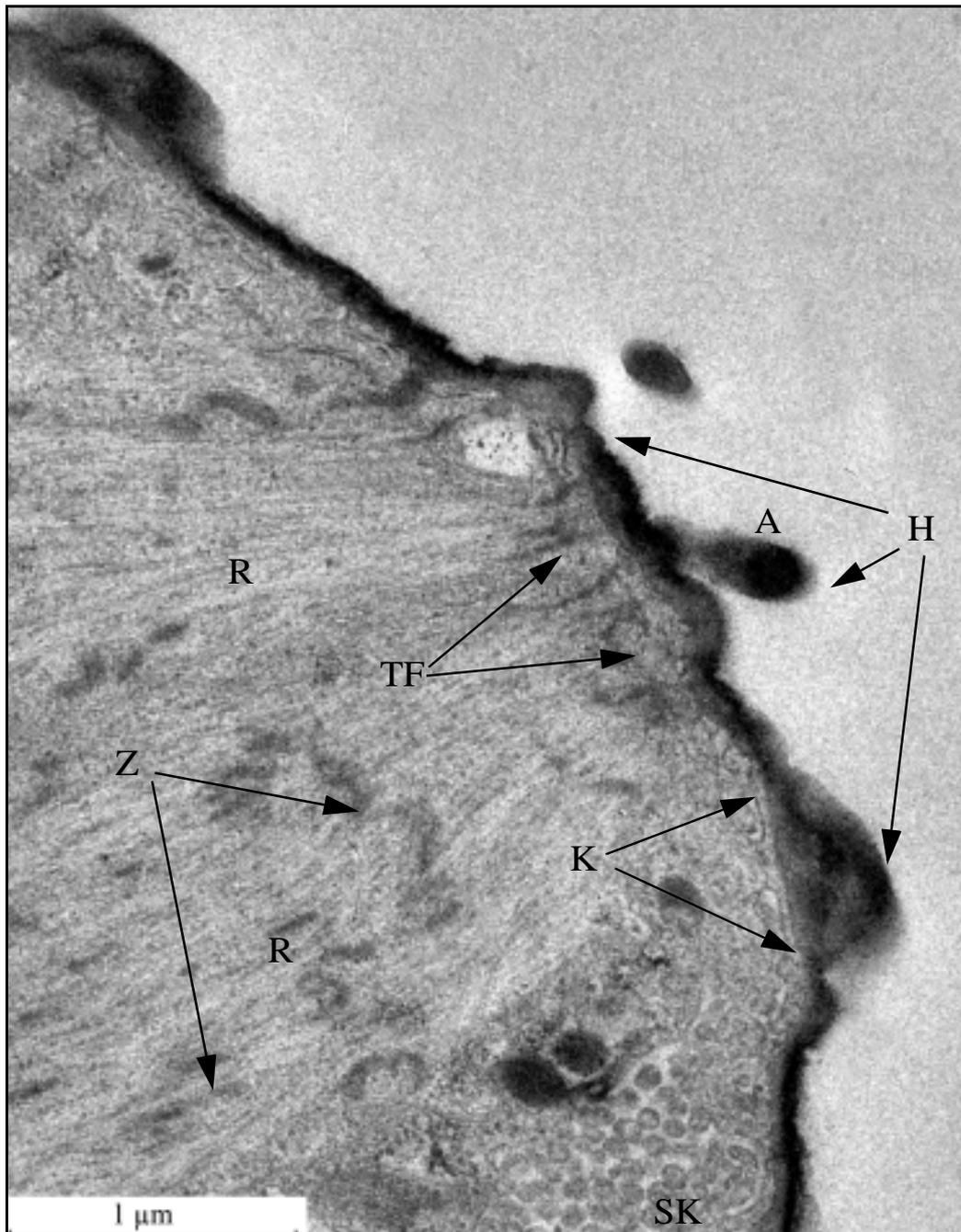
**Abbildung 100** Die Muskulatur des Acanthors des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*. **a)** Längsschnitt durch einen geschlüpften Acanthor von *P. ambiguus*. **b)** Ausschnittsvergrößerung von Abbildung 100a. **c)** Ausschnittsvergrößerung der subepithelialen Muskulatur von *P. ambiguus*. A: apikal, C: caudal, eS: epidermales Syncytium, fS: frontales Syncytium, G: Glykogen, H: Haken, KF: Körperfalten, kN: kondensierter Nucleus, KS: Körperstachel, KR: Krypte des fusionierten Kryptensystems, L: Lipidtropfen, P: Plasmamembran, SG: Syncytiengrenze, SK: Sekretvesikel, SM: subepitheliale Muskulatur



**Abbildung 101** Die subepitheliale Muskulatur des Acanthors von *P. ambiguus*. **a)** Die subepitheliale Muskulatur verläuft direkt unter der Oberfläche des Acanthors. **b)** Die subepitheliale Muskulatur verläuft vom caudalen Pol des Acanthors bis zum apikalen Bereich des Acanthors. **c)** Auffächerung der subepithelialen Muskulatur. **d)** Detailaufnahme der subepithelialen Muskulatur.  
*H:* Haken, *KF:* Körperfalte, *L:* Lipidtropfen, *SM:* subepitheliale Muskulatur, *Z:* Z-Scheibe



**Abbildung 102** Querschnitt durch den caudalen Bereich des Acanthors von *P. ambiguus*.  
*D*: Desmosom, *DV*: Dottervesikel, *eS*: epidermales Syncytium, *KS*: Körperstachel, *SM*: subepitheliale Muskulatur



**Abbildung 103** Die Retraktormuskulatur des Acanthors von *P. ambiguus*.  
A: apikal, H: Haken, K: Kanal des fusionierten Kryptensystems, R: Retrakturmuskulatur,  
SK: Sekretvesikel, TF: Tonofilamente als Anheftungsstrukturen, Z: Z-Scheibe

### 3.10.5 Die Oberfläche und das fusionierte Kryptensystem des Acanthors

Die Oberfläche der Acanthoren der beiden Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* und des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* wird stets von einer pentalaminaren Plasmamembran (VOLKMANN, 1993) gebildet, die intrasyncytial von einer dicken Schicht aus verdichteter, amorpher Substanz unterlagert wird. Diese Schicht amorpher Substanz ist bei *M. moniliformis* durchschnittlich 73.5 nm dick, bei *M. hirudinaceus* 80.4 nm und bei *P. ambiguus* 90.4 nm (siehe Tabelle 12 auf Seite 167). Durch Ausstülpung dieser mehrschichtigen Plasmamembran, die extrazellulär eine glatte Oberflächenbeschaffenheit aufweist, und der der Membran unterlagerten Schicht aus amorpher Substanz werden bei allen untersuchten Acanthocephalenarten sowohl die apikalen Haken als auch die kleineren Körperstacheln ausgebildet (siehe Abbildung 67, 68, 72a, 73, 74, 81, 85, 116b). Während die apikale Region der Acanthoren durch die spiralg angeordneten, spitzen Haken geprägt ist (siehe 3.10.2), ist die caudale Region der Acanthoren durch zahlreiche kleinere Körperstacheln gekennzeichnet, die über den gesamten Hinterleib der Acanthoren verteilt sind (siehe Abbildung 104, 110, 3.10.3).

Die Körperoberfläche der Acanthoren ist nicht über die gesamte Körperlänge identisch strukturiert (siehe Abbildung 104a, 110). Während die apikale Region der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* einige Längsfurchen und eine relativ "schrumpelige" Oberflächenstruktur aufweist (siehe Abbildung 57, 58, 59, 63, 77, 92, 110, 111), verändert sich die Gestalt des caudalen Körperbereiches ständig. Das Erscheinungsbild des caudalen Körperbereichs der Acanthoren reicht je nach Bewegungsphase der Acanthoren von einem vollkommen gestreckten Zustand bis zu einem vollkommen komprimierten Zustand (siehe Abbildung 45, 58, 59, 63).

Diese Gestaltsveränderungen kommen durch Kontraktion bzw. Erschlaffung der zehn bzw. zwölf subepithelialen Längsmuskelstränge zustande, welche die Acanthoren von *P. ambiguus* bzw. *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* unmittelbar unter der Oberfläche vom caudalen Pol der Acanthoren bis weit in deren apikalen Bereich durchziehen (siehe 3.10.4, Abbildung 61b-c). Eine Kontraktion der subepithelialen Muskelstränge, die lateral über Desmosomen an der intrasyncytialen Verdichtung des Epithels der Acanthoren inserieren, bewirkt die Ausbildung von zahlreichen Körperfalten (20-38), die quer zur Längsachse der Acanthoren verlaufen (siehe Abbildung 57, 58, 59, 61, 105, 106, 115). Die subepitheliale Muskulatur zieht jedoch unter den Körperfalten in gleichmäßigem Abstand vorbei und inseriert nicht in diesen (siehe Abbildung 106, 109, 114). Selbst bei erschlaffter subepithelialer Muskulatur weist die Oberfläche der Acanthoren im Bereich der Körperfalten keinen völlig ebenen Verlauf auf, sondern ist von zahlreichen kleineren Falten geprägt, die unregelmäßig verlaufen (siehe Abbildung 110, 118).

Bei den größeren Einfaltungen der Oberfläche der Acanthoren, den Körperfalten (siehe Abbildung 104b, 105, 114), handelt es sich um relativ symmetrische Gebilde, die bei *M. moniliformis* durchschnittlich 0.7-1.2  $\mu\text{m}$  tief und 0.8-1.4  $\mu\text{m}$  breit, bei *M. hirudinaceus* 0.8-1.3  $\mu\text{m}$  tief und 0.4-1.0  $\mu\text{m}$  breit und bei *P. ambiguus* 0.5-2.1  $\mu\text{m}$  tief und 0.9-1.8  $\mu\text{m}$  breit sind (siehe Abbildung 92 bzw. Tabelle 12).

Die Körperfalten der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* sind unmittelbar unter der verdichteten Schicht aus amorpher Substanz von einem fein verzweigtem Kanalsystem eines fusionierten Kryptensystems durchzogen, das zahlreiche elektronendichte Vesikel enthält (siehe Abbildung 106b, 107, 108, 112, 120). Außerdem ist innerhalb des Kanalsystems des fusionierten Kryptensystems ein ausgeprägtes Lakunensystem vorhanden, das als Reservoir für die Sekretvesikel bzw. Granula dient (siehe Abbildung 103). Diese Sekretvesikel bzw. Granula werden vermutlich während der Darmwandpenetration von dem Acanthor über seine Krypten, die durch das feinverzweigte, subepitheliale Kanalsystem miteinander vernetzt sind, ausgeschieden (siehe Abbildung 67, 68, 71, 73, 78, 79, 82, 83, 84, 89, 91, 108, 113, 117b).

Die Acanthoroberfläche weist gerade im Bereich der Körperfalten zahlreiche Ausführungsgänge dieses fusionierten Kryptensystems auf, die sogar noch im Bereich des caudalen Pols der Acanthoren vorhanden sind (siehe Abbildung 86, 96, 120). Interessanterweise wird bei allen untersuchten Krypten der Durchmesser dieser Krypten stets von innen nach außen geringer. Diese auffällige Konstruktion der einzelnen Krypten suggeriert, dass diese elektronendichten Vesikel von den entsprechenden Acanthoren über die Krypten nach außen ausgeschieden werden. Würden die Krypten der Aufnahme von Stoffen dienen, sollte ihr Durchmesser von außen nach innen abnehmen. Außerdem müssen die Acanthoren keinerlei Nährstoffe aufnehmen, da sie intrasyncytial große Energievorräte an Glykogen eingelagert haben (siehe Abbildung 117a). Außerdem konnten sowohl auf der Oberfläche der Acanthoren von *P. ambiguus* als auch auf der Oberfläche der Acanthoren von *M. moniliformis* Vesikel beobachtet werden, die von ihrem Aussehen und ihrer Größe den elektronendichten Vesikeln im Lakunensystem des fusionierten Kryptensystems entsprechen. Diese Vesikel können aufgrund ihrer Größe problemlos von den Acanthoren über die Krypten sezerniert werden (siehe Tabelle 10 auf Seite 150).

Bei allen drei untersuchten Acanthocephalenarten *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* nahm die Anzahl der Krypten pro  $\mu\text{m}^2$  vom apikalen Pol hin zum caudalen Pol deutlich ab (siehe Tabelle 12). Im apikalen Bereich waren die Ausführungsgänge des Kryptensystems hauptsächlich in unmittelbarer Nähe zur Basis jedes einzelnen apikalen Hakens zu finden und dort besonders häufig (siehe Abbildung 63b, 67, 68a-b, 71, 73, 78, 80). Außerdem konnten Krypten direkt in der Basis der Haken bzw. Körperstacheln der Acanthoren festgestellt werden (siehe Abbildung 67, 78, 80c, 92b). Im Gegensatz zu früheren Vermutungen verschiedener Acanthocephalenspezialisten konnten weder bei den Acanthoren von *M. moniliformis* noch bei den Acanthoren von *M. hirudinaceus* oder *P. ambiguus* in den Spitzen der apikalen Haken bzw. caudalen Körperstacheln Ausführungsgänge des Kryptensystems nachgewiesen werden (siehe 3.10.2 u.

3.10.3). Die Haken bzw. Körperstacheln der Acanthoren besitzen zwar im Bereich ihrer Basis eine cytoplasmatische Zone, die Haken- bzw. Körperstachelspitzen selbst sind jedoch massiv aufgebaut (siehe Abbildung 66, 71, 75, 80).

Im mittleren bis caudalen Körperbereich der Acanthoren sind die einzelnen Krypten zahlreich im Bereich der Körperfalten flächig verteilt (siehe Abbildung 67, 68, 71, 73, 78, 79, 82, 83, 84, 89, 91). Erstaunlicherweise befindet sich bei allen untersuchten Acanthoren zwischen zwei Körperfalten stets ein schmaler Streifen, in welchem nur sehr wenige Krypten des fusionierten Kryptensystems die Oberfläche der Acanthoren durchbrechen (siehe Abbildung 71, 82).

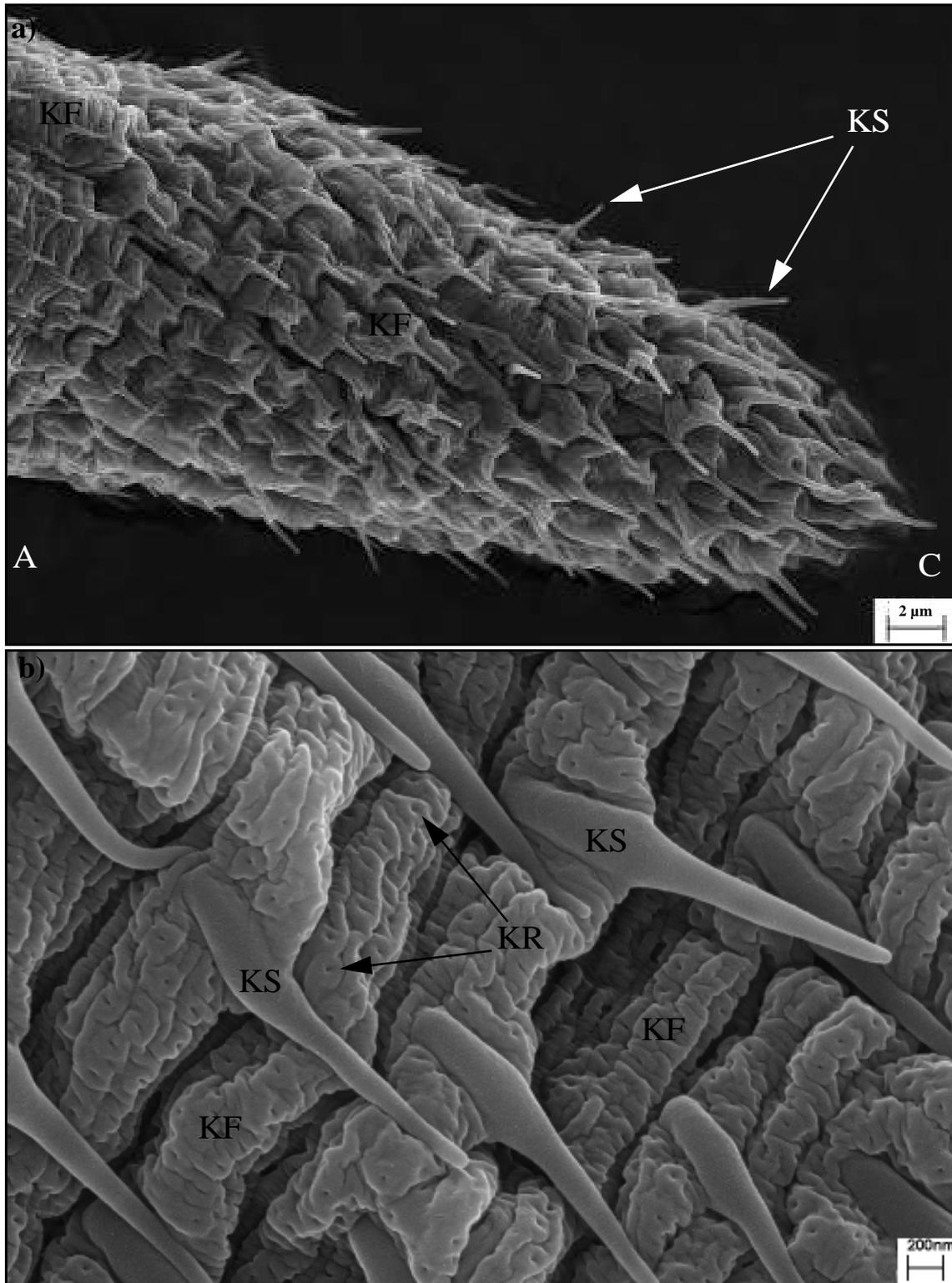
**Tabelle 12:** Kenngrößen der caudalen Körperfalten bzw. Verteilung der Ausführungsgänge des fusionierten Kryptensystems entlang der Längsachse der Acanthoren.

	<i>M. moniliformis</i>	<i>M. hirudinaceus</i>	<i>P. ambiguus</i>
<b>Durchschnittliche Körperfaltenbreite (KF) (in <math>\mu\text{m}</math>)</b>	0.8 - 1.4	0.4 - 1.0	0.9 - 1.8
<b>Durchschnittliche Körperfaltentiefe (KF) (in <math>\mu\text{m}</math>)</b>	0.7 - 1.2	0.8 - 1.3	0.5 - 2.1
<b>Breite des Bereiches zwischen zwei Körperfalten (ZB) (in <math>\mu\text{m}</math>)</b>	0.18	0.27	0.05
<b>Anzahl der Krypten pro <math>\mu\text{m}^2</math> im apikalen Körperbereich</b>	34	36	21
<b>Anzahl der Krypten pro <math>\mu\text{m}^2</math> im mittleren Körperbereich</b>	26	27	17
<b>Anzahl der Krypten pro <math>\mu\text{m}^2</math> im caudalen Körperbereich</b>	16	18	14
<b>Durchschnittlicher Durchmesser der Krypten (KR) (in nm)</b>	30 - 80	40 - 63	18 - 48
<b>Durchmesser der Sekretvesikel (SK) (in nm)</b>	64-95	50 - 88	24 - 26

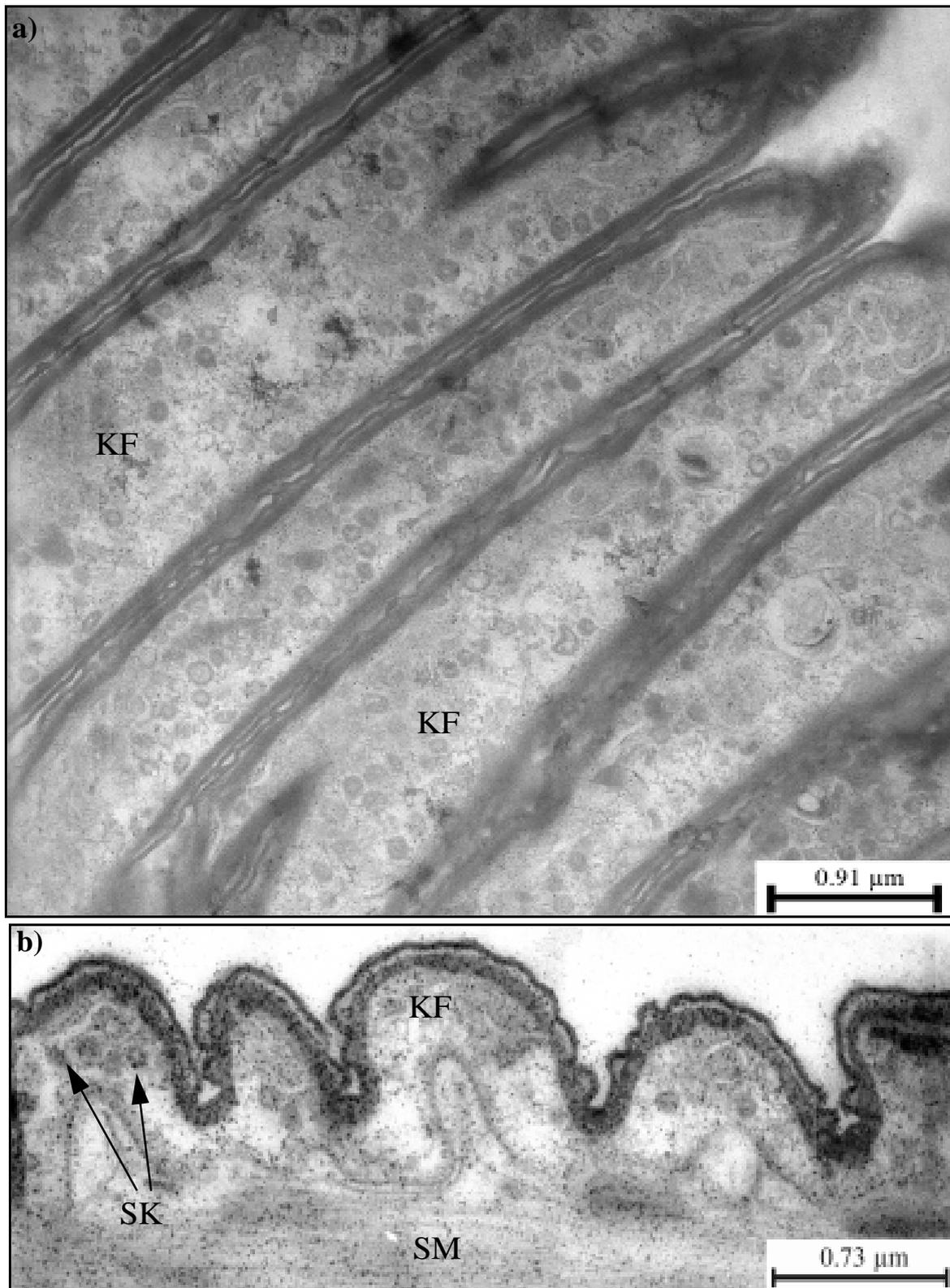
Auffällig an der Oberfläche der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* ist außerdem, dass der Oberfläche der Acanthoren stellenweise dicke "Tropfen" elektronendichten Materials anhaften, bei dem es sich offenbar um Lipid handelt. Insbesondere im eingestülpten Bereich der Körperfalten können derartige Lipidreste häufig auf der Oberfläche von geschlüpften Acanthoren detektiert werden (siehe Abbildung 92a, 100d, 101a-b, 119, 120).

Im Gegensatz zu den Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* besitzen die Acanthoren des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* eine auffällige Besonderheit. Vom apikalen Pol des Acanthors von *P. ambiguus* bis zu seinem caudalen Pol verlaufen zahlreiche schmale Längsrillen bzw. Längsfalten, die bei den beiden anderen Acanthocephalenarten nicht ausgebildet sind. Dadurch weist die Oberfläche des Acanthors von *P. ambiguus*, die sowohl die äußere Plasmamembran als auch die darunterliegende Schicht von amorphem Material umfasst, im Querschnitt einen zickzackförmigen bzw. kammartigen Verlauf auf (siehe Abbildung 115b-c, 116b, 117a, 119). Diese kammartige Anordnung von symmetrischen Einkerbungen in der Oberfläche des Acanthors von *P. ambiguus* (REITZE, 1998) ist bei den untersuchten Acanthoren einzigartig und bildet vermutlich eine Art Exoskelett. Im Gegensatz zur Oberfläche des Acanthors von *P. ambiguus* verläuft die Oberfläche des Acanthors von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* im Querschnitt nahezu eben. Das erwähnte Exoskelett des Acanthors von *P. ambiguus* dient mit großer Wahrscheinlichkeit der Stabilisierung des Acanthors während seiner Passage durch die Darmwand des Gammariden *G. tigrinus*.

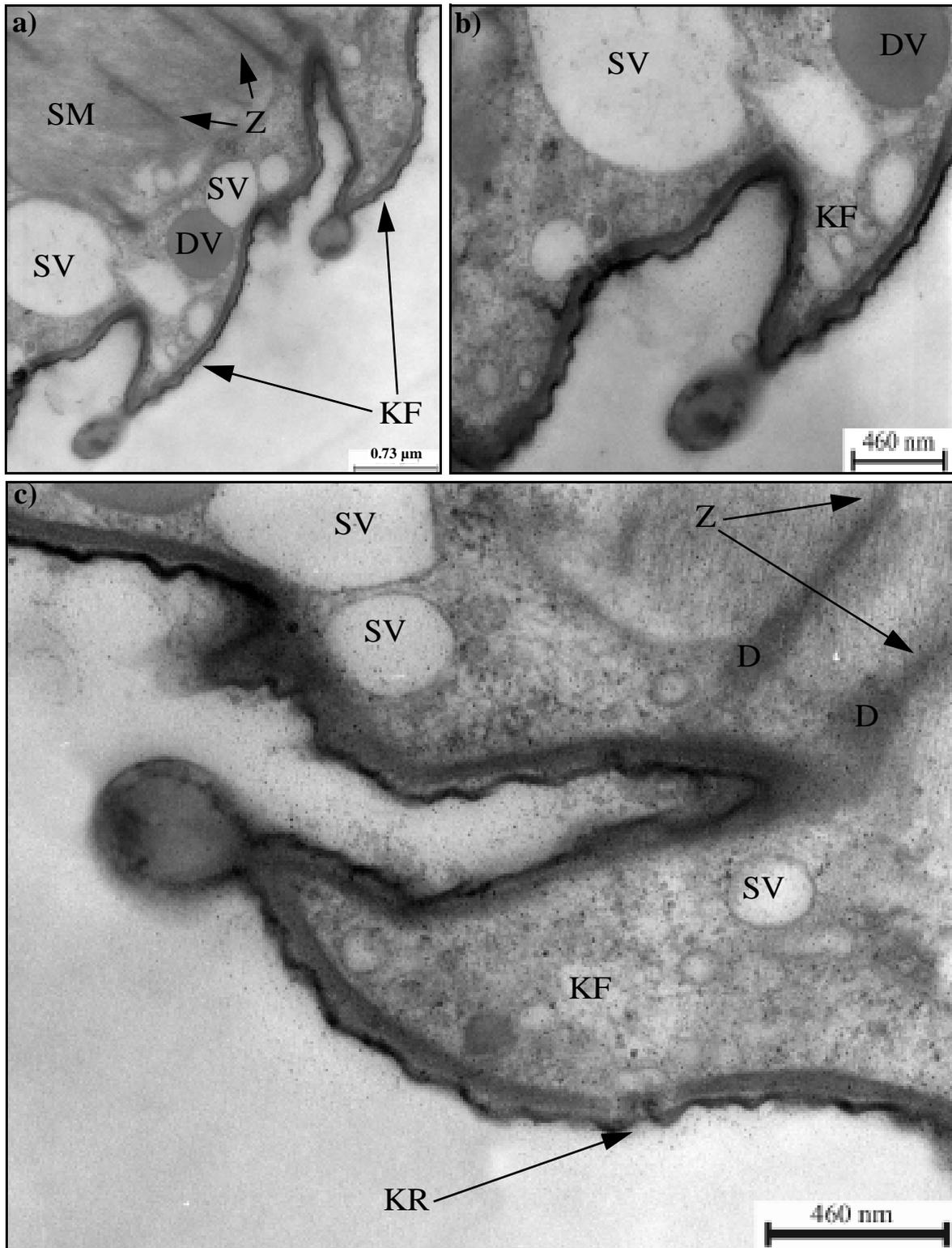
---



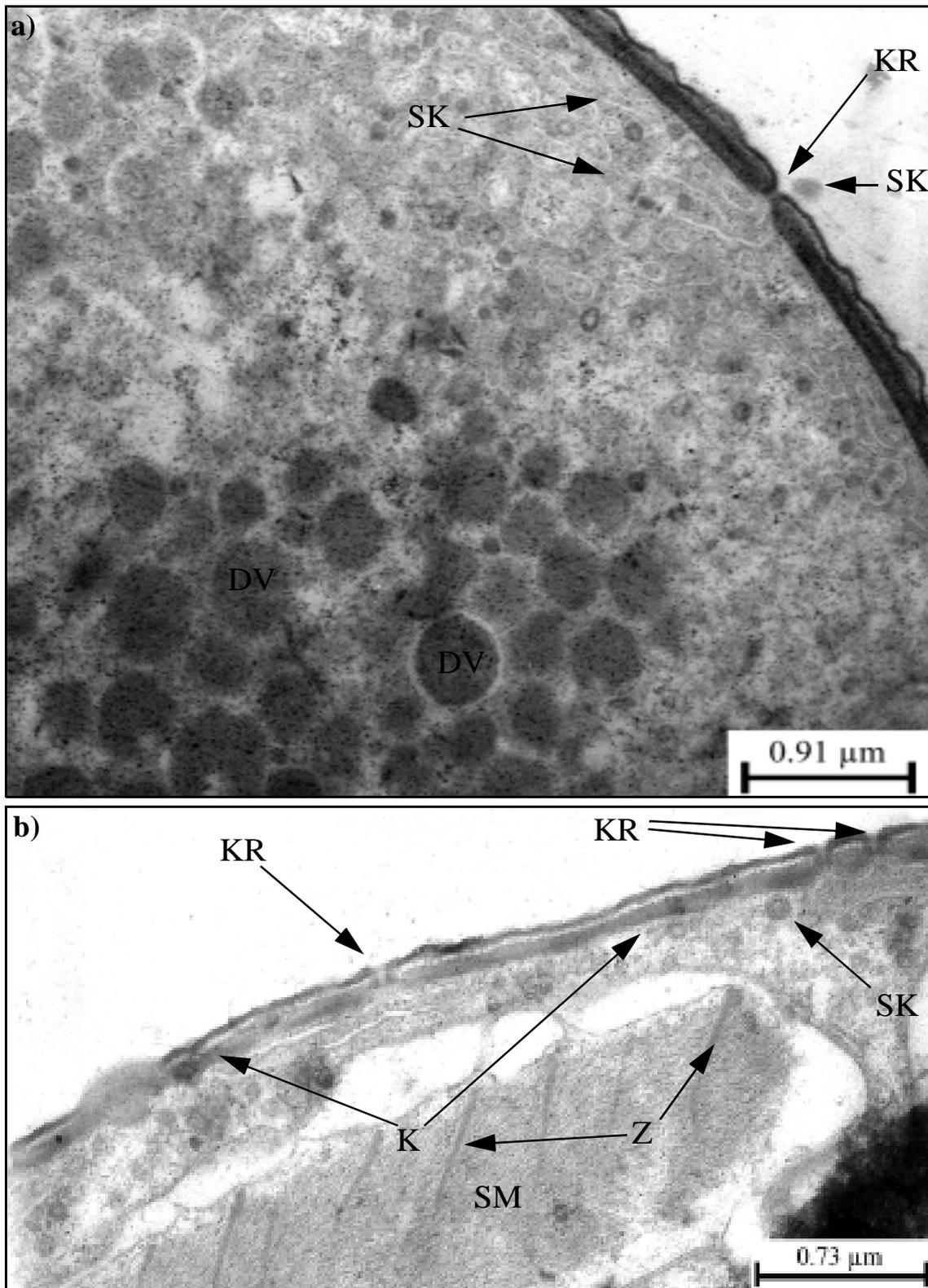
**Abbildung 104** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf die Oberfläche des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Hinterende des Acanthors. **b)** Ausschnittsvergrößerung der Oberflächenbeschaffenheit des Acanthors. A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KR: Krypte des fusionierten Kryptensystems, KS: Körperstachel



**Abbildung 105** TEM-Längsschnitt durch die Körperfalten des Acanthors von *M. moniliformis*. a) Die Körperfalten des Acanthors. b) Detailaufnahme einiger Körperfalten. *KF*: Körperfalte, *SK*: Sekretvesikel, *SM*: subepitheliale Muskulatur

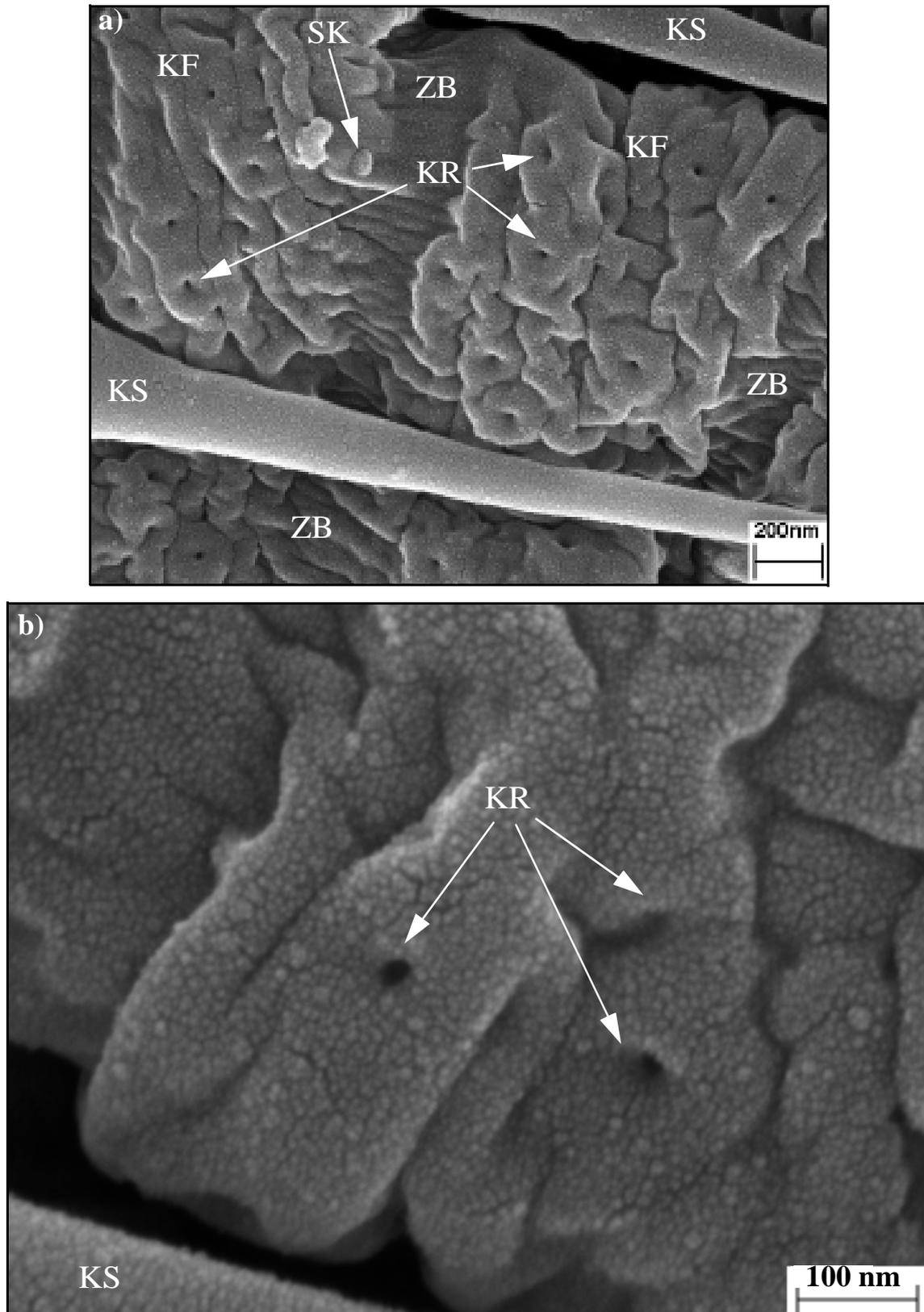


**Abbildung 106** Detailaufnahmen der Körperfalten des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Zwei Körperfalten im Anschnitt. **b)** Detailvergrößerung einer einzelnen Körperfalte. **c)** Detailvergrößerung der anderen Körperfalte. *D*: Desmosom, *DV*: Dottervesikel, *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z*: Z-Scheibe

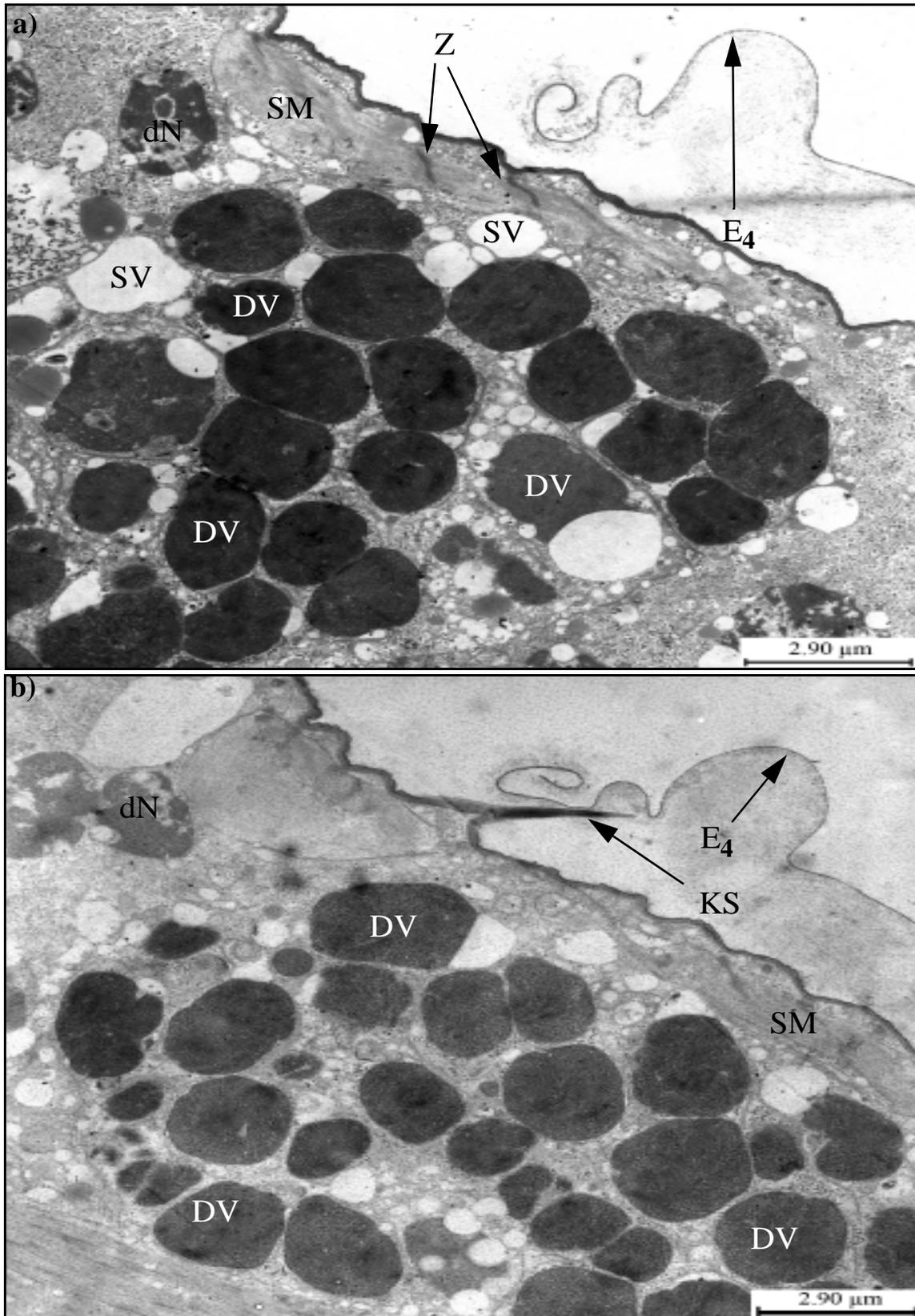


**Abbildung 107** Die Krypten in der Oberfläche des Acanthors von *M. moniliformis*.

**a)** Einzelne Krypte in der Oberfläche des Acanthors. **b)** Mehrere Krypten, die über ein Kanalsystem miteinander verbunden sind. *DV*: Dottervesikel, *K*: Kanal des fusionierten Kryptensystems, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SK*: Sekretvesikel, *Z*: Z-Scheibe



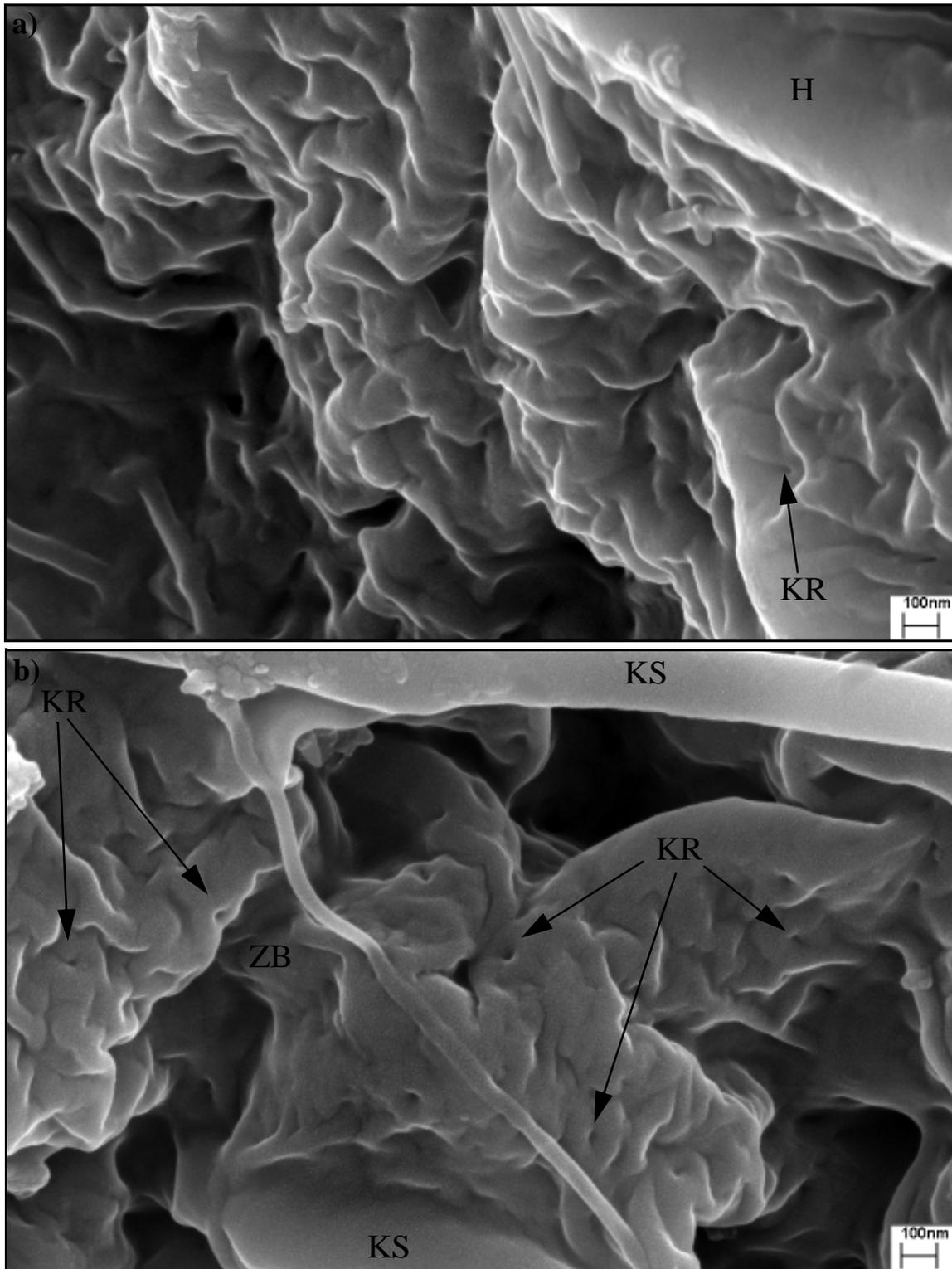
**Abbildung 108** Das fusionierte Kryptensystem des Acanthors von *M. moniliformis*.  
 a) Zahlreiche Krypten im Bereich der Körperfalten. b) Detailaufnahme einzelner Krypten des fusionierten Kryptensystems. *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte, *KS*: Körperstachel, *SK*: Sekretvesikel, *ZB*: Bereich zwischen zwei Körperfalten



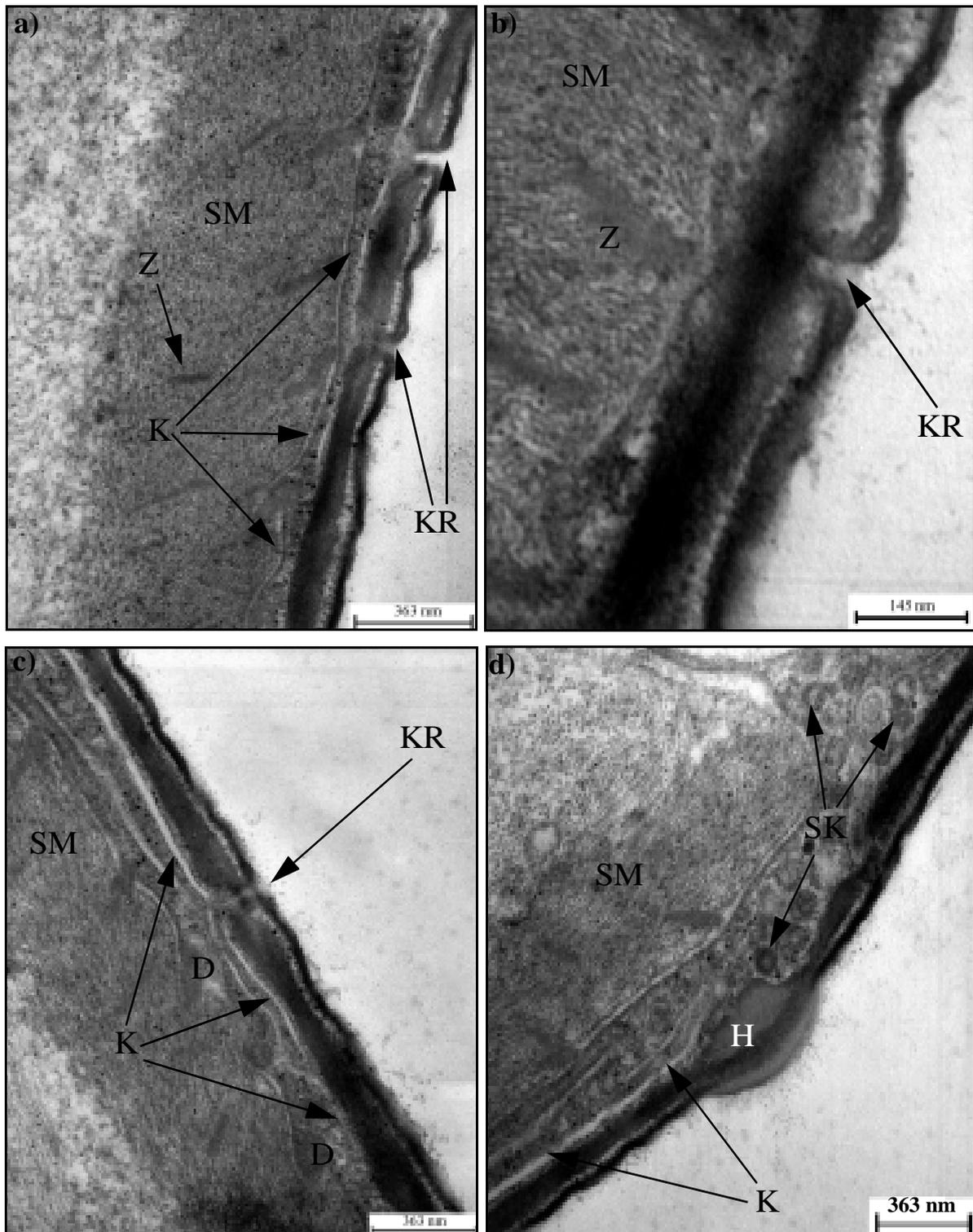
**Abbildung 109** TEM-Detailaufnahmen der Dottervesikel des Acanthors von *M. moniliformis*. **a)** Der Verlauf der Acanthoroberfläche. **b)** Die Eihülle und die Körperstachel des Acanthors. *dN*: dekondensierter Nucleus, *DV*: Dottervesikel, *E<sub>4</sub>*: die innerste Eihülle, *KS*: Körperstachel, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z*: Z-Scheibe



**Abbildung 110** Die Oberfläche des Acanthors des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*.  
A: apikal, C: caudal, KF: Körperfalte, KR: Krypte, KS: Körperstachel

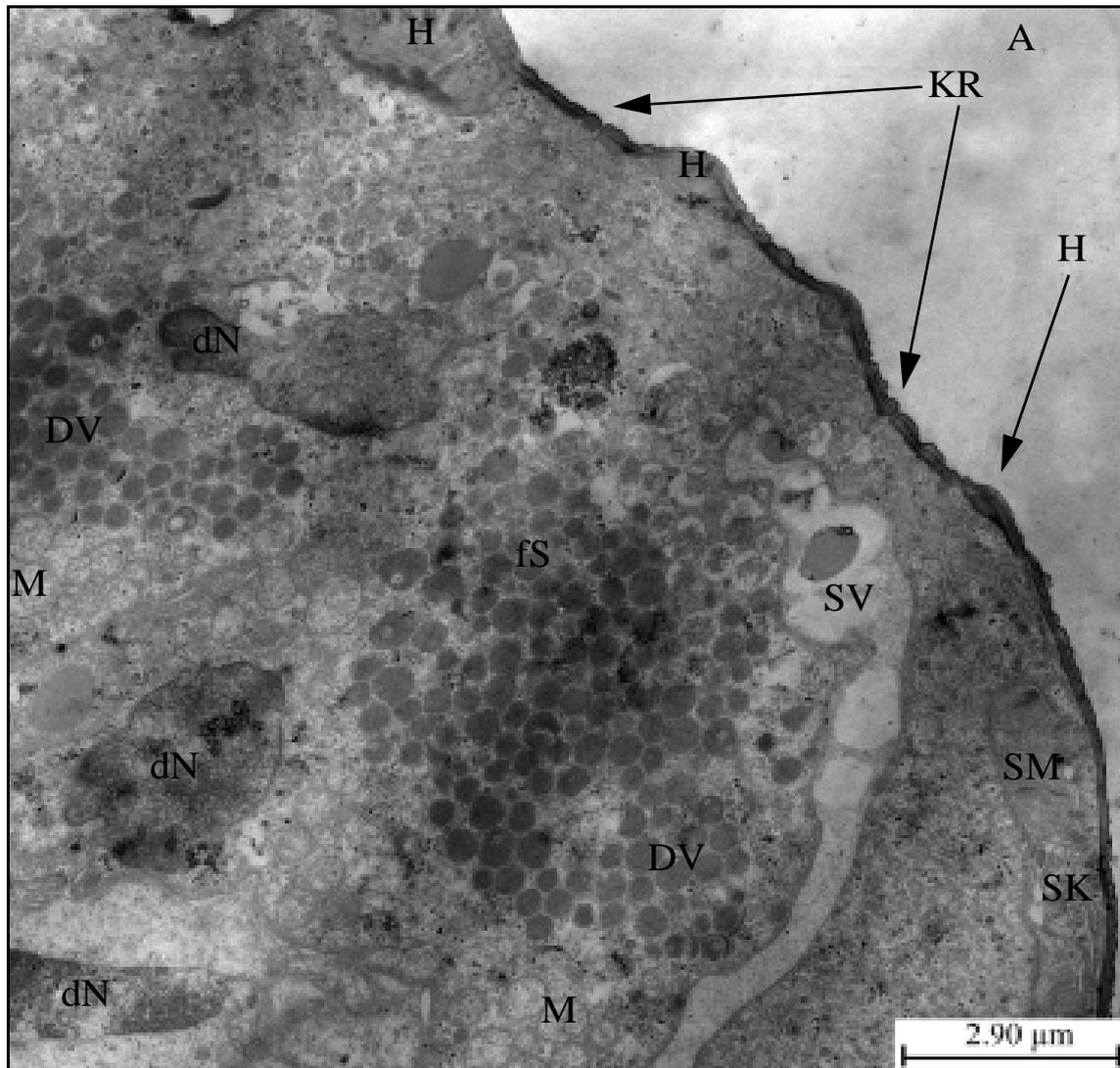


**Abbildung 111** Detaillierter Blick auf die Oberfläche des Acanthors von *M. hirudinaceus*.  
 a) Blick auf die Oberfläche des apikalen Pols. b) Blick auf die Oberfläche im Bereich der Körperfalten.  
 H: Haken, KR: Krypte, KS: Körperstachel, ZB: Bereich zwischen zwei Körperstacheln



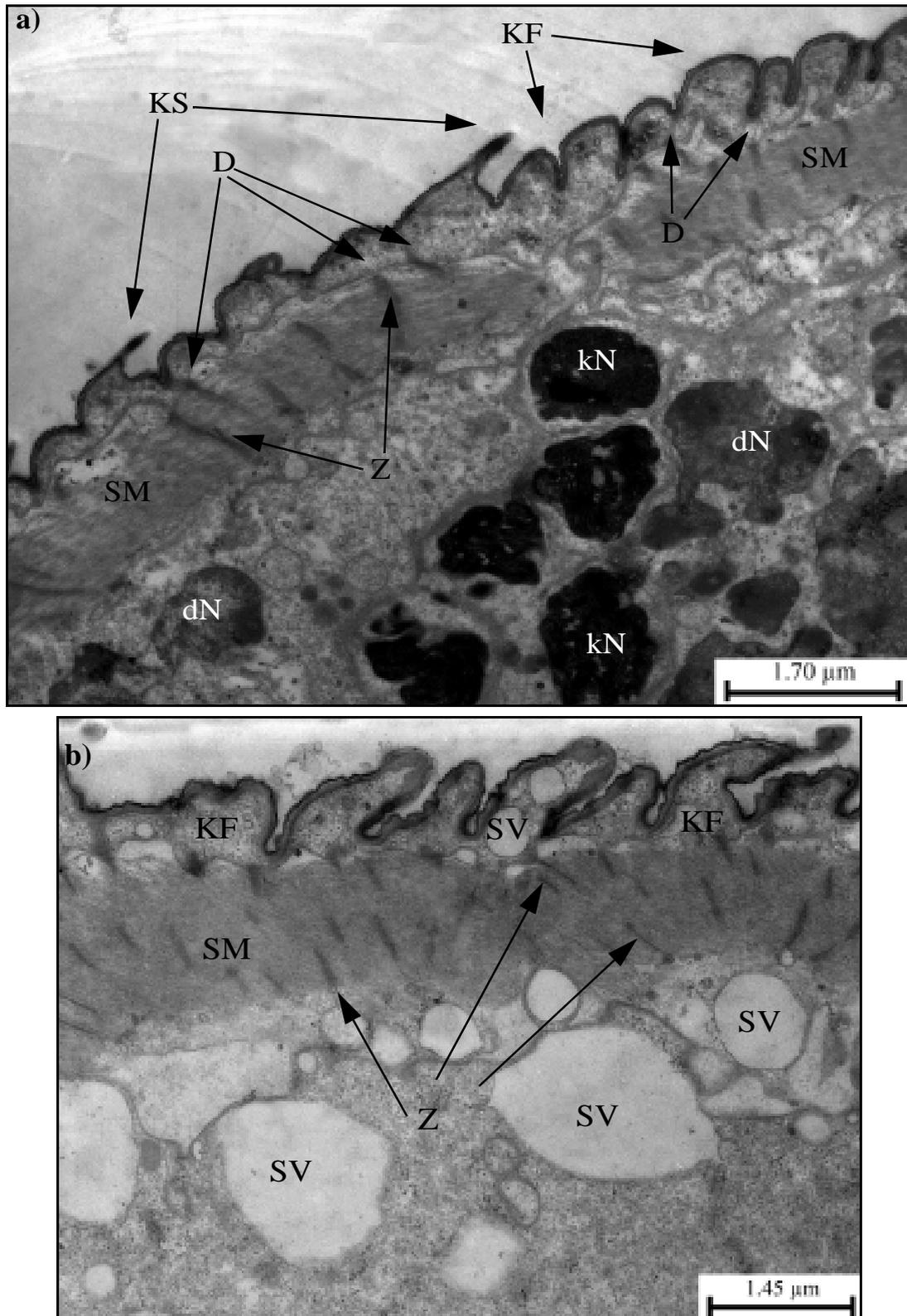
**Abbildung 112** Das fusionierte Kryptensystem des Acanthors von *M. hirudinaceus*.

**a)** TEM-Längsschnitt durch zwei Krypten. **b)** Detailaufnahme einer einzelnen Krypte. **c)** Kanalsystem des fusionierten Kryptensystems. **d)** Sekretvesikel im Kanalsystem des fusionierten Kryptensystems. *D*: Desmosom, *H*: Haken, *K*: Kanal des fusionierten Kryptensystems, *KR*: Krypte, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SK*: Sekretvesikel, *Z*: Z-Scheibe

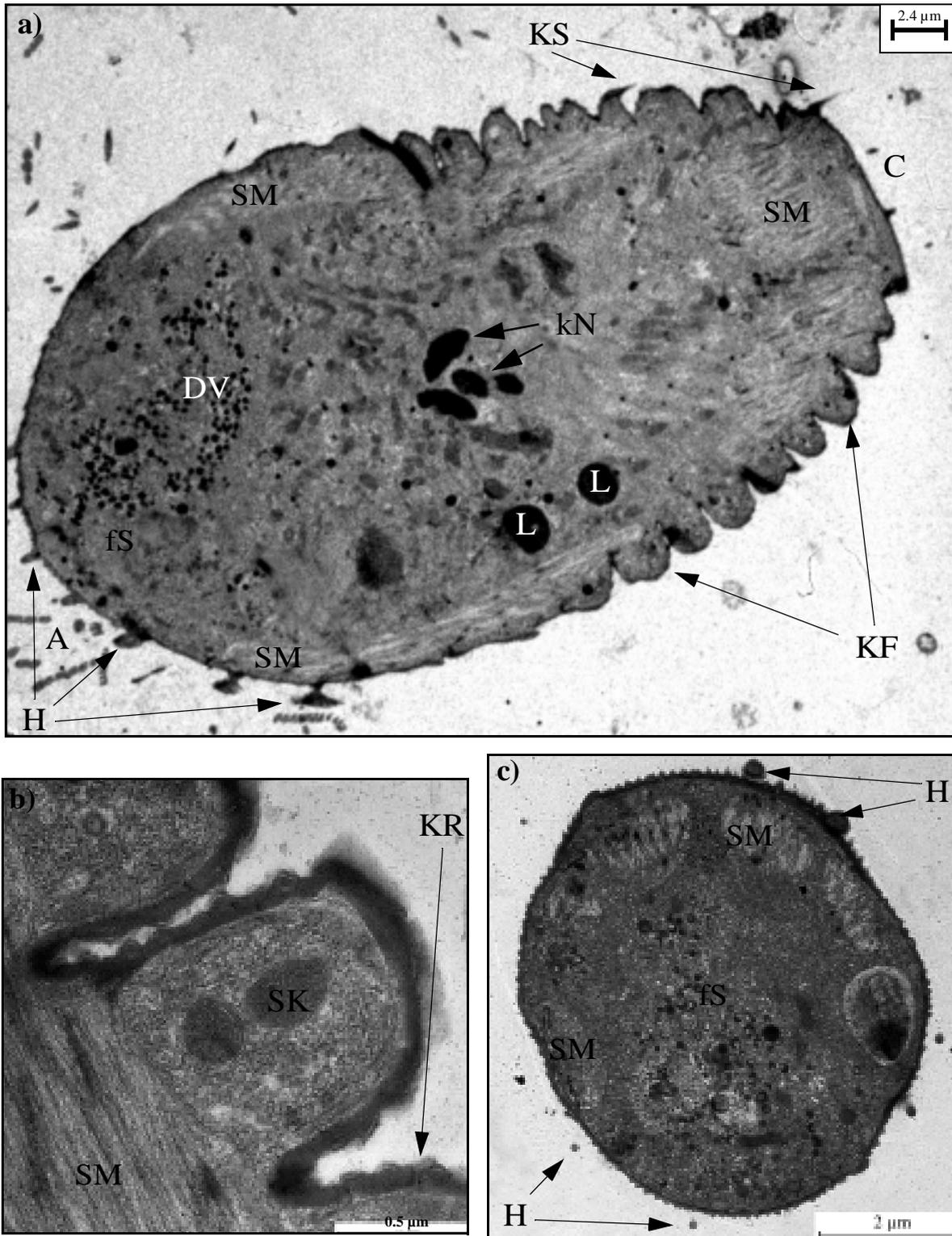


**Abbildung 113** Der apikale Pol des Acanthors von *M. hirudinaceus*.

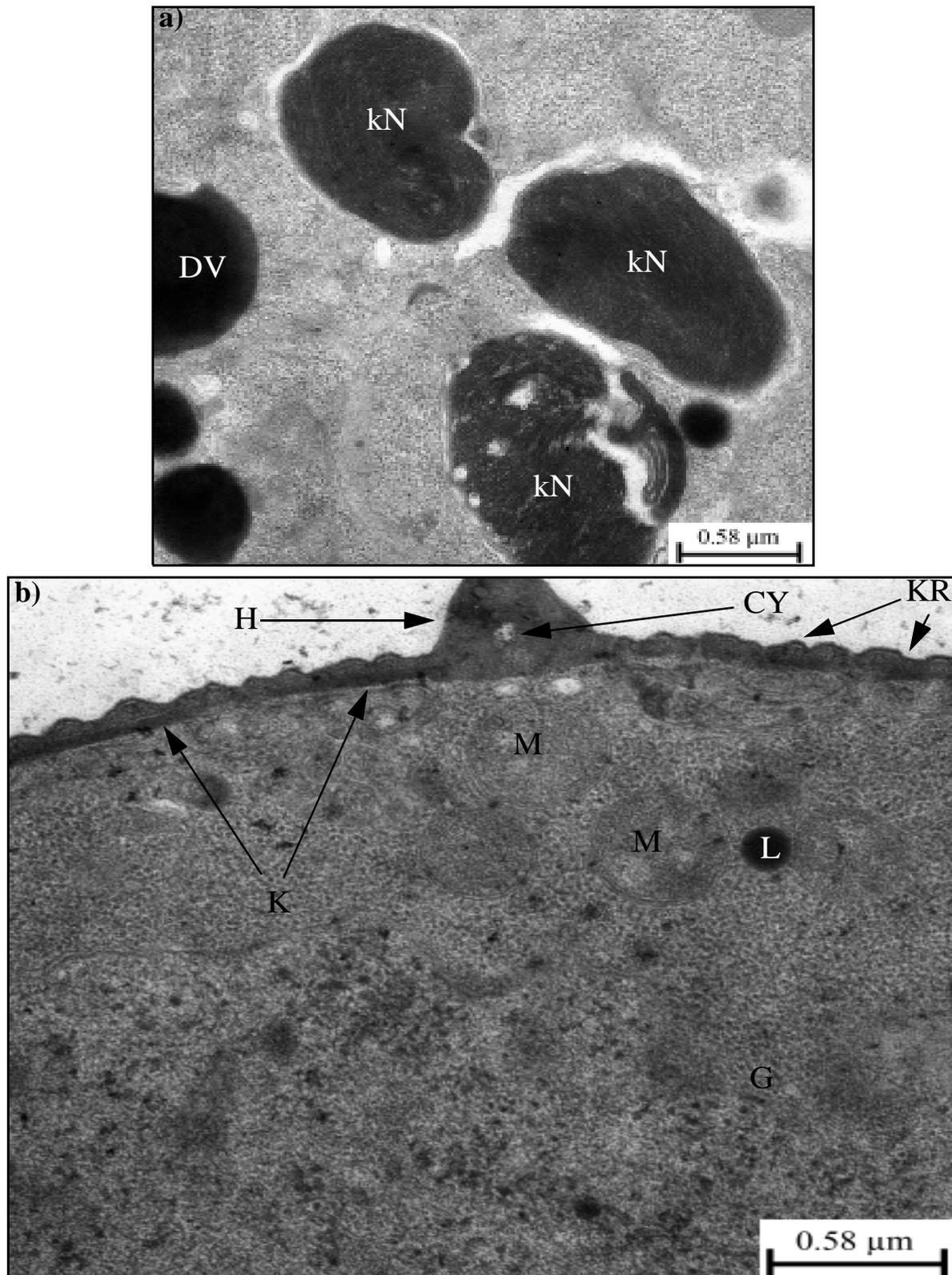
A: apikal, dN: dekondensierter Nucleus, DV: Dottervesikel, fS: frontales Syncytium, H: Haken, KR: Krypte des fusionierten Kryptensystems, M: Mitochondrium, SK: Sekretvesikel, SM: subepitheliale Muskulatur, SV: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide



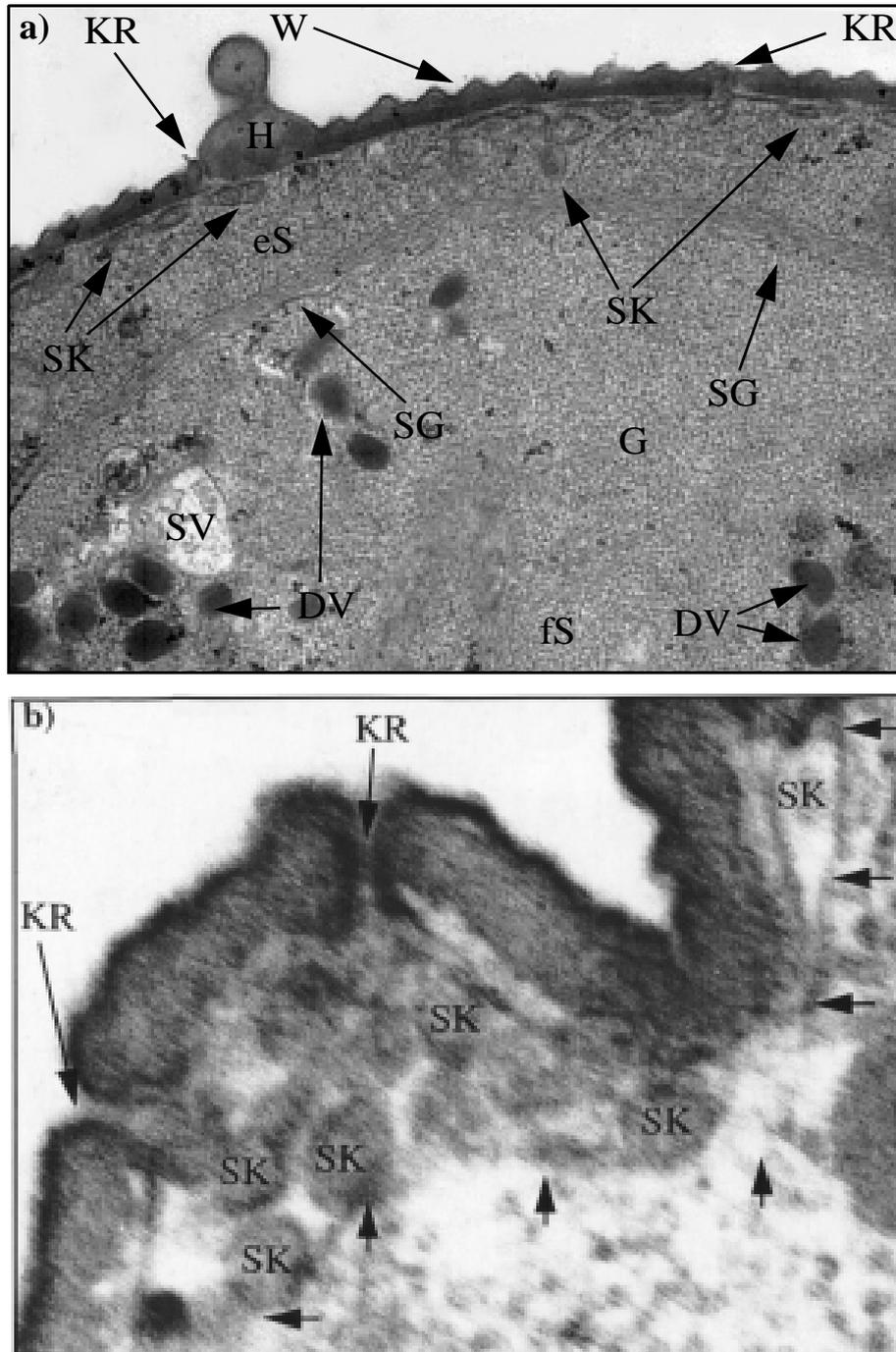
**Abbildung 114** TEM-Längsschnitt im Bereich der Körperfalten des Acanthors von *M. hirudinaceus*. **a)** Die Körperfalten des Acanthors. **b)** Detailaufnahmen einzelner Körperfalten. *D*: Desmosom, *dN*: dekondensierter Nucleus, *kN*: kondensierter Nucleus, *KF*: Körperfalte, *KS*: Körperstachel, *SM*: subepitheliale Muskulatur, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *Z*: Z-Scheibe



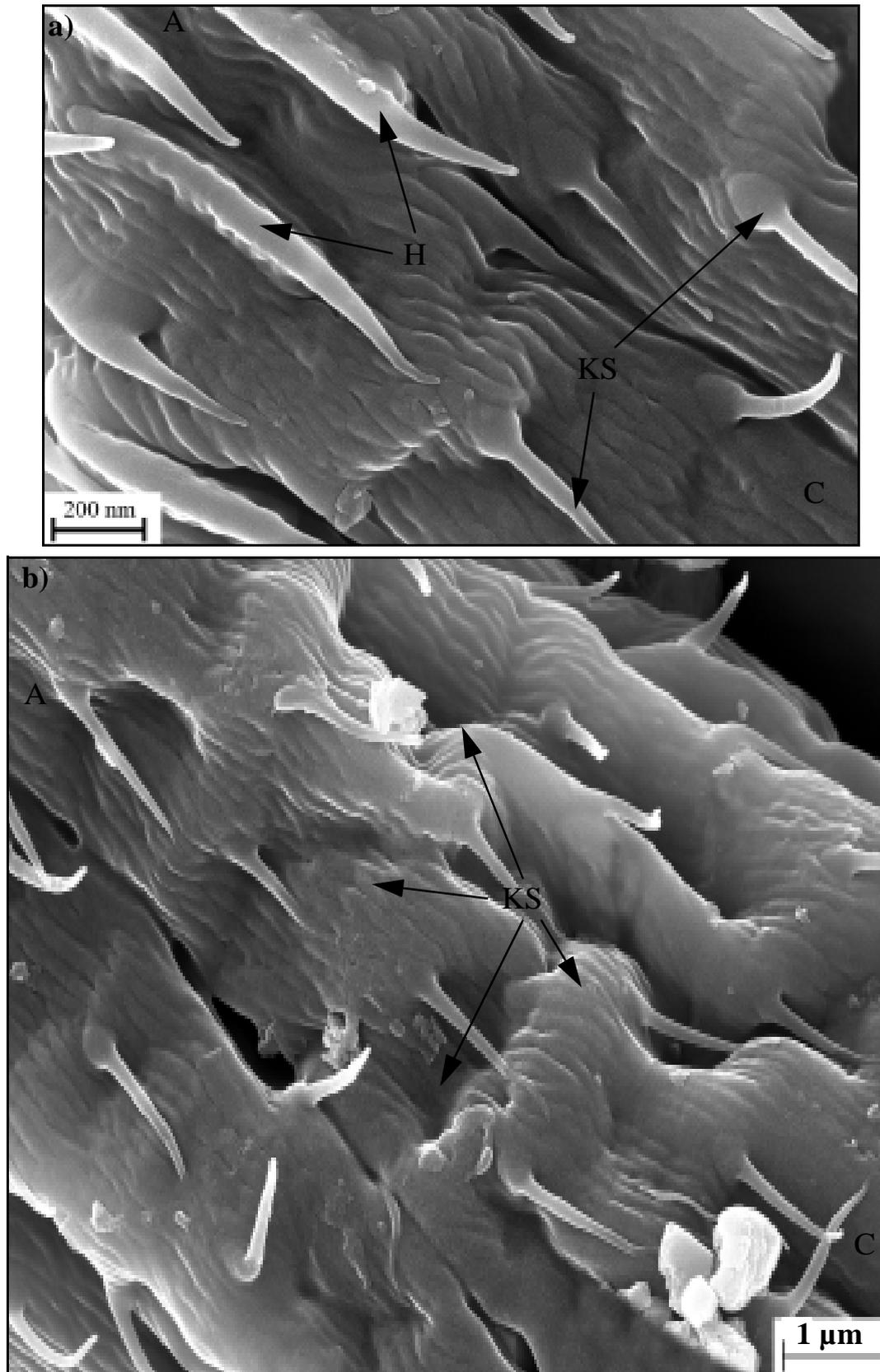
**Abbildung 115** Die Oberfläche des Acanthors von *P. ambiguus*. **a)** Schräger Längsschnitt durch einen Acanthor. **b)** Ausschnittsvergrößerung einer Körperfalte. **c)** Querschnitt durch den apikalen Bereich eines Acanthors. *A*: apikal, *C*: caudal, *DV*: Dottervesikel, *fS*: frontales Syncytium, *H*: Haken, *KF*: Körperfalte, *kN*: kondensierte Kerne, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *KS*: Körperstachel, *L*: Lipidtropfen, *SK*: Sekretvesikel, *SM*: subepitheliale Muskulatur



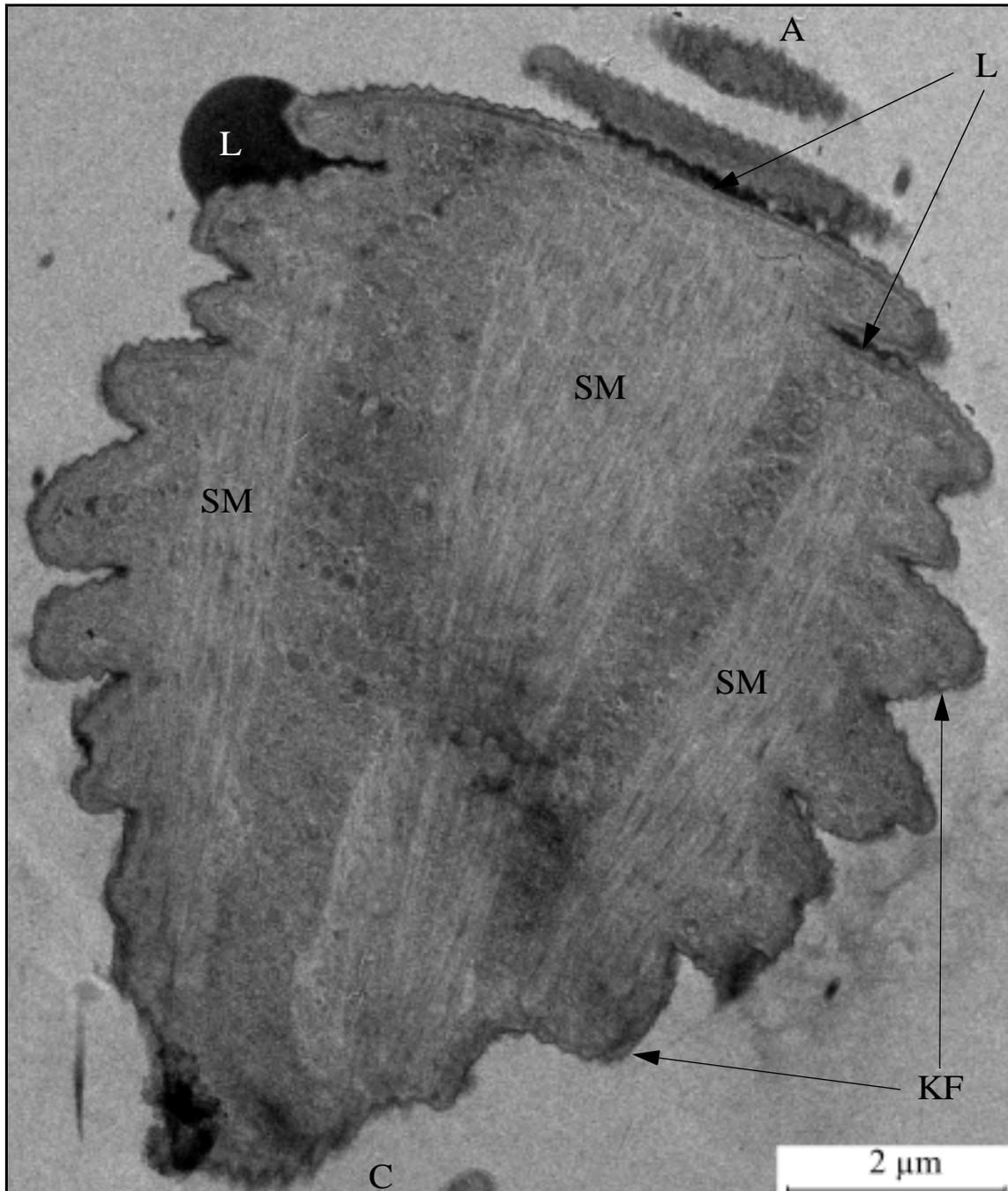
**Abbildung 116** Die apikalen Haken des Acanthors von *P. ambiguus*. **a)** Detailaufnahme der kondensierten Kerne des Acanthors von *P. ambiguus*. **b)** Die Oberfläche des Acanthors. *CY*: cytoplasmatische Zone des basalen Hakenbereichs, *DV*: Dottervesikel, *G*: Glykogen, *H*: Haken, *K*: Kanal des fusionierten Kryptensystems, *kN*: kondensierter Kern, *KR*: Krypte des fusionierten Kryptensystems, *L*: Lipidtropfen, *M*: Mitochondrium



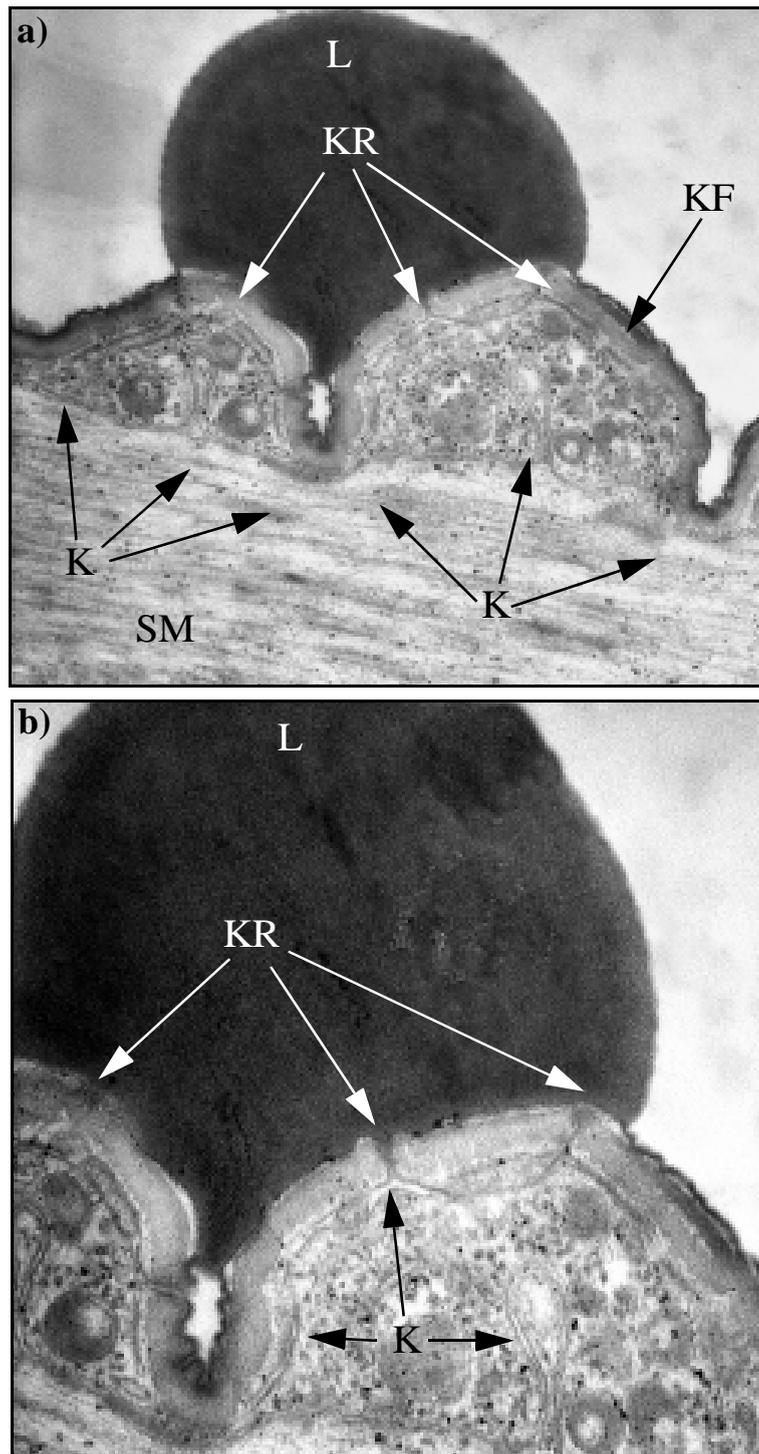
**Abbildung 117** Die Oberfläche des Acanthors von *P. ambiguus* ist von zahlreichen Poren eines fusionierten Kryptensystem durchbrochen. **a)** Ausschnitt aus einem Querschnitt durch den apikalen Körper eines geschlüpften Acanthoren. **b)** Stark vergrößerte Detailaufnahme von zwei Krypten des fusionierten Kryptensystems. *eS*: epidermales Syncytium, *fS*: frontales Syncytium, *G*: Glykogen, *H*: Haken, *KR*: Krypte, *SG*: Syncytiengrenze, *SK*: Sekretvesikel, *SV*: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide, *W*: waschbrettartige Beschaffenheit der Oberfläche



**Abbildung 118** Rasterelektronenmikroskopischer Blick auf die Oberfläche des Acanthors von *P. ambiguus*. **a)** Ausschnittsvergrößerung von Abbildung 77. **b)** Detailaufnahme der Oberfläche im mittleren Körperbereich des Acanthors. *A*: apikal, *C*: caudal, *H*: Haken, *KS*: Körperstachel



**Abbildung 119** Der Acanthor von *P. ambiguus* weist auf seiner Oberfläche eine dicke Lipidschicht auf, die jedoch nur noch stellenweise erhalten geblieben ist. *A*: apikal, *C*: caudal, *KF*: Körperfalte, *L*: Lipidtropfen, *SM*: subepitheliale Muskulatur



**Abbildung 120** Das fusionierte Kryptensystem des Acanthors von *P. ambiguus*.

a) Mehrere Körperfalten, die von vernetzten Kanälen des fusionierten Kryptensystems durchzogen sind. b) Ausschnittsvergrößerung von Abbildung 120a. *K*: Kanal des fusionierten Kryptensystems des Acanthors, *KF*: Körperfalte, *KR*: Krypte, *L*: Lipidtropfen, *SM*: subepitheliale Muskulatur



## 4 DISKUSSION

Bei dem Acanthor handelt es sich um das erste Larvenstadium im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen. Obwohl dieses Parasitenstadium bei keiner einzigen untersuchten Acanthocephalenart von besonderer Größe ist, hat der Acanthor dennoch während der Entwicklung des Parasiten vom infektiösen Ei hin zum adulten Wurm im Darm des Endwirtes eine ganze Reihe von lebenswichtigen Funktionen zu erfüllen. Deshalb handelt es sich bei dem Acanthor um einen Organismus, der einzig darauf spezialisiert ist seine Aufgabe - das Erreichen des Hämocoels des entsprechenden Zwischenwirtes - effektiv zu lösen.

### 4.1 Die Eihülle der Acanthoren

Es handelt sich bei den infektiösen Acanthocephaleneiern um das Verbreitungsstadium dieser Parasitengruppe, das zusammen mit dem Acanthor eine bedeutende Rolle im Entwicklungszyklus aller Acanthocephalenarten spielt. Die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse zeigen eindeutig auf, dass es sich bei reifen Acanthocephaleneiern um äußerst stabile Gebilde handelt, die den Aufbau infektiöser Eier der übrigen Helminthen an Komplexität weit übertreffen (TARASCHEWSKI, 1989).

Der Acanthor im reifen Acanthocephalenei ist, wenn er vom weiblichen adulten Parasiten ausgeschieden wird, stets von 4-5 verschiedenen Eihüllen umgeben (WRIGHT, 1971; STRANACK, 1972; MARCHAND, 1984A, 1984B; SHIN, 1986; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; TARASCHEWSKI et al., 1992; TARASCHEWSKI, 2000). Bei vereinzelt Angaben über insgesamt nur drei Eihüllen dürfte es sich um Fehlinterpretationen handeln (HARMS, 1965; STRANACK, 1972).

Die embryonierten Eier der verschiedenen Acanthocephalenarten stellen vielschalige, multifunktionelle Gebilde dar, die eine sehr unterschiedliche Form aufweisen können (TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; TARASCHEWSKI et al., 1992; WESTHEIDE & RIEGER, 1996; TARASCHEWSKI, 2000). Die infektiösen Acanthocephaleneier werden mit den Fäces der Wirtstiere der adulten Acanthocephalen ausgeschieden und gelangen ins Freie (WHITFIELD, 1970; WILLIAMS & JONES, 1994; WESTHEIDE & RIEGER, 1996; TARASCHEWSKI, 2000). Dort bleiben sie für Monate bis Jahre für den entsprechenden Zwischenwirt infektiösfähig (NICKOL, 1985; SAMUEL & BULLOCK, 1981).

Die Acanthocephaleneier stellen das einzige Entwicklungsstadium der Acanthocephala dar, das in die Umwelt der Acanthocephalen gelangt (NICKOL, 1985). Die Gesamtheit der Eihüllen E<sub>1</sub>-E<sub>4</sub> der reifen Acanthocephaleneier stellt daher ein äußeres "Kontakt-

Organ” der von diesen Eihüllen eingeschlossenen Acanthoren zu ihrer Umwelt dar, das durch seine spezifische Form und seine besondere Beschaffenheit (spezifisches Gewicht, Dicke der verschiedenen Eihüllen, Ausbildung von fibrillären Fortsätzen einzelner Eihüllen, Einlagerung von Polysacchariden, usw.) eine ökologische Beziehung zu seinen Umgebungsbedingungen und den Lebens- bzw. Fressgewohnheiten der Zwischenwirte aufweist (MARCHAND, 1984A; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; TARASCHEWSKI et al., 1992; TARASCHEWSKI, 2000). Entsprechend kommt der Eischale beim Schutz des Acanthors vor Witterung, Trockenheit bzw. Dehydrierung und mechanischen Verletzungen eine essentielle Bedeutung zu, wobei jede einzelne Eihülle ganz unterschiedliche Funktionen erfüllt.

Bereits die äußere Form der reifen Acanthocephaleneier lässt Rückschlüsse bezüglich der Habitate der jeweiligen Acanthocephalenarten bzw. der entsprechenden Zwischenwirte und somit auf einen aquatischen bzw. terrestrischen Entwicklungszyklus zu. Bei Archi- und Eoacanthocephaleneiern handelt es sich um rundliche bis ovoide Gebilde, während Palaeacanthocephaleneier durch Verstärkung einzelner Eihüllen von spindelförmiger Gestalt sind (MARCHAND, 1984A; TARASCHEWSKI, 1988, 1989). MEYER (1933) vermutete, dass die spindelförmige Gestalt der Palaeacanthocephaleneier in gewisser Weise eine Adaptation an den aquatischen Lebensraum darstellt. Auch die Dicke der Eihülle der Acanthocephalenarten steht in Zusammenhang mit dem Lebensraum dieser Acanthocephalenarten. Vertreter der Acanthocephala mit aquatischem Entwicklungszyklus (Eoacanthocephala, sehr viele Palaeacanthocephalen) weisen eine relativ dünne Eihülle  $E_1$ - $E_4$  auf, während die Eihülle von Vertretern mit terrestrischem Entwicklungszyklus (Archiacanthocephala, einige Palaeacanthocephalen) äußerst dick ist (BULLOCK, 1969; AMIN, 1982). Schließlich müssen die Acanthocephalenarten mit terrestrischem Entwicklungszyklus ihre inaktiven Acanthoren stärker vor Austrocknung und mechanischer Verletzung schützen als Acanthocephalen mit aquatischem Entwicklungszyklus.

Dieses “Kontakt-Organ” der untersuchten Acanthocephalenarten umschließt den ungeschlüpften Acanthoren mit vier verschiedenen Eihüllen ( $E_1$ - $E_4$ ), die jeweils durch einen granulären, flüssigkeitsgefüllten Hohlraum ( $G_1$ - $G_4$ ) getrennt und äußerst differenziert ausgebildet sind (WEST, 1964; CROMPTON & WHITFIELD, 1968; WRIGHT, 1971; STRANACK, 1972; MARCHAND, 1984A, 1984B; SHIN, 1986; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI, 1992; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; TARASCHEWSKI et al., 1992; TARASCHEWSKI, 2000). Die innerste Eihülle  $E_4$  der verschiedenen Eihüllen wird zumeist als einfache Befruchtungsmembran angesehen (HARMS, 1965; CHENG, 1986; TARASCHEWSKI, 1989).

Der Eoacanthocephale *Neoechinorhynchus rutili* ist der einzige bis heute bekannte Acanthocephale, dessen Acanthor sogar von fünf verschiedenen Eihüllen eingeschlossen wird (TARASCHEWSKI et al., 1992; TARASCHEWSKI, 2001). Bei dem inaktiven Acanthor im Eiinneren handelt es sich um ein sogenanntes “Ruhestadium”, in welchem keinerlei Weiterentwicklung stattfindet und mit dem viele Acanthocephalenarten sogar den Winter überdauern können (DEGIUSTI, 1949; CROMPTON, 1970).

Während die beiden äußeren Eihüllen ( $E_1$  bzw.  $E_2$ ) aufgrund ihrer Ultrastruktur und ihrer chemischen Zusammensetzung stets eine ökologische Beziehung zu den äußeren Umweltbedingungen aufweisen, zeigen die inneren Eihüllen  $E_3$  bzw.  $E_4$  immer Bezüge zu dem Acanthoren und seinem Schlüpfverhalten auf (MARCHAND, 1984A; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; TARASCHEWSKI et al., 1992).

Die im Inneren der stabilen Eier gelagerten Acanthocephalenlarven warten darauf, dass die freigesetzten Acanthocephaleneier von einem geeigneten Wirt entweder absichtlich oder unabsichtlich, z.B. zusammen mit verrottendem Pflanzenmaterial, oral aufgenommen werden (OETINGER & NICKOL, 1974; UZNANSKI & NICKOL, 1976). Daher lagern einige Eo- und Palaeacanthocephalenarten (z.B. *P. laevis*, *P. minutus*, *N. rutili*) in dem äußersten granulären Zwischenraum zwischen den Eihüllen  $E_1$  und  $E_2$  Polysaccharide bzw. Proteoglucane als Lockstoffe für die Zwischenwirte ein, um die Acanthocephaleneier für die Zwischenwirte als Nahrung attraktiver zu machen (TARASCHEWSKI, 1989; TARASCHEWSKI et al., 1992; WESTHEIDE & RIEGER, 1996).

Im Gegensatz dazu enthält die innerste Eihülle  $E_4$  einiger untersuchter Acanthocephalenarten (*Acanthocephalus anguillae*, *Acanthosentis oligospinus*, *P. laevis*, *Polymorphus minutus*, *M. hirudinaceus*, *M. moniliformis*) als Bezug zu dem Acanthor und seiner enzymatischen Ausstattung Chitin (EDMONDS, 1966; ANANTARAMAN & RAVINDRANATH, 1973B; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; TARASCHEWSKI, 2000). Unterstützt durch die Ausschüttung von Chitinasen ist der Acanthor dieser Acanthocephalenarten in der Lage diese innerste Eihülle aktiv zu penetrieren.

### 4.1.1 Archiacanthocephala

Es konnte kein nennenswerter Unterschied im Aufbau der Eihülle der untersuchten Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* festgestellt werden. Der Aufbau der Archiacanthocephaleneier erfolgt stets nach dem gleichen Prinzip und jede der vier verschiedenen Eihüllen scheint bei allen Archiacanthocephalenarten die gleichen Funktionen auszuüben. Deshalb ist nicht verwunderlich, dass auch bei reifen Eiern von *M. moniliformis*, die aus unterschiedlichen Herkunftsländern stammten, kein Unterschied im Aufbau der Eihülle erkennbar ist.

Die runde bis ovoide Form der Archiacanthocephaleneier (TARASCHEWSKI, 1988, 1989) steht in Zusammenhang mit der Verbreitung dieser Eier auf dem Land, wobei verschiedene Insekten, wie Käfer oder Schaben, die Rolle der Zwischenwirte übernommen haben. Auf dem Land sind die reifen Acanthocephaleneier bis sie von einem geeigneten Zwischenwirt gefressen werden deutlich größeren und häufigeren mechanischen Beanspruchungen durch ihre Umwelt ausgesetzt als Acanthocephalenarten mit aquatischem Entwicklungszyklus. Aufgrund der physikalischen Gesetze und ihrer charakteristischen ovalen Gestalt überstehen Archiacanthocephaleneier selbst große,

häufig wiederkehrende mechanische Belastungen völlig unbeschadet. Zumal die zweit-äußerste Eihülle  $E_2$  äußerst massiv gebaut ist, damit sie diese einwirkenden mechanischen Belastungen abfangen kann.

#### 4.1.1.1 Morphologie der Archiacanthocephaleneihüllen

##### DIE ÄUßERE EIHÜLLE $E_1$

Die äußerste Eihülle  $E_1$  der beiden untersuchten Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* stellt eine sehr dünne Membran dar, die sowohl auf ihrer Außen- als auch auf ihrer Innenseite glatt und strukturlos ist (siehe 3.1 bzw. 3.2).

PETERS et al. (1991) vermutete, dass diese Eihülle dazu dient, den ungeschlüpften Acanthor vor Verdauungsenzymen im Darm des entsprechenden Endwirtes zu schützen. Diese Vermutung wird durch eigene rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen gestärkt, da unter dem REM die dünne äußerste Eihülle  $E_1$  nur vereinzelt und meist in spärlichen Teilstücken an den präparierten Acanthocephaleneiern von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* detektiert werden konnte. Trotz unterschiedlichster Versuchsbedingungen war bei den untersuchten Acanthocephaleneiern keinerlei signifikanter Unterschied bezüglich dem Vorhandensein der äußeren Eihülle  $E_1$  feststellbar. Selbst Archiacanthocephaleneier, die direkt aus der Leibeshöhle adulter weiblicher Acanthocephalen entnommen und sofort in 5%-Glutaraldehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer überführt wurden, wiesen die Eihülle  $E_1$  in den meisten Fällen nicht mehr auf. Denkbar ist auch, dass die äußerste Eihülle  $E_1$  durch die elektronenmikroskopische Probenpräparation und die dabei eingesetzten Chemikalien abgelöst wird. So sind bisher noch keine Informationen bezüglich der wesentlichen chemischen Bestandteile der Eihülle  $E_1$  bekannt (PETERS et al., 1991).

Naheliegender ist jedoch die Vermutung von OETINGER & NICKOL (1974) sowie UZNANSKI & NICKOL (1976), dass sich die Eihülle  $E_1$  bei Acanthocephaleneiern rasch von der übrigen Eihülle ablöst, sobald die reifen Parasiteneier in die freie Natur gelangt sind. Die dünne Eihülle  $E_1$  dient in diesem Fall den in den Acanthocephaleneiern enthaltenen Acanthoren einerseits als Schutzmantel vor den Verdauungsenzymen des Endwirtes der jeweiligen Acanthocephaleneierart, andererseits verhindert sie ein vorzeitiges Aufquellen der Archiacanthocephaleneier im Darm des entsprechenden Endwirtes. Käme es zu einem vorzeitigen Aufquellen der Archiacanthocephaleneihülle  $E_2$ , würde bereits im Darm des jeweiligen Endwirtes die Eihülle  $E_2$  an der Sollbruchstelle auseinanderweichen und den Schlüpfpunkt freigeben. Selbst wenn der noch von den beiden restlichen Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  umschlossene Acanthor weder im Darm seines Endwirtes noch in der freien Natur durch den Schlüpfpunkt aus der geöffneten Eihülle  $E_2$  hinausrutschen würde, hätte der Acanthor auf einen Schlag durch das Auseinanderweichen der Eihülle  $E_2$  fast seinen kompletten Schutz vor mechanischen Beanspruchungen verloren. Selbst die kleinste mechanische Verletzung der empfindlichen Eihüllen  $E_3$  bzw.  $E_4$  würde genügen, um zu einem vollständigen Zusammenbruch der Schutzfunktion dieser Eihüllen vor chemischen oder bakteriellen Einflüssen zu sorgen. Unter diesen

Bedingungen würde der schutzlose Acanthor die lange Zeit bis das Acanthocephalenei von einem geeigneten Zwischenwirt gefunden und gefressen wird, mit Sicherheit nicht unbeschadet überstehen.

In der freien Natur drohen dem inaktiven Acanthoren keine Gefahren mehr durch die Verdauungsenzyme seines Endwirtes und es liegen in dem terrestrischen Habitat der Parasiten auch keine Milieubedingungen vor, die ein Aufquellen der Eihülle  $E_2$  bewirken könnten. Sobald die Acanthocephaleneier in die freie Natur gelangt sind, hat die Eihülle  $E_1$  bereits ihre ganzen Schutzfunktionen erfolgreich erfüllt und wird ab diesem Zeitpunkt nicht mehr benötigt. Jetzt kann ohne Gefahr für die noch inaktiven Acanthoren auf diese äußerste Schutzhülle  $E_1$  verzichtet werden.

### DIE EIHÜLLE $E_2$

Im Gegensatz zur Eihülle  $E_1$  macht die zweitäußerste Eihülle  $E_2$  einen Hauptbestandteil der Gesamtheit der Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* aus und springt sofort durch ihr charakteristisches Erscheinungsbild ins Auge des Betrachters. Da die Eihülle  $E_2$  mehrschichtig aufgebaut und sehr dick ist, kann davon ausgegangen werden, dass diese Eihülle für den alleinigen Schutz des ungeschlüpften Acanthoren vor mechanischen Beanspruchungen verantwortlich ist. Aufgrund des nun detaillierten Wissens über den genauen Aufbau der Eihülle  $E_2$  der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* kann nahezu ausgeschlossen werden, dass die Eihülle  $E_2$  als Dehydrierungsschutz für den ungeschlüpften Acanthoren dient, wie dies noch von HERLYN (2000) vermutet wird. Solch ein Dehydratationsschutz kann durch eine chemisch entsprechend ausgestattete aber dünne Eihülle  $E_4$ , die sowohl vor mechanischen Beschädigungen durch die Eihülle  $E_2$  als auch vor bakteriellen Beschädigungen durch die Eihülle  $E_3$  geschützt ist, effektiver ausgeübt werden.

Im Inneren besteht die Eihülle  $E_2$  aus einer kompakten, vollständig geschlossenen Schicht, die sich in Richtung  $G_1$  in ein verästeltes Geflecht aus feinen Filamenten aufspaltet. Diese Schicht des fein verästelten Netzwerkes aus Filamenten funktioniert vermutlich aufgrund ihrer Dicke als "Dämmschicht" und nimmt alle einwirkenden mechanischen Belastungen auf, federt sie ab und verteilt sie gleichmäßig über eine große Fläche, so dass kein ernsthafter Schaden an dem Acanthoren entstehen kann. Ebenso wird die Gefahr, dass einzelne spitze Objekte die Eihülle  $E_2$  komplett durchdringen, durch den massiven dämmplattenartigen Aufbau der Eihülle  $E_2$  vollkommen unmöglich gemacht. Zudem halten massive, dickere Grate, die die Eihülle  $E_2$  außen netzartig überziehen, das ganze Archiacanthocephalenei zusammen und verhindern ein allzu leichtes Aufreißen bzw. ein Eindringen größerer Strukturen in bzw. durch die komplette Eihülle  $E_2$  hindurch.

Diese Funktionsthese für die Eihülle  $E_2$  wird dadurch untermauert, dass die Eihülle  $E_2$  auf der Seite des Acanthocephaleneis von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus*, auf der der apikale Pol des Acanthoren liegt, eine Sollbruchstelle, den sogenannten "Schlüpfpunkt" oder "hatching point", aufweist. Dieser "hatching point" wird dadurch

gebildet, dass die Eihülle  $E_2$  an dieser Stelle nicht komplett geschlossen ist, sondern sich deutlich überlappt und aneinander schmiegt. Dadurch bildet  $E_2$  an dieser Stelle eine großflächige Falte.

Im Gegensatz zu den Eiern der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* besitzt die Eihülle  $E_2$  des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*, keinen "hatching point". Außerdem ist die Eihülle  $E_2$  von *P. ambiguus* zweigeteilt. Die unterteilte Eihülle  $E_2$  von *P. ambiguus* dient nicht nur dem mechanischen Schutz der inaktiven Acanthoren, sondern auch der Verankerung der infektiösen Eier an verrottendem Pflanzenmaterial. Die Eihülle  $E_2$  vergrößert durch diese Verankerung die Wahrscheinlichkeit, dass die Acanthocephaleneier der Eoacanthocephalen in einem gewissen Zeitraum von einem geeigneten Zwischenwirt gefressen werden, enorm. Die Eihülle  $E_2$  der Archiacanthocephalen dient im Gegensatz dazu nicht der Verankerung der reifen Eier an Futtersubstrat.

Von früheren Untersuchungen und eigenen Beobachtungen ist bekannt, dass die beiden äußersten Eihüllen  $E_1$  und  $E_2$  der Archiacanthocephalen aufgrund des osmotischen Druckes anschwellen und aufreißen (PETERS et al., 1991). Schwillt im Rahmen des Schlüpfvorganges der Acanthoren die Eihülle  $E_2$  an, dehnt sie sich aus und die beiden sich überlappenden Bereiche der zweitäußersten Eihülle  $E_2$  weichen auseinander. Am Ende des Quellvorganges klaffen die Archiacanthocephaleneier an dem "hatching point" weit auseinander. Erst durch diese automatische Öffnung der Eihülle  $E_2$  am "hatching point" kann der Acanthor der Eihülle  $E_2$  entweichen. Dies geschieht entweder indem der Acanthor, der noch immer von den keratin- und chitinhaltigen Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  umgeben ist, zusammen mit diesen beiden inneren Eihüllen aus der Eihülle  $E_2$  rutscht bzw. schießt (TARASCHEWSKI, 2000) oder indem der Acanthor noch im Inneren des Eis durch aktive Kontraktions- und Schneidebewegungen mit seinen vorderen Haken die beiden inneren Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  zerreißt und anschließend durch den offenstehenden "hatching point" aus der Eihülle  $E_2$  hinauskrleicht. Der aktivierte Acanthor wäre bei den Archiacanthocephaleneiern gar nicht in der Lage die derart solide und dicke Eihülle  $E_2$  aus eigener Kraft aufzubrechen, bevor die von einem Zwischenwirt gefressenen Eier von diesem wieder zusammen mit seinen Fäces ausgeschieden werden.

Sowohl bei *M. moniliformis* als auch bei *M. hirudinaceus* zeigte sich, dass die Acanthoren, die noch von den Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  umschlossen sind, innerhalb der äußeren Eihülle  $E_2$  etwas Spiel haben, so dass die Acanthoren zusätzlich durch ein kleines Luftpolster vor Erschütterungen innerhalb der Acanthocephaleneier geschützt sind.

#### **DIE BEIDEN INNEREN EIHÜLLEN $E_3$ UND $E_4$**

Bei den beiden inneren Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  handelt es sich um dünne Gebilde, die aber nicht minder wichtige Funktionen erfüllen. Im Gegensatz zu der innersten Eihülle  $E_4$  stellt die Hüllschicht  $E_3$  ein solides und festes Gebilde dar, das mit seiner leicht gewellten Oberflächenbeschaffenheit an die Oberfläche von Vogeleiern erinnert. Während die

Eihülle E<sub>3</sub> keratinhaltig ist, enthält die innerste Eihülle E<sub>4</sub> bei den Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* Chitin (BRAND, 1940; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI, 2000).

Die Einlagerung von Keratin in bestimmte Eihüllen (z.B. E<sub>3</sub>) erfolgt, damit die infektiösen Acanthocephaleneier auch längere Ruheperioden vor Bakterienangriffen geschützt überstehen können (MARCHAND, 1984A; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI et al., 1992; TARASCHEWSKI, 2000). Es ist bekannt, dass bei Eiern des Acanthocephalen *Acanthocephalus dirus* die keratinhaltige Eihülle E<sub>2</sub> bei einer Wassertemperatur von 4 °C sechs Monate lang vollkommen erhalten bleibt, während die äußerste Eihülle E<sub>1</sub> rasch von Bakterien vollständig abgebaut wird (OETINGER & NICKOL, 1974).

Die beiden inneren Eihüllen stellen aufgrund ihrer chemischen Zusammensetzung eindeutig einen essentiellen Schutz des ungeschlüpften Acanthoren vor schädlichen bakteriellen, chemischen und physiologischen Umwelteinflüssen dar.

Daher wird vermutet, dass der zum Schlüpfen stimulierte Acanthor dieser beiden Archiacanthocephalenarten die Penetration der innersten Eihülle E<sub>4</sub> durch Ausscheidung von Chitinase unterstützt (PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992). Da die Aktivierung der inaktiven Acanthoren bereits im Eiinneren geschieht, ist davon auszugehen, dass die beiden inneren Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> der Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* zum größten Teil mechanisch zerstört werden. Ansonsten könnten sich die Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* ihre Energiereserven aufsparen und erst mit ihren stereotypen Bewegungszyklen beginnen nachdem die innerste Eihülle E<sub>4</sub> durch die ausgeschiedene Chitinase vollständig aufgelöst ist. Der Acanthor müsste jedoch auch in diesem Fall, falls er nicht noch zusätzlich ein keratinabbauendes Enzym sezerniert, die zweitinnerste Eihülle E<sub>3</sub> mechanisch zerstören. Da es äußerst unwahrscheinlich ist, dass der Acanthor von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* zur Destruktion der Eihüllen E<sub>3</sub> und E<sub>4</sub> zwei verschiedene Enzyme sezerniert, muss aufgrund der eigenen Beobachtungen davon ausgegangen werden, dass die Acanthoren dieser Acanthocephalenarten die beiden inneren Eihüllen E<sub>3</sub> und E<sub>4</sub> rein mechanisch zerstören. Es sollte für die Acanthoren im Übrigen kein Problem darstellen die innerste Eihülle E<sub>4</sub> durch geringste Haken- bzw. Körperbewegungen zu zerstören, da diese Eihülle den Acanthoren im Acanthocephalenei äußerst eng anliegt. Es ist daher zu vermuten, dass die Chitinase, die EDMONDS (1966) detektierte, nicht der Zerstörung der Eihülle E<sub>4</sub> dient, sondern der Perforation der peritrophischen Membran von *P. americana*.

Die Aufgabenverteilung für die vier verschiedenen Eihüllen ist logisch und effektiv. Durch die massive Eihülle E<sub>2</sub> wird nicht nur der Acanthor selbst vor mechanischen Beschädigungen geschützt, sondern gleichzeitig auch der chemische und bakterielle Schutzpanzer des Acanthocephaleneis, die Eihüllen E<sub>3</sub> und E<sub>4</sub>. Würden diese beiden Eihüllen außerhalb der Eihülle E<sub>2</sub> liegen, könnten sie leicht mechanisch beschädigt werden und der chemische bzw. bakterielle Schutzmantel des Acanthors wäre hinfällig. Auch die Ausstattung der Eihülle E<sub>2</sub> mit Keratin (MARCHAND, 1984A; PETERS et al.,

1991; TARASCHEWSKI, 2000) ist sinnvoll, da dadurch der mechanische Schutzmantel auf Dauer gegen Bakterienangriffe geschützt ist und kein Abbau stattfinden kann. Die Eier bleiben mehrere Jahre lang infektiös.

#### 4.1.2 Eoacanthocephala

Auch die Eier des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* sind nach dem von MARCHAND (1984A) postulierten Schema aus vier verschiedenen Eihüllen aufgebaut. Sie sind kompakt gebaut und weisen eine ovale Form auf (siehe 3.3).

Der Acanthocephale *P. ambiguus* besitzt eine dünne und empfindliche Eihülle  $E_1$ . Wie bei den beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* kann bei dem untersuchten Eoacanthocephalen *P. ambiguus* die äußerste Eihülle  $E_1$  nur in den seltensten Fällen unter dem REM detektiert werden. Zu vermuten ist, dass auch bei den reifen Eiern von *P. ambiguus* die äußerste Eihülle  $E_1$  nur von kurzer Lebensdauer ist und eine zeitlich sehr begrenzte Schutzfunktion für den ungeschlüpften Acanthoren übernimmt. Naheliegender scheint eine ähnliche chemische Zusammensetzung der Eihülle  $E_1$  des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* wie bei den untersuchten Archiacanthocephalen, da die Eihülle  $E_1$  auch bei *P. ambiguus* in den meisten Fällen durch die rasterelektronenmikroskopische Probenaufarbeitung verloren geht.

Die Eihülle  $E_1$  von *P. ambiguus* liegt in ihrer Gesamtheit direkt auf der äußeren Teilschicht von  $E_2$  auf. Im Gegensatz dazu wurde bisher davon ausgegangen, dass die äußerste Eihülle  $E_1$  bei den Eoacanthocephalen *Neoechinorhynchus rutili* und *P. ambiguus* nur teilweise durch Auswüchse der Eihülle  $E_2$  unterstützt wird (TARASCHEWSKI et al., 1992; TARASCHEWSKI, 2000). Dies konnte jedoch zumindest für *P. ambiguus* eindeutig widerlegt werden. Gelangen die infektiösen Eier von *P. ambiguus* mit den Fäces des Aals in das Außenmilieu ihres Wirtes, löst sich spätestens hier rasch die äußerste Eihülle  $E_1$  ab und legt den äußeren Teil der Eihülle  $E_2$  frei.

Die zweitäußerste Eihülle  $E_2$  hat auch bei dem Acanthocephalen *P. ambiguus* eine Bedeutung für den Schutz des ungeschlüpften Acanthors vor mechanischen Beschädigungen. Darauf deutet hin, dass diese Eihülle  $E_2$ , wie bei allen anderen untersuchten Eoacanthocephalarten, zum Schutz vor Bakterienangriffen keratinhaltig ist (TARASCHEWSKI et al., 1992). Im Gegensatz zu den Erkenntnissen von MARCHAND (1984A) weist die relativ dicke Eihülle  $E_2$  einen zweiteiligen Aufbau auf und ist von solider Beschaffenheit (REITZE, 1998). Wird der Aufbau und die Beschaffenheit der Eihülle  $E_2$  des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* mit der Eihülle der beiden untersuchten Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* verglichen, entsteht der Eindruck, dass die Eoacanthocephaleneier im freien Gewässer wesentlich schwächeren mechanischen Belastungen ausgesetzt sind als die Archiacanthocephaleneier und daher eine deutlich dünnere bzw. schwächer ausgebildete Eihülle  $E_2$  besitzen.

Der äußere Teil der Eihülle  $E_2$  besteht aus einem einem Faden ähnelnden dünnen "Band", das nahtlos um den inneren Teil der Eihülle  $E_2$  gewickelt ist und am inneren Teil der Eihülle  $E_2$  mehr oder weniger kompakt anliegt. Die Außenenseite dieser Eihül-

lenschicht weist eine strukturlose und glatte Oberfläche auf. Die bänderartige Wickelstruktur der äußeren Eihüllenschicht von  $E_2$  verleiht dem reifen Acanthocephalenei von *P. ambiguus* ein charakteristisches Erscheinungsbild, das durch die Eihülle  $E_1$  hindurch sichtbar ist und sogar unter dem Lichtmikroskop eindeutig erkannt werden kann.

Durch ein Aufquellen dieser äußeren Eihüllenschicht reißen die Nähte, die das Band der aufgewickelten Eihülle  $E_2$  zusammenhalten, an den beiden Enden der Eier auf und die bänderartige Struktur der äußeren Teilschicht von  $E_2$  löst sich nahezu vollkommen von der inneren Teilschicht von  $E_2$  ab. In einem schmalen mittleren Bereich des Acanthocephaleneis von *P. ambiguus* findet dieser Ablöseprozess jedoch nicht statt, sondern die beiden Teilschichten der Eihülle  $E_2$  bleiben fest miteinander verbunden. Aufgrund von transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen ist jedoch eher davon auszugehen, dass sich der äußere Teil der Eihülle  $E_2$  bereits während des Reifeprozesses an den beiden Eioden von dem inneren Teil der Eihülle  $E_2$  ablöst. Ist die Eihülle  $E_1$  entfernt und findet der Quellprozess der Eihülle  $E_2$  statt, platzen die Nähte der Wickelstruktur auf und die geschlossene Umwicklung der inneren Teilschicht von  $E_2$  beginnt sich aufzulösen. Die an einem Ende abgelösten "Eihüllenbänder" bzw. "Eihüllenfäden" der Eihülle  $E_2$  treiben frei im Wasser umher. Sobald diese "Eihüllenfäden" auf einen festen Gegenstand stoßen, wickeln sie sich um das entsprechende Objekt herum und verankern dadurch das Acanthocephalenei daran.

Erstmals konnte nachgewiesen werden, dass die Funktion der äußeren Eihüllenteilschicht von  $E_2$  von *P. ambiguus* eindeutig in der Verankerung der Acanthocephaleneier an lebendem oder verrottendem Futtersubstrat der entsprechenden Zwischenwirte besteht. Fressen die geeigneten Zwischenwirte, z.B. *Gammarus tigrinus*, ihre typische Nahrung, nehmen sie automatisch auch die daran verankerten reifen Acanthocephaleneier oral zu sich und infizieren sich mit *P. ambiguus*. TARASCHEWSKI et al. (1992) vermuteten zwar, dass die Verankerung der Acanthocephaleneier eine Funktion der Auswüchse der Eihülle  $E_2$  von *P. ambiguus* sein könnte, konnten diese Eihüllenfunktion jedoch nicht beweisen. Außerdem gingen TARASCHEWSKI et al. (1992) davon aus, dass es sich nicht um eine zunächst vollständig geschlossene Teilschicht der Eihülle  $E_2$  handelt, sondern um einzelne fädige Ausstülpungen der zweitäußersten Eihülle.

Erst die innere Eihüllenteilschicht von  $E_2$  von *P. ambiguus* weist eine Oberflächenbeschaffenheit auf, die durch das Vorhandensein von größeren oder kleineren runden Ausstülpungen gekennzeichnet ist. Im Gegensatz dazu ist die Innenseite der Eihülle  $E_2$  vollkommen glatt. Derartige Ausstülpungen der Eihülle  $E_2$  werden bei dem Eoacanthocephalen, *Neoechinorhynchus rutili* als Abstandshalter angesehen, die die Eihülle  $E_1$  in einer korrekten Position verankern (TARASCHEWSKI, 2000). Bei *P. ambiguus* besitzen diese Ausstülpungen vermutlich eine andere Funktion. Denkbar ist, dass diese unterschiedlich großen "Noppen" der inneren Eihüllenteilschicht von  $E_2$  dazu dienen die Eihülle zu verstärken bzw. zu versteifen. Die im Gewässer auf die Eihülle einwirkenden Kräfte können durch die zahlreichen "Noppen" auf der Außenseite der Eihülle besser aufgenommen und verteilt werden, ohne dass an der Eihülle ein gravierender Schaden entsteht.

Die Eihülle  $E_2$  von *P. ambiguus* hat somit drei äußerst wichtige, aber sehr unterschiedliche Funktionen, die sie alle effektiv erfüllen muss:

- Verankerung der Acanthocephaleneier an dem Futtersubstrat geeigneter Zwischenwirte durch den äußeren Teil der Eihülle  $E_2$ ,
- Schutz des ungeschlüpften Acanthoren vor mechanischen Beschädigungen durch den inneren Teil der Eihülle  $E_2$ ,
- Schutz des ungeschlüpften Acanthoren vor bakteriellen Angriffen durch die Einlagerung von Keratin in die Eihülle  $E_2$ .

Werden die reifen Acanthocephaleneier zusammen mit dem eigentlichen Futtersubstrat der Gammariden oral aufgenommen, wirken durch den intensiven Einsatz der Gammaridenmundwerkzeuge viel stärkere mechanische Kräfte auf die verbliebene Eihülle  $E_2$  ein als im freien Gewässer. Eine derartige punktuelle mechanische Beanspruchung der Eihülle durch die Mundwerkzeuge der Gammariden führt dazu, dass die verbliebene Eihülle  $E_2$  aufbricht. Der innere Teil der Eihülle  $E_2$  ist von solider, aber spröder Beschaffenheit. Diese Sprödigkeit der Eihülle hat zur Folge, dass ein einziger Sprung in der Eischale relativ geradlinig von seinem Entstehungsort über die gesamte Eilänge bzw. Eibreite verläuft. Durch solch einen Riss zerbricht die Eihülle  $E_2$  in zwei Teile und setzt den ungeschlüpften Acanthoren im Magen bzw. Darm des Gammariden frei. Der noch ungeschlüpfte Acanthor ist jetzt nur noch von den beiden inneren Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$ , aus welchen er sich aktiv befreien muss, umschlossen.

Bei der Eihülle  $E_3$  von *P. ambiguus* handelt es sich nur um eine dünne Eihülle, die keinerlei mechanischen Schutz mehr für den umschlossenen Acanthoren darstellt (REITZE, 1998; TARASCHEWSKI, 2000). Da die Eihülle  $E_3$  im Darm von *G. tigrinus* nach dem Ausschlüpfen der Acanthoren problemlos detektiert werden kann und keinerlei Spuren von Verdauungs- bzw. Abbauerscheinungen aufweist, wird vermutet, dass die Eihülle  $E_3$  nicht durch Enzyme der aktivierten Acanthoren perforiert wird (TARASCHEWSKI, 2000). Es war jedoch vollkommen unklar, ob die geschlossene Eihülle  $E_3$  einzig durch Veränderungen des osmotischen Druckes im Inneren des Acanthocephaleneis zerstört wird oder ob doch eine enzymatische Unterstützung durch die aktivierten Acanthoren in das Geschehen eingreift (TARASCHEWSKI, 2000). Durch die hier vorgelegten rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen wird erstmals belegt, dass die Acanthoren von *P. ambiguus* ihre apikalen Haken aktiv dazu einsetzen die geschlossene Eihülle  $E_3$  mechanisch aufzureißen. Zudem ist eine Zerstörung der Eihülle  $E_3$  aufgrund von osmotischen Druckveränderungen unwahrscheinlich, da  $E_3$  eine sehr faltige Struktur aufweist. Da die Aktivierung des Acanthors von *P. ambiguus* und somit dessen stereotype Bewegungszyklen im Ei beginnen, dürfte auch die innerste Eihülle  $E_4$  von *P. ambiguus* rein mechanisch zerstört werden.

### 4.1.3 Palaeacanthocephala

Die Eihülle der Palaeacanthocephala ist wie die Eihülle der Archiacanthocephala und die Eihülle der Eoacanthocephala aus vier verschiedenen Eihüllen  $E_1$ - $E_4$  aufgebaut (MARCHAND, 1984A; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992). Da die infektiösen Eier der Palaeacanthocephalen im Wasser relativ geringen mechanischen Belastungen ausgesetzt sind und keine Austrocknungsgefahr für die inaktiven Acanthoren besteht, ist die Gesamtheit der Eihüllen  $E_1$ - $E_4$ , wie bei den Eoacanthocephalen, insgesamt nur relativ dünn.

Die Gestalt der untersuchten Palaeacanthocephaleneier von *A. ranae*, *E. gadi*, *P. laevis*, *P. botulus* ist weder rund noch oval, sondern spindelförmig bzw. keulenförmig (MARCHAND, 1984A; TARASCHEWSKI, 1988, 1989). Vorstellbar ist, dass diese spindelförmige Gestalt den reifen Eiern der Palaeacanthocephalen ermöglicht, sich zwischen kleinen Steinen bzw. Sandkörnern zu verkeilen oder sich mit den Spitzen der Spindel in verrottendem Pflanzenmaterial festzusetzen.

Wie bei den Archi- und Eoacanthocephalen scheint die äußerste Eihülle  $E_1$  dem Schutz vor Verdauungsenzymen eines entsprechenden Endwirtes zu dienen, da es sich auch bei den Palaeacanthocephalen bei der Eihülle  $E_1$  um eine strukturlose, dünne Membran handelt und diese sich im Freien sehr rasch vom übrigen Ei ablöst. Gleiches beobachtet auch OETINGER & NICKOL (1974), UZNANSKI & NICKOL (1976) sowie BARGER & NICKOL (1998). Die zweitäußerste Eihülle  $E_2$  zeigte bei allen untersuchten Palaeacanthocephalenarten, wie bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus*, einen zweigeteilten Aufbau. Ein Teil der Eihülle  $E_2$  ist vollkommen geschlossen, wogegen der andere Teil von  $E_2$  aus langen, dünnen Fäden bzw. Bändern ("fibrillar coat") besteht, die um den geschlossenen Teil der Eihülle  $E_2$  herumgewickelt sind (MONNÉ & HÖNIG, 1954; MARCHAND, 1984A; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992; TARASCHEWSKI, 2000).

Diese langen, fädigen Bänder der Eihülle  $E_2$  sind je nach Acanthocephalenart in unterschiedlichem Wicklungsmuster um das restliche Ei herumgeschlungen. Je nach Palaeacanthocephalenart wird dabei entweder das gesamte Ei von den langen Bändern umwickelt oder derartige Fäden sind nur an den beiden Enden der spindelförmigen Eier ausgebildet. Dieser unterschiedlichen Umwicklung der Eier scheint keine besondere Bedeutung zuzukommen. Wie bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* geben diese fädigen Bänder im Gewässer ihre mehr oder weniger "ordentliche" Umwicklung des übrigen Eis rasch auf und treiben frei im Wasser umher. Mit einem Ende bleiben die Fäden von  $E_2$  immer mit der übrigen keratinhaltigen Eihülle  $E_2$  fest verbunden. Dadurch dienen diese Fäden der Eihülle  $E_2$ , wie bei *P. ambiguus*, der Verankerung der infektiösen Eier an Pflanzenmaterial, wodurch ihre Wahrscheinlichkeit von Zwischenwirten gefressen zu werden deutlich erhöht wird (UZNANSKI & NICKOL, 1976; WILLIAMS & JONES, 1994).

Die verankerten Palaeacanthocephaleneier werden von den entsprechenden Zwischenwirten (Amphipoden, Isopoden), bei denen es sich um "Schredderer" handelt, unabsichtlich zusammen mit dem Pflanzenmaterial, wie z.B. abgefallenen Blättern oder

Algen, oral aufgenommen. Um die Acanthocephaleneier als Nahrung für die Zwischenwirte attraktiver zu machen, lagern z.B. *P. laevis* und *P. minutus* zusätzlich Polysaccharide bzw. Proteoglycane als Lockstoff in die granulären Zwischenräume der Eihülle ein (TARASCHEWSKI, 1989; TARASCHEWSKI et al., 1992; WESTHEIDE & RIEGER, 1996). Im Gegensatz dazu konnten bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* nur sehr geringe Mengen an Polysacchariden nachgewiesen werden (TARASCHEWSKI et al., 1992). Sowohl bei *P. ambiguus* als auch bei *P. laevis* und *P. minutus* kommen Proteoglucane in den granulären Zwischenräumen der Eihülle vor (TARASCHEWSKI, 1989; TARASCHEWSKI, 2000). Durch den hohen Proteoglucangehalt sinken die Acanthocephaleneier rasch zu Boden und werden dort von den Zwischenwirten aufgespürt.

Außerdem ist bekannt, dass die Eihülle  $E_2$  einiger Palaeacanthocephalen zum Schutz der Acanthoren vor bakteriellen Angriffen mit Keratin ausgestattet ist, während die innerste Eihülle  $E_4$  von *A. anguillae*, *P. laevis*, *P. minutus* Chitin enthält (WHITFIELD, 1973; TARASCHEWSKI & PETERS, 1992). Zudem ist davon auszugehen, dass die geschlossene Eihülle  $E_2$  auch bei den Palaeacanthocephalen für den mechanischen Schutz der ungeschlüpften Acanthoren verantwortlich ist. Da die langen Eihüllenfäden von  $E_2$  ebenfalls keratinhaltig sind, wird eine dauerhafte Verankerung der Eier an dem Pflanzenmaterial gewährleistet, die durch bakteriellen Abbau nicht zu zerstören ist.

Über die Funktion der Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  bei den Palaeacanthocephalen ist noch nichts Näheres bekannt. Es ist gut möglich, dass sie ebenfalls dem Schutz der inaktiven Acanthoren vor Bakterien und schädlichen chemischen Stoffen dienen.

## 4.2 Überlebensfähigkeit der Acanthoren im reifen Ei

Die Acanthoren der Acanthocephalen besitzen, geschützt durch ihre vielschalige Eihülle, eine wirklich erstaunliche Überlebensfähigkeit. Diese Überlebensfähigkeit ist notwendig, wenn die Acanthocephaleneier zusammen mit dem eingeschlossenen Acanthoren ihre Funktion als bedeutendstes Verbreitungsstadium der Acanthocephalen erfolgreich erfüllen wollen. Es ist möglich, dass die infektiösen Eier der Acanthocephalen unter Umständen eine sehr lange Zeit in der freien Natur lagern, bevor sie von einem geeigneten Zwischenwirt gefunden und gefressen werden. Während dieser Ruhephase dürfen die Parasiteneier ihre Infektiosität nicht oder nur in geringen Maßen verlieren.

Die Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* und *M. moniliformis* ließen sich noch nach über 24 Monaten in physiologischer Lösung bei 8 °C ohne Probleme zum Schlüpfen stimulieren. Dabei konnte nicht festgestellt werden, dass die Schlüpftrate nachgelassen hätte. Dies deckt sich mit Erkenntnissen von ARNOLD & CROMPTON (1987). Die bei 8 °C gelagerten Acanthoren von *P. ambiguus* ließen sich nach acht Monaten noch problemlos zum Schlüpfen stimulieren. Die maximale Überlebensdauer bei 8 °C konnte nicht ermittelt werden, da die Eivorräte vorher aufgebraucht waren.

Aufgrund der morphologischen Beschaffenheit und der chemischen Ausstattung der Eihülle der verschiedenen Acanthocephalenarten, ist davon auszugehen, dass die Acanthoren auch bei Temperaturen über 8 °C sehr lange überleben können. Da die bei 18 °C gelagerten Acanthocephaleneivorräte von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* bereits nach sechs Monaten und von *P. ambiguus* nach vier Monaten aufgebraucht waren, kann keine Aussage zur maximalen Überlebensdauer der Acanthoren der untersuchten Acanthocephalenarten bei 18 °C getroffen werden. ARNOLD & CROMPTON (1987) lagerten die reifen Eier von *M. moniliformis* bei 22 °C länger als 30 Monate, ohne dass die Acanthoren geschädigt worden wären.

Andere Acanthocephalenspezialisten stellten je nach Lagerung sogar eine Überlebensfähigkeit der Acanthoren innerhalb ihrer Eihülle von über 3.5 Jahren fest (SPINDLER & KATES, 1940; KATES, 1942). Solch eine lange Lagerfähigkeit wird den Acanthoren durch einen hohen Glykogengehalt ermöglicht (STARLING, 1985). Eigene Untersuchungen mit dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* zeigten eine Überlebensfähigkeit von dessen Acanthoren von über acht Monaten. Andere aquatische Acanthocephalen weisen eine ähnlich lange Überlebensfähigkeit auf. Die Acanthocephaleneier von *Lep-torhynchoides thecatus* und *Octospinifer macilentis* bleiben in wässriger Lösung bei 4 °C neun Monate und die Eier von *Pomphorhynchus bulbocolli* und *Neoechinorhynchus rutili* sechs Monate für die geeigneten Zwischenwirte infektiös (DEGIUSTI, 1949; WILLIAMS & JONES, 1994). Eine derartig lange Überlebensfähigkeit ermöglicht den Acanthocephalen das Überdauern längerer ungünstiger Lebensumstände und sogar verschiedener Jahreszeiten.

Die reifen Acanthocephaleneier dürfen ihre Infektiösität auch unter verschiedenartigsten Milieubedingungen nicht verlieren und müssen zudem mit extremen Schwankungen dieses Umgebungsmilieus zurechtkommen (CROMPTON, 1970). Den Winter überstehen die von den Eischalen umhüllten Acanthoren vieler Acanthocephalenarten trotz Minusgraden unbeschadet (DEGIUSTI, 1949; CROMPTON, 1970). Die reifen Eier von *Polymorphus minutus* sind sogar nach 2.5 Monaten bei -22 °C noch immer für geeignete Zwischenwirte infektiös (HYNES & NICHOLAS, 1963). Insbesondere die Archiacanthocephaleneier müssen ebenso gut mit sehr heißen Temperaturen während der Sommermonate als auch mit mechanischen Belastungen oder bakteriellen Angriffen zurechtkommen.

Deshalb weisen die Acanthocephaleneier zahlreiche Anpassungen an eine lebensfeindliche Umwelt auf, die sowohl einen strukturell unterschiedlichen Eihüllenaufbau als auch eine unterschiedliche chemische Zusammensetzung der Eihüllen umfassen (MARCHAND, 1984A; PETERS et al., 1991; TARASCHEWSKI, 1988, 1989, 2000).

### 4.3 Stimulation der inaktiven Acanthoren zum Schlüpfen

Die aktive Phase des Acanthors im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen beginnt mit seiner Aktivierung im Magen-Darm-Trakt eines geeigneten Zwischenwirtes und endet, sobald der Acanthor das Hämocoel dieses Wirtes erreicht hat. Zuvor handelt es sich bei dem Acanthor um ein inaktives Stadium, das im reifen Acanthocephalenei darauf wartet von einem geeigneten Zwischenwirt gefressen zu werden.

Die wirtsspezifischen Schlüsselreize, die die Aktivierung der Acanthoren im Verdauungstrakt eines Wirtstieres und damit das Schlüpfen der Acanthoren der entsprechenden Acanthocephalensart initiieren, sind noch unvollständig erforscht. Von einigen Nematoden (*Ascaris lumbricoides*, *Ascaridia galli*, *Toxocara mystax*) ist bekannt, dass die richtige Konzentration von gelöstem und ungelöstem Kohlendioxid zusammen mit dem Oxidations-Reduktions-Potential des zu den Parasiteneiern zugegebenen Mediums ausschlaggebend für den Schlüpfertag der Parasitenlarven ist (ROGERS, 1958, 1960 & 1961).

Das Schlüpfen der Acanthoren findet in der Regel im Mitteldarm des Wirtes statt. Auch bei den Acanthocephalensarten scheint es so zu sein, dass das Ionenmilieu im Darm der Zwischenwirte zusammen mit einem geeigneten pH-Wert eine entscheidende Rolle dabei spielt, ob das erste Larvalstadium zum Schlüpfen stimuliert werden kann oder nicht (EDMONDS, 1966). Ein höherer pH-Wert entspricht dem Darmmilieu der Zwischenwirte eher als ein niedrigerer pH-Wert, da bei Laborexperimenten mit *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* stets der größte Schlüpfertag der Acanthoren bei pH 9 erzielt wurde. EDMONDS (1966) dokumentierte im Vergleich dazu bei dem Archiacanthocephalen *M. moniliformis* bei pH 7 eine Schlüpfertag von 10 %, während sie bei pH 8.0 60 % betrug. Aufgrund dieser Ergebnisse steht fest, dass der pH-Wert bei Schlüpfexperimenten zwischen pH 7.5 und pH 9.0 liegen sollte, um eine maximale Schlüpfertag der Acanthoren zu erzielen.

Im Gegensatz dazu konnte kein allzu gravierender Einfluss der Temperatur auf das Schlüpfverhalten der in Mitteleuropa heimischen Acanthocephalensarten *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* beobachtet werden. Daher ist davon auszugehen, dass die Acanthoren in der Regel in Mitteleuropa vom Frühjahr bis zum Herbst ein nahezu konstantes Schlüpfverhalten aufweisen. Ausschließlich im Winter bei Temperaturen um die 10 °C vermindert sich die Schlüpfertag dieser Parasitenarten merklich. Dabei spielt es keine Rolle, ob ein Acanthocephale einen aquatischen oder einen terrestrischen Entwicklungszyklus besitzt. Ähnliche Ergebnisse erzielte EDMONDS (1966) bei *M. moniliformis*. Die Acanthoren dieser Acanthocephalensart schlüpfen bei 4 °C gar nicht. Bei Temperaturen über 10 °C konnte EDMONDS (1966) keine temperaturbedingte Veränderung des Schlüpfverhaltens feststellen. KATES (1942) konnte ebenfalls keinen Einfluss der Temperatur (< 45 °C) auf das Schlüpfverhalten von *M. hirudinaceus* beobachten. Da die Acanthoren weder ein Nervensystem noch Sinnesorgane besitzen, kann das Schlüpfverhalten der Acanthoren nicht durch unterschiedliche Lichtverhältnisse beeinflusst werden. Im Gegensatz dazu können die Erkenntnisse von EDMONDS (1966)

bestätigt werden, dass das Elektrolyt Natriumhydrogencarbonat essentiell ist, um die Acanthoren zum Schlüpfen zu stimulieren. Eine 0.3 molare Salzlösung imitiert die Milieubedingungen des Darmes eines Zwischenwirtes am besten, da bei Verwendung von 0.3 molarer Natriumhydrogencarbonat-SchlüpfLösung stets die meisten Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* aktiviert wurden.

Sowohl die Acanthoren der beiden Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* als auch die Acanthoren des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* konnten *in-vitro* zum Schlüpfen stimuliert werden. Die Acanthoren der untersuchten Acanthocephalen schlüpfen bei einer geeigneten Stimulation sehr schnell. Bereits 20 Minuten nach der "Schlüpf-Stimulation" waren Acanthoren von allen drei Acanthocephalenarten geschlüpft. Sechs Stunden später konnten nur noch vereinzelt Acanthoren beim Schlüpfen beobachtet werden, d.h., die meisten Acanthoren dieser Acanthocephalen schlüpfen innerhalb der ersten sechs Stunden nachdem die reifen Eier von geeigneten Zwischenwirten gefressen wurden.

Beim Zerkleinern ihrer Nahrung bearbeiten die Zwischenwirte die Acanthocephaleneier zusammen mit den übrigen Nahrungsbestandteilen ausgiebig. Diese mechanische Einwirkung der beißend-kauenden Mundwerkzeuge der entsprechenden Zwischenwirte auf die reifen Acanthocephaleneier ist für die Aktivierung der noch inaktiven Acanthoren und damit für den Fortgang des Entwicklungszyklusses der Acanthocephalen geradezu von existentieller Bedeutung. Ohne eine derartige Bearbeitung der Acanthocephaleneier durch die Mundwerkzeuge von Zwischenwirten käme es im Magen-Darm-Trakt der Zwischenwirte vermutlich nie zu der Aktivierung eines einzigen Acanthoren. Dies erwies sich bei *in-vitro* Versuchen mit den beiden Archiacanthocephalenarten *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* und dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* eindeutig. Es gelang weder Acanthoren von *M. moniliformis* noch von *M. hirudinaceus* oder gar von dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus in-vitro* zum Schlüpfen zu stimulieren, ohne dass die eingesetzten Acanthocephaleneier vor Überführung in eine SchlüpfLösung nach EDMONDS (1966) zuvor mindestens sechs Minuten lang mechanisch beansprucht worden wären. Kürzere mechanische Bearbeitungen (1 Min. - 4 Min.) der infektiösen Eier führten zu keinem sichtbaren Schlüpf Erfolg. Erstaunlicherweise ist die durch die mechanische Bearbeitung erzielte Beschädigung der Eihülle  $E_2$  so minimal, dass im Rasterelektronenmikroskop kein Unterschied zwischen mechanisch bearbeiteten und unbearbeiteten Acanthocephaleneiern zu erkennen ist.

Durch unterschiedlichste Versuchsbedingungen, die ohne eine mechanische Reizung der Acanthocephaleneier zu Beginn auskamen, konnte nicht ein einziger Acanthor zum Schlüpfen animiert werden. Weder der bakterielle Angriff auf die Eihüllen im Teichwasser, noch die Einwirkung von Trypsin auf die Acanthocephaleneier oder deren Reizung durch Ultraschall reichte aus, um die Acanthoren zum Schlüpfen zu bewegen. Selbst Versuche, die den Weg eines Archiacanthocephaleneis vom Darmlumen des Endwirtes hin zum Darmlumen eines Zwischenwirtes durch eine Trocknungsphase mit anschließender Wiederbefeuchtung imitieren sollten, schlugen vollkommen fehl.

Insgesamt benötigen die Acanthoren eine exakt aufeinander abgestimmte Stimulation, um erfolgreich zum Schlüpfen aktiviert zu werden. Bei dieser Stimulation muss es sich um eine Kombination aus mechanischer Einwirkung und chemischer Reizung handeln, die in einer bestimmten Reihenfolge aufeinanderfolgen. Die mechanische Einwirkung auf die Acanthocephaleneier darf dabei in ihrer Bedeutung keinesfalls unterschätzt werden, da sie die äußere Eihülle  $E_2$  lokal zerstört und dadurch erst den chemischen Reizen den Weg ins Eiinnere zum noch inaktiven Acanthoren ebnet.

Die Zeit, welche die aktivierten Acanthoren zum Schlüpfen benötigen, variiert zwischen 15 Minuten und 48 Stunden (CROMPTON, 1970; NICKOL, 1985; WILLIAMS & JONES, 1994). Bei dem eigentlichen Schlüpfprozess der Acanthoren handelt es sich um eine Kombination von passiven und aktiven Prozessen. Die passiven Prozesse werden durch die orale Aufnahme der Acanthocephaleneier durch einen Zwischenwirt und die darauffolgende Einwirkung von dessen Verdauungsenzymen auf diese Acanthocephaleneier repräsentiert, während es sich bei den aktiven Prozessen um die Eigenbewegungen der aktivierten Acanthoren handelt.

### 4.3.1 Zwischenwirtspezifität

Einige Acanthocephalenarten weisen eine sehr ausgeprägte Zwischenwirtspezifität auf, wie z.B. der Eoacanthocephale *P. ambiguus* (SAMUEL & BULLOCK, 1981), während andere Acanthocephalenarten ein relativ breites Spektrum an möglichen Zwischenwirten besitzen (FREEHLING & MOORE, 1993).

Falls bei einer Acanthocephalenart eine Spezifität bezüglich des Zwischenwirtes vorhanden ist, dürfte diese Zwischenwirtspezifität zu großen Teilen an der Immunantwort des Zwischenwirtes auf das Eindringen der Acanthoren in sein Hämocoel liegen. Von *P. americana*, einem geeigneten Zwischenwirt von *M. moniliformis*, ist bekannt, dass zunächst alle Acanthoren, welche die Darmwand der Schabe erfolgreich penetriert haben, von Hämocyten des Wirtstieres abgekapselt werden. Diese primäre Abwehrreaktion des Wirtes soll den Eindringlingen die Zufuhr von Sauerstoff und Nährstoffen abschneiden. Während die Acanthoren von *M. hirudinaceus*, für welchen *P. americana* keinen geeigneten Wirt darstellt, im Hämocoel der Schabe im Laufe der Zeit vollkommen abgekapselt werden, vermindert sich im Gegensatz dazu die Anzahl der Hämocyten, die die Acanthoren des Acanthocephalen *M. moniliformis* umgeben, im Laufe weniger Tage deutlich (ROTHERAM & CROMPTON, 1972; LACKIE & HOLT, 1988).

Die unterschiedliche Immunantwort des Zwischenwirtes *P. americana* hat ein Überleben der Acanthoren der "passenden" Acanthocephalenart *M. moniliformis* zur Folge, während alle Acanthoren des "ungeeigneten" Parasiten *M. hirudinaceus* durch Melanisierung abgetötet werden (ROBINSON & STRICKLAND, 1969). Eine durchaus übliche Immunantwort von Insekten auf den Befall mit parasitischen Larvalstadien (GRIMSTONE et al., 1967; ROBINSON & STRICKLAND, 1969; ZHAO & WANG, 1992). Eine derartige Immunantwort ist auch von verschiedenen Käferarten bei Befall mit *M. hirudinaceus* dokumentiert (KAISER, 1893; MILLER, 1943; KATES, 1943).

VOLKMANN (1991 & 1993) vermutet, dass das Phenoloxidasystem in den Epithelzellen des Mitteldarmgewebes und in den Hämocyten durch das Eindringen der Parasitenlarven in das Hämocoel des Wirtes aktiviert wird und bei dem Abkapselungsprozess eine bedeutende Rolle spielt. Ob der in *P. americana* überlebende *M. moniliformis* eine Möglichkeit gefunden hat das Phenoloxidasystem der Schabe zu hemmen oder ob die Enzymaktivität dieses Systems zu einem späteren Zeitpunkt abgeklungen ist, konnte noch nicht eindeutig geklärt werden (BRENNAN & CHENG, 1975; LACKIE & HOLT, 1988; VOLKMANN, 1991). Es ist möglich, dass die Zwischenwirtspezifität der Acanthocephalen auf Prozessen beruht, die nach der Darmwandpenetration des Acanthors ablaufen, d.h., die Zwischenwirtspezifität der Acanthocephalen könnte erst nach der Penetration der Darmwand des Zwischenwirtes zum Tragen kommen (TARASCHEWSKI, 2000).

Eine altersbedingte Zunahme der Resistenz von Zwischenwirten gegenüber einer Acanthocephaleninfektion ist weit verbreitet (NICKOL & DAPPEN, 1982; OETINGER & NICKOL, 1982; BRATTEY, 1986). Dennoch sind Behauptungen, dass der Darm des Zwischenwirtes aufgrund seines Aufbaus und dem Vorhandensein einer peritrophischen Membran eine Barriere für die Acanthocephalen darstellt, fragwürdig (Peters, 1992; MOORE & CROMPTON, 1993). Zumal bekannt ist, dass die Acanthoren mancher Acanthocephalenarten Chitinase ausscheiden (EDMONDS, 1966). Desweiteren zeigten Experimente mit den Schabenarten *Nauphoeta cinerea* bzw. *Eublabeus posticus*, die gegen den Acanthocephalen *M. moniliformis* resistent sind (FREEHLING & MOORE, 1993), dass diese Tiere auch bei Umgehung der Darmwand nicht mit dieser Acanthocephalensart infiziert werden können (MOORE & CROMPTON, 1993). Trotzdem sollte nicht ausgeschlossen werden, dass der Aufbau bzw. die chemische Zusammensetzung der peritrophischen Membran an der Zwischenwirtspezifität der Acanthocephalen beteiligt ist.

Denkbar ist, dass das Vorhandensein bzw. Fehlen von Schlüsselreizen (pH-Wert, Ionenmilieu, Verdauungsenzyme), die für eine Aktivierung der Acanthoren unbedingt notwendig sind, für die Zwischenwirtspezifität der Acanthocephalen verantwortlich ist. Erstaunlicherweise konnten jedoch sowohl die beiden Archiacanthocephalensarten *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* als auch der Eoacanthocephale *P. ambiguus* unter identischen Versuchsbedingungen erfolgreich zum Schlüpfen stimuliert werden, obwohl die Archi- bzw. Eoacanthocephalen sehr unterschiedliche Lebensräume besitzen. Dies deutet darauf hin, dass die größte Bedeutung für die Zwischenwirtspezifität der Acanthocephalen bezüglich des Schlüpfens der Acanthoren auf der Einwirkung der Mundwerkzeuge des Zwischenwirtes auf die Eihülle  $E_2$  des jeweiligen Acanthocephaleneis beruhen könnte.

Möglicherweise setzen die verschiedenen Zwischenwirte ihre Mundwerkzeuge unterschiedlich stark zur Zerkleinerung der Nahrung ein. Gelingt es einem Tier nicht die Eihülle  $E_2$  eines entsprechenden Acanthocephaleneis während der oralen Aufnahme mit seinen Mundwerkzeugen ausreichend zu beschädigen, dringen nachfolgende Schlüpfreize (pH-Wert, Ionenmilieu, Verdauungsenzyme) gar nicht bis zu dem inakti-

ven Acanthoren vor. Der Acanthor kann nicht feststellen, dass er sich im Darmlumen eines Zwischenwirtes befindet. Diese Hypothese wird durch die Versuche zur Schlüpfstimulation der Acanthoren mit vorheriger mechanischer Reizung gestützt. Die Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* ließen sich nach mehrminütiger Bearbeitung der relativ großen Archiacanthocephaleneier mittels eines Glaspistills problemlos zum Schlüpfen stimulieren. Die Acanthoren von *P. ambiguus* konnten durch diese Methode nie zum Schlüpfen bewegt werden. Erst durch mehrminütiges Mahlen der Eier in feinkörnigem Quarzsand gelang es, Acanthoren von *P. ambiguus* reihenweise zu aktivieren. Vermutlich sind die Eoacanthocephaleneier von *P. ambiguus* zu klein, so dass deren Eihülle  $E_2$  durch Einwirkung des Glaspistills nicht ausreichend stark beschädigt wird. D.h., die Form und Größe der Acanthocephaleneier muss von den Größenverhältnissen zu den Mundwerkzeugen der Zwischenwirte passen, damit die Acanthoren zum Schlüpfen stimuliert werden.

#### 4.4 Die Bedeutung der aktiven Eigenbewegung der Acanthoren

Der Acanthor ist das einzige Stadium im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen, das nach eigenen Beobachtungen unaufhörlich stereotype Bewegungen abspult. Die Fähigkeit des haken- und stachelbewehrten Acanthoren zu aktiven Bewegungen spielt die essentielle Rolle im Leben des Acanthoren, ohne die der Acanthor keine einzige seiner Aufgaben erfolgreich bewältigen könnte. Der Acanthor würde kläglich noch von einzelnen Eihüllen umschlossen zugrunde gehen.

Bei dem stereotypen Bewegungsablauf der Acanthoren handelt es sich um eine perfekt aufeinander abgestimmte Folge von rhythmischen Aktionen einzelner Körperkompartimente. Erst die Gesamtheit aller Einzelbewegungen führt zu einer für die Acanthoren idealen Gesamtbewegung, die zu einer Vorwärtsbewegung führt. Aufgrund von Untersuchungsergebnissen zur Bewegungsfähigkeit von Acanthoren an *Moniliformis moniliformis* (WHITFIELD, 1971), beiläufigen Erkenntnissen an Acanthoren von *Moniliformis moniliformis*, *Macracanthorynchus ingens*, *Mediorhynchoides thecatus* und *Lep-torhynchoides thecatus* (MOORE, 1946A, 1946B; DEGIUSTI, 1949) sowie eigenen Beobachtungen an Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* muss davon ausgegangen werden, dass die Acanthoren der meisten Acanthocephalensarten ein nahezu identisches Bewegungsverhalten besitzen.

Der stereotype Bewegungszyklus des Acanthoren löst vom ungeschlüpfen Acanthoren bis zum Larvalstadium des Cystacanthen alle gestellten Anforderungen gleichermaßen gut, so dass der Acanthor mit seinem Verhalten nicht auf veränderte Umgebungsbedingungen zu reagieren braucht. Die stereotypen Bewegungszyklen der Acanthoren sind daher sowohl vor und nach dem Schlüpfen des Acanthors als auch während der Darmwandpenetration identisch. Auch konnte kein gravierender Unterschied im Ablauf des Bewegungszyklusses der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* festgestellt werden.

Einmal aktiviert, spult der Acanthor ohne die geringste Abweichung bis an sein Lebensende sein typisches Verhaltensrepertoire ab, das ihm zu einem hohen Prozentsatz die Weiterentwicklung zum Larvalstadium des Cystacanthen ermöglicht.

#### 4.4.1 Bedeutung der Bewegungsfähigkeit während des Schlüpfprozesses

Bereits MOORE (1946A) vermutete, dass Eigenbewegung des Acanthoren von *Moniliformis moniliformis* sowohl für den Schlüpfvorgang als auch für den Penetrationsprozess der Darmwand des Wirtstieres von großer Bedeutung sind. Laut DEGIUSTI (1949) handelt es sich bei dem Schlüpfvorgang der Acanthoren um eine Kombination von passiven und aktiven Prozessen, wobei die Eigenbewegungen der Acanthoren den aktiven Prozess darstellen. Im Gegensatz dazu wird der passive Prozess durch die Aufnahme der Eier durch einen Zwischenwirt und die darauffolgende Einwirkung von keratinolytischen Enzymen verkörpert. 1966 äußerte EDMONDS den Verdacht, dass schneidende oder sägende Bewegungen der apikalen Haken des Acanthoren eine Rolle während des Schlüpfprozesses spielen.

Bei *in-vitro*-Versuchen mit reifen Eiern der Archiacanthocephalenarten *M. hirudinaceus* und *M. moniliformis* sowie des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* konnte beobachtet werden, dass die ungeschlüpften Acanthoren bereits im Acanthocephalenei mit stets gleich ablaufenden, stereotypen Bewegungszyklen beginnen. Ebenso sind von Acanthoren des Acanthocephalen *Polymorphus minutus* sich wiederholende Körperbewegungen im Acanthocephalenei dokumentiert (TARASCHEWSKI, 2000).

Die Acanthoren untersuchter Acanthocephalenarten vollführen rhythmische Körperbewegungen, sobald die noch von den Eihüllen umschlossenen Acanthoren im Magen bzw. Darm des entsprechenden Zwischenwirtes durch geeignete Faktoren, wie das Darmionemilieu oder den richtigen pH-Wert, aktiviert wurden. Die stereotypen Bewegungszyklen der Acanthoren umfassen bereits im Acanthocephalenei Körperkontraktionen als auch aktive Bewegungen der großen, apikalen Haken bzw. der kleineren Körperstacheln und dienen der mechanischen Zerstörung der inneren Eihüllen E<sub>3</sub> und E<sub>4</sub>.

Die mechanische Zerstörung der inneren Eihülle E<sub>4</sub> von den aktivierten Acanthoren einiger Acanthocephalenarten könnte zusätzlich chemisch durch die Ausscheidung von histolytischen Enzymen, wie z.B. Chitinasen oder Keratinasen, unterstützt werden. EDMONDS (1966) konnte belegen, dass aktivierte Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. moniliformis* eine Chitinase ausscheiden. Interessanterweise ist die innerste Eihülle E<sub>4</sub> dieser Acanthocephaleneier chitinhaltig (TARASCHEWSKI, 2000). PETERS et al. (1991) und TARASCHEWSKI & PETERS (1992) vermuten, dass die innerste Eihülle E<sub>4</sub> der Acanthocephaleneier zunächst mittels einer Chitinase enzymatisch perforiert und anschließend mechanisch mit Hilfe der Haken des Acanthors penetriert wird. Falls eine chemische Unterstützung der mechanischen Eihüllenpenetration stattfindet, können nicht bei allen Acanthocephalenarten Chitinasen als histolytische Enzyme zum Einsatz kommen. Von den beiden Eoacanthocephalen *P. ambiguus* und *Neoechinorhynchus*

*rutili* ist bekannt, dass die innerste Eihülle  $E_4$  kein Chitin enthält (TARASCHEWSKI, 2000). Daher wird vermutet, dass die Eihülle  $E_4$  der Palae- und Archiacanthocephalen Chitin enthält, während in  $E_4$  der Eoacanthocephalen keinerlei Chitin vorkommt (TARASCHEWSKI, 2000).

Eine rein chemische Perforation der Eihüllen  $E_3$  und  $E_4$  kann aufgrund der beobachteten Verwendung der apikalen Haken und Stacheln des Acanthors bei den Penetrationsprozessen der inneren Eihüllen ausgeschlossen werden. Hinzu kommt, dass die innerste Eihülle  $E_4$  dem ungeschlüpften Acanthoren aufgrund der kompakten Lagerung der Acanthoren im Acanthocephalenei eng anliegt. Die innerste Eihülle  $E_4$  umschließt den kompletten Acanthor mitsamt den leicht abstehenden Haken und Stacheln als knapp sitzende "2. Haut". Geringfügigste Haken- bzw. Körperbewegungen reichen dem Acanthor aus, um die geschlossene innerste Eihülle  $E_4$  zu zerstören und sich daraus zu befreien. Anschließend dürfte sich der Acanthor daran machen, die Eihülle  $E_3$  mit Hilfe seiner apikalen Haken zu durchbohren und mechanisch eine Art "Deckel" abzutrennen. Die These der mechanischen Eihüllenzerstörung wird durch Beobachtungen von EDMONDS (1966) und WHITFIELD (1971) gestützt. Außerdem ist die Eihülle  $E_3$  vieler Acanthocephalenarten keratinhaltig, so dass eine vorhandene Chitinase (EDMONDS, 1966)  $E_3$  gar nicht abbauen kann.

Eine enzymatische Perforation der Eihülle  $E_3$  vor ihrer mechanischen Penetration konnte nicht beobachtet werden. Selbst bei aktivierten Acanthoren war die Eihülle  $E_3$  solange vollkommen geschlossen, bis der Acanthor sie mit seinen Haken stellenweise mechanisch zerstörte. Durch die herausgeschnittene Öffnung entweicht der Acanthor der restlichen Eihülle  $E_3$  und gelangt von den beiden äußeren Eihüllen  $E_1$  und  $E_2$  vollkommen ungehindert in das freie Darmlumen seines Wirtstieres.

#### **4.4.2 Bedeutung der Bewegungsfähigkeit im Darmlumen eines Zwischenwirts**

Nachdem der Acanthor geschlüpft ist, besteht das einzige Ziel des Acanthoren im Erreichen der Darmwand seines Wirtstieres.

Durch ihre koordinierte Körperbewegung erzielen die Acanthoren nach eigenen Beobachtungen, wie auch nach Untersuchungen von WHITFIELD (1971), bedeckt von Salzlösung selbst zwischen zwei extrem glatten Glasoberflächen eine Vorwärtsbewegung. Dies ist bemerkenswert, da der Fortbewegungsmechanismus der Acanthoren nicht für solch glatte Oberflächen konzipiert wurde und unter diesen Bedingungen nur eine äußerst geringe Effizienz aufweist. Auch WHITFIELD (1971) führt diese Vorwärtsbewegung der Acanthoren auf die rückwärtsgerichteten Stacheln am hinteren Körperende zurück, die als Sperrhaken fungieren und ein Zurückrutschen des Acanthors während der Vorwärtsbewegung verhindern. Zwischen den glatten Glasoberflächen findet der Acanthor mit seinen rückwärtsgerichteten Stacheln kaum Halt. Zudem findet das apikale Ende des Acanthors mit seinen großen Haken keinen Angriffspunkt.

---

Ist ein Acanthor im Darm eines Zwischenwirts geschlüpft, trifft er auf vollkommen andere Umgebungsbedingungen als Acanthoren, die *in-vitro* zum Schlüpfen stimuliert wurden. Der Darm freilebender Zwischenwirte ist bei ausreichendem Nahrungsvorkommen prall gefüllt mit einem Gemisch von sorgfältig zerkleinerten Nahrungsstücken und Bakterien. Sowohl die kleineren Körperstacheln als auch die großen apikalen Haken der Acanthoren treffen in diesem Nahrungsbrei auf ausreichend Widerstand, um für eine beständige Vorwärtsbewegung sorgen zu können. Dabei erzielt der Acanthor eine Vorwärtsbewegung, die deutlich mehr Vorschub erzeugt als auf einer glatten Glasfläche. Nach WHITFIELD (1971) erreichen die geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis* eine Geschwindigkeit von zwei Zentimetern pro Stunde.

Bei ultrastrukturellen Untersuchungen an geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* konnten keine Sinnesorgane gefunden werden, die einem Acanthoren Informationen über seine momentane Umwelt liefern könnten. Dies deckt sich mit den Befunden von ALBRECHT et al. (1997) an ungeschlüpften Acanthoren von *Polymorphus minutus*, *Neoechinorhynchus rutili* und *M. moniliformis*. Es ist nicht notwendig, dass der Acanthor die Darmwand aktiv aufspürt. Beim Aufspüren der Darmwand kommen keinerlei sensorische Fähigkeiten der Parasitenlarven zum Tragen ("no-feedback-system") (WHITFIELD, 1971). Die Parasitenlarve stößt durch das kontinuierliche Abspulen eines von Umgebungsbedingungen unabhängigen Verhaltensrepertoires im Laufe ihrer Vorwärtsbewegung rein zufällig auf die Darmwand des Zwischenwirts. An der Darmwand angelangt, benötigt der Acanthor insbesondere für die lokale Zerstörung der peritrophischen Membran einen gewissen Zeitraum (TARASCHEWSKI, 2000).

Die recht unterschiedliche Verweildauer der Acanthoren im Darm des Zwischenwirts hängt eindeutig auch mit dem Zeitpunkt des Erreichens der Darmwand zusammen. Je nachdem, auf welchem direktem oder indirektem Weg ein Acanthor die Darmwand erreicht, kann es längere Zeit dauern bis die geschlüpfte Larve, sogar in einem geeigneten Zwischenwirt, das Hämocoel dieses Tieres erreicht hat (siehe 4.4.4). Der Zeitraum des Erreichens des Hämocoels durch die Parasitenlarve und damit auch die Aufenthaltsdauer dieser Larve im Darmtrakt ihres Wirtstieres schwankt zwischen wenigen Tagen und über 30 Tagen (MOORE, 1946A, 1946B; WHITFIELD, 1971; SAMUEL & BULLOCK, 1981; OETTINGER & NICKOL, 1982; ZHAO, 1990; VOLKMANN, 1991; WILLIAMS & JONES, 1994). Da die Acanthoren keinerlei Energie aus ihrer Umgebung aufnehmen, beruht diese Langlebigkeit der Acanthoren auf enormen Glykogenvorräten, die die Parasitenlarven bereits als inaktive Acanthoren eingelagert haben (STARLING, 1985).

Der Darm einer Schabe von *P. americana* hat beispielsweise einen durchschnittlichen Durchmesser von ungefähr 400 µm. Die Darmwand selbst ist 100 µm dick (WHITFIELD, 1971). D.h., ein Acanthor, der in das Hämocoel von *P. americana* gelangen will, muss maximal 500 µm zurücklegen bevor er sein Ziel auf direktem Weg erreicht hat. Da der Acanthor von *M. moniliformis* sich nach eigenen Untersuchungen und Untersuchungen von WHITFIELD (1971) mit einer durchschnittlichen Geschwindigkeit von zwei Zentimetern pro Stunde vorwärtsbewegt, könnte der Acanthor bereits nach sehr

kurzer Zeit das Hämocoel von *P. americana* erreicht haben. Dennoch benötigt der Acanthor häufig 10-12 Tage oder seltener sogar über 30 Tage bevor die Parasitenlarve das Hämocoel seines Wirtstieres erreicht hat (VOLKMANN, 1991). Solch eine extrem langer Penetrationszeitraum lässt sich nur mit einem äußerst indirektem Weg erklären, welchen der Acanthor zurücklegt bevor er auf die Darmwand trifft. Durch eigene Beobachtungen an geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hiurdinaceus* und *P. ambiguus* kann ausgeschlossen werden, dass der Acanthor den Ablauf seiner gleichmäßig verlaufenden Bewegungszyklen zeitweilig unterbricht und dadurch seine Wandergeschwindigkeit herabsetzt.

Stößt die Parasitenlarve auf einen größeren Widerstand, hat der Acanthor fast immer die Darmwand erreicht. Schließlich besteht der Darminhalt eines typischen Zwischenwirtes einer Acanthocephalenart, wie bereits oben erwähnt, aus einem zähflüssigen Nahrungsbrei, der dem Acanthoren in der Regel wenig Widerstand entgegensetzt. Dennoch fährt der Acanthor solange unbeirrt mit seinen stereotypen Bewegungszyklen fort bis er in die Leibeshöhle seines Wirtstieres eingedrungen ist und mit der Weiterentwicklung zum Cystacanth beginnt. Dieses "sture" Verhalten des Acanthors, welches unabhängig von Informationen über seine Umwelt ist, führt dazu, dass die Acanthoren versuchen jedes Objekt zu penetrieren, welches ihnen einen gewissen Widerstand entgegenstellt. Daher kann es vorkommen, dass Acanthoren versuchen sogar die leeren Eihüllen bereits geschlüpfter Parasitenlarven zu penetrieren. Dies ist für die Acanthoren jedoch nicht besonders gravierend, da die Acanthoren die Penetrationsversuche solange durchführen bis sie die Leibeshöhle ihres Wirtstieres erreicht oder ihr Leben beendet haben.

Aufgrund der großen Anzahl von Acanthocephaleneiern, die ein Zwischenwirt zusammen mit seiner Nahrung oral aufnimmt, wird sichergestellt, dass zumindest einige Acanthoren in gegebener Zeit tatsächlich die Darmwand erreichen und sie penetrieren. Der Zyklus der Acanthocephalen bleibt am Laufen.

#### **4.4.3 Bedeutung der Bewegungsfähigkeit während der Darmwandpenetration**

Hat der geschlüpfte Acanthor die Darmwand erreicht, muss er diese letzte Barriere überwinden, bevor er sein Ziel erreicht hat und sich im Hämocoel seines Wirtes befindet. Da die Darmwand, insbesondere die peritrophische Membran, durch ihren Aufbau der Parasitenlarve mehr Widerstand entgegenstellt als der Nahrungsbrei im Darmlumen des Zwischenwirtes, kommen nochmals alle Ausstattungsmerkmale des Acanthors zu einem letzten ausgiebigen Einsatz.

Durch die Ausführung von stereotypen Bewegungszyklen erreicht der Acanthor eine lokale Zerstörung des Darmwandgewebes seines Wirtes. Aufgrund der symmetrischen Anordnung der apikalen Haken und des runden Körperquerschnittes der Acanthoren entsteht eine kreisförmige Öffnung in der Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes der Acanthocephalen. Durch diese Öffnung presst sich der Acanthor in das Hämocoel

coel seines Wirtstieres. Ohne die Befähigung zur aktiven Bewegung käme es nie zu einer derartigen Zerstörung der Darmwand. Der Acanthor könnte das Hämocoel seines Wirtstieres nicht erreichen. Der Entwicklungszyklus der Acanthocephalen wäre abgebrochen.

Die vorderste Hakenreihe am apikalen Pol des Acanthors ist für die erste mechanische Beschädigung der Darmwand verantwortlich. Während eine Kontraktion der beiden Retraktormuskeln des Acanthors eine vollständige Invagination des hakenbesetzten apikalen Pols erzielt, kommt es durch Relaxation dieser beiden zentral angeordneten Retraktoren zu einem plötzlichen Ausschleudern der apikalen Haken. Die Hakenspitzen der vordersten Hakenreihe treffen mit ihrer Spitze auf die Darmwand und schneiden beim Umklappen nach hinten in diese hinein. Durch wiederholtes Invaginieren bzw. Evaginieren des apikalen Pols des Acanthors wird die Beschädigung der Darmwand größer. Im Lauf der Zeit schneiden mehr und mehr Haken in die Darmwand hinein, so dass der Acanthor langsam in die Öffnung der Darmwand hineinkriecht. Es entsteht eine kreisrunde Öffnung, die dem Durchmesser des apikalen Pols des entsprechenden Acanthors entspricht.

Die kleineren Körperstacheln, die zahlreich über den hinteren Körper der Acanthoren verteilt sind, können durch Kontrahieren bzw. Entspannen der subepithelialen Muskulatur aktiv abgespreizt oder angelegt werden. Durch diese unterschiedliche Stellung der caudalwärts gerichteten Körperstacheln wird ein Zurückrutschen der Acanthoren während der Darmwandpassage verhindert. Die abgespreizten Körperstacheln, die sich im Darmwandgewebe verhaken, unterbinden größere Bewegungen der Acanthoren in Richtung Darmlumen.

Ohne eine Möglichkeit zur aktiven Bewegung der Körperstacheln würde ein Acanthor immer wieder in das Darmlumen seines Wirtstieres zurückrutschen, da die apikalen Haken des Acanthors zeitweilig vollständig invaginiert sind und dem Acanthor dann keinen Halt in der Darmwand bieten. Falls ein Acanthor, der seine Körperstacheln nicht bewegen kann, wider Erwarten das Hämocoel seines Wirtstieres erreichen könnte, dürfte dieser Acanthor für die Darmwandpassage deutlich länger benötigen als ein Acanthor, der zur Bewegung der Körperstacheln befähigt ist. Durch die Kontraktion der subepithelialen Muskulatur kommt es zudem zu einer deutlichen Verkürzung des hinteren Körpers der Acanthoren.

Falls die Oberfläche der Acanthoren tatsächlich von einem Lipidfilm überzogen ist, dürfte dieser Überzug der Verminderung der Reibung der Acanthoren während der Darmwandpassage dienen. Aufgrund solch eines "Gleitfilmes" könnten die Acanthoren die Darmwand mit einem deutlich geringeren Kraftaufwand passieren. Hinzu kommt, dass das fusionierte Kryptensystem der Acanthoren aufgrund der auf die Acanthoren einwirkenden Drücke in der Lage wäre "Gleitmittel" (Lipid, Mucopolysaccharide) exakt an den Körperstellen des Acanthors abzusondern, an welchen die Acanthoren es gerade am meisten benötigen.

#### 4.4.4 Die Lebensspanne aktivierter Acanthoren

Die Lebensspanne aktivierter Acanthoren, die einerseits die Schlüpf- und Wanderungsphase im Darmlumen und andererseits die Penetrationsphase der Darmwand des Wirtstieres umfasst, erstreckt sich bei den verschiedenen Acanthocephalenarten über äußerst unterschiedliche Zeiträume (siehe Tabelle 13). Selbst von aktivierten Acanthoren ein und derselben Acanthocephalenart sind große Unterschiede in ihrer "Lebensspanne" bekannt, die auf möglichen zeitlichen Varianzen in jeder Funktionsphase des Acanthors beruhen.

Zunächst kann die Aktivierungszeit der Acanthoren unterschiedlich sein, da die Acanthoren für die Aktivierung eine gewisse Zeit benötigen, um zu erkennen, dass sie sich in dem Verdauungstrakt eines geeigneten Wirtes befinden. Die Aktivierungszeit hängt unter anderem mit der Intensität der Einwirkung der Mundwerkzeuge der Zwischenwirte auf die aufgenommenen Acanthocephaleneier zusammen (siehe 4.3). Anschließend benötigen die aktivierten Acanthoren unterschiedlich lange, um sich aus ihren Eihüllen zu befreien. Je schneller die Acanthoren der unterschiedlichen Parasitenarten mit ihren apikalen Haken die inneren Eihüllen zerstören, desto schneller gelangen sie als "freie" Larven in das Darmlumen ihres Wirtes. Letztendlich dürfte die Zeit, welche die ausgeschlüpften Acanthoren benötigen, um die Darmwand zu erreichen, die größte Verantwortung für die enormen Zeitdifferenzen sowohl innerhalb einer Acanthocephalenart als auch zwischen den unterschiedlichen Acanthocephalenarten beim Erreichen des Hämocoels des Zwischenwirtes tragen. Die Darmwandpenetration selbst müsste bei allen Acanthoren derselben Art in etwa gleichlange dauern. Unterschiede in der Dauer des Penetrationsprozesses zwischen den einzelnen Acanthocephalenarten dürften mit der Dicke und dem Aufbau der Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes zusammenhängen. Sicherlich muss auch der Einfluss der Umgebungstemperatur auf die Ablaufgeschwindigkeit der einzelnen Vorgänge berücksichtigt werden.

Normalerweise beträgt die Phase als aktiver Acanthor im Entwicklungszyklus der Acanthocephalen nur wenige Tage, sie kann sich jedoch auch über 30 Tage erstrecken. Eine derartig lange Phase als Acanthor können Acanthocephalenarten, wie *M. hiurdinaceus*, *M. moniliformis*, *Mediorhynchus grandis*, *Echinorhynchus truttae* oder *P. ambiguus*, einzig aufgrund der großen Glykogenvorräte ihrer Acanthoren überstehen. Diese Glykogenvorräte dienen den Acanthoren der Acanthocephalen als Energiereservoir, da sie während ihrer gesamten Existenz keine Nährstoffe aus ihrer Umgebung aufnehmen (STARLING, 1985; TARASCHEWSKI, 2000).

**Tabelle 13:** Angaben zum Leben von Acanthoren verschiedener Acanthocephalenarten (verändert nach WILLIAMS & JONES, 1994)

<b>Art</b>	<b>Temp. (°C)</b>	<b>Schlüpfdauer (h)</b>	<b>Penetrationsdauer (h)</b>	<b>Lebensdauer des Acanthors (Tage)</b>
<i>Moniliformis dubius</i> bzw. <i>Moniliformis moniliformis</i>	21 - 23	0.5 - 6	720-840	> 35
<i>Macracanthorhynchus ingens</i> bzw. <i>M. hirudinaceus</i>	21 - 23	0.5 - 6	240 - 284	> 12
<i>Mediorhynchus grandis</i>	22	?	240 - 284	> 12
<i>Paratenuisentis ambiguus</i>	22 -25	0.5 - 6	20 - 96	1 - 14
<i>Paulisentis fractus</i>	21 - 23	?	2 - 4	1 - 7
<i>Octospinifer macilentis</i>	21	1 - 4	24	1 - 4
<i>Neoechinorhynchus saginatus</i>	25	1 - 2	36	1 - 3.5
<i>Neoechinorhynchus rutili</i>	15	6 - 12	?	1 - 6
<i>Neoechinorhynchus cristatus</i>	?	1 - 2	24 - 120	?
<i>Pallisentis nagpurensis</i>	?	8 - 12	30 - 48	?
<i>Echinorhynchus truttae</i>	17	1 - 20	11 - 20	1 - 25
<i>Echinorhynchus lageniformis</i>	23	?	48	1 - 4
<i>Leptorhynchoides thecatus</i>	25	0.75	?	1 - 2

## 4.5 Bedeutung der Cysteinproteinase Cathepsin L für die Acanthoren von *M. hirudinaceus*

Das Enzym Cathepsin L zählt zu den Cysteinproteinasen der Papainfamilie. Diese besitzen eine wesentliche Bedeutung beim Umbau zellulärer und extrazellulärer Proteine. Papain-ähnliche Cysteinproteinasen von Säugetieren spielen in vielen pathologischen Prozessen, die mit einer Gewebedestruktion verbunden sind, eine Schlüsselrolle. Cathepsin L, eine Endopeptidase, degradiert verschiedenartigste Proteine, wie Actin, Albumin, Myosin, lösliches und unlösliches Kollagen, Elastin, Fibronectin, Laminin, Proteoglycane, Zytosolproteine, extrazelluläre Matrixproteine, usw. (DOWD et al., 1994). Diese große Bandbreite an hydrolysierbaren Proteinen ist beeindruckend, insbesondere da Kollagen einen Hauptbestandteil zahlreicher Membranen darstellt (DOWD et al., 1994).

Das Eindringen von Parasitenstadien in Wirtsgewebe, z.B. die Haut, wird sehr häufig durch die Spaltung von Faserproteinen, die als Strukturmatrix eine schützende, verbindende und tragende Rolle lebender Organismen spielen, bewirkt (KIRSCHKE & BARRETT, 1987; POLZER, 1994).

Zahlreiche parasitisch lebende Protozoen und Metazoen besitzen proteolytische Enzyme, die während der Entwicklung des Parasiten lebenswichtige Funktionen erfüllen (MCKERROW, 1989; SMITH et al., 1993; DALTON et al., 1996; CHUNG et al., 1997; PIACENZA et al., 1997; KONG et al., 2000; PARK et al., 2001; DALTON et al., 2003). Die Ruhramöbe *Entamoeba histolytica* sezerniert eine Cysteinproteinase, die eventuell das Eindringen in die Darmwand des Wirtstieres ermöglicht (KEENE et al., 1986; SCHULTE et al., 1987). Der digene Trematode *Fasciola hepatica* besitzt neben einer Cathepsin L Proteinase weitere Cysteinproteinasen, die bei den Metacercarien für die Penetrationsprozesse verantwortlich sind (RUPOVA & KEILOVA, 1979; REGE et al., 1989; SMITH et al., 1993). Des Weiteren wurden histolytische Proteinase unter anderem bei L<sub>3</sub>-Larven des Nematoden *Ancylostoma caninum* (HOTEZ et al., 1985), bei *Ascaris suum* (KNOX & KENNEDY, 1988) sowie bei *Strongyloides stercoralis* (MCKERROW et al., 1990) gefunden. Eine Cathepsin B Proteinase konnte bei dem parasitischen Trematoden *Schistosoma mansoni* detektiert werden (SMITH et al., 1993). Es ist daher davon auszugehen, dass der Einsatz proteolytischer Enzyme unter Parasiten gängige Praxis ist, um in einen Wirtsorganismus schnell und effektiv einzudringen. Die Proteolyse von Wirtsgewebe kann je nach Ausstattung der Parasitenstadien entweder mit mechanischen Destruktionsprozessen einhergehen oder auch keinerlei mechanische Unterstützung erhalten.

Die Cathepsin L Proteinase scheinen relativ ähnlich gebaut zu sein, unabhängig davon, bei welcher Tierart sie vorkommen. So zeigt die Cathepsin L Proteinase des Leberegels *F. hepatica* eine Homologie von 63 % gegenüber der Cathepsin L Proteinase des Huhns, eine Homologie von 58 % gegenüber der entsprechenden Proteinase des Rinds bzw. des Menschen sowie eine Homologie von 53 % gegenüber der Cathepsin L Proteinase der Ratte bzw. des Protozoons *Trypanosoma cruzi* (SMITH et al., 1993). Daher ist es nicht verwunderlich, dass die bekannten Molekulargewichte der Cathepsin L Proteinase in einem begrenztem Rahmen zwischen 21-38 kDa schwanken. Das Molekulargewicht der Cathepsin L Proteinase von *F. hepatica* beträgt beispielsweise 27 kDa (SMITH et al., 1993; PIACENZA et al., 1997; YAMASAKI et al., 2002). Dies stimmt mit dem Molekulargewicht weiterer untersuchter Cathepsine überein (MASON et al., 1986; JOSEPH et al., 1988; YAMASAKI et al., 1989).

Die deutlichen Banden der Extrakte der infektiösen Eier von *M. hirudinaceus* auf Höhe von 37 kDa dürften von inaktiven Procathepsin L-Formen stammen. Die inaktive Procathepsin L-Form weist ein höheres Molekulargewicht auf als das aktive Cathepsin L, da aus der inaktiven Procathepsin L-Form durch spaltende Modifikationsprozesse das aktive Cathepsin L entsteht (SMITH & GOTTESMANN, 1989). Dieser Modifikationsvorgang findet nach der Aktivierung der inaktiven Acanthoren statt, so dass die aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* keinen detektierbaren Gehalt an inaktivem Procathepsin L mehr besitzen. Daher kann in den Extrakten der aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* stets eine deutliche Bande im Bereich von 26 kDa beobachtet werden. D.h., die Procathepsin L-Form wurde vollständig in die aktive Cathepsin L Proteinase umgewandelt. Dies ist logisch, da die Cathepsin L Proteinase erst nach der Acanthoraktivierung zur Darmwandpenetration benötigt wird.

Da die Acanthoren aufgrund ihrer kompakten Lagerung und der Beschaffenheit der beiden innersten Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> diese mit ihren apikalen Haken relativ rasch zerstören können, ist es unwahrscheinlich, dass die Acanthoren die Cathepsin L Proteinase zur Zerstörung der Eihüllen einsetzen. Außerdem ist von der Cathepsin L Proteinase bekannt, dass sie Immunglobuline des Wirtsorganismus binden kann und so einen Antikörperangriff auf den die Cathepsin L Proteinase sekretierenden Parasiten verhindert bzw. minimiert (CARMONA et al., 1993). Weiterhin wird vermutet, dass Cathepsin L Proteinase bei zahlreichen Parasitenarten zur invasiven Proteolyse verschiedener Gewebe Verwendung findet (DOWD et al., 1994; GELDHOF et al., 2000; KONG et al., 2000; DALTON et al., 2003). Bei der Cathepsin L Proteinase von *F. hepatica* handelt es sich beispielsweise um eine sehr stabile Proteinase, die im Gegensatz zu menschlicher Cathepsin L Proteinase über weite pH-Wertbereiche (pH 3.0-8.0) stabil ist (DALTON et al., 2003). Es wird davon ausgegangen, dass es sich bei dem Einsatz der Cathepsin L Proteinase um den bedeutendsten Invasionsmechanismus dieser Parasitenstadien handelt (KONG et al., 2000). Der Konzentrationsunterschied an Cathepsin L Proteinase zwischen den inaktiven Acanthoren und den aktivierten Acanthoren deutet darauf hin, dass die aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* die Cathepsin L Proteinase ebenfalls zur chemischen Unterstützung der mechanischen Penetrationsvorgänge einsetzen (siehe 4.5).

Es ist davon auszugehen, dass die aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* diese proteolytische Proteinase über ihre zahlreichen Krypten des fusionierten Kryptensystems sezernieren. Interessanterweise nimmt die Anzahl der Krypten bei allen drei untersuchten Acanthoren vom apikalen Pol in Richtung caudaler Pol deutlich ab (siehe Tabelle 12 auf Seite 167). Da diese Ausführgänge besonders zahlreich in unmittelbarer Nähe der apikalen Haken vorhanden sind, würde die Cathepsin L Proteinase direkt an dem ihr zugeordneten Einsatzort ausgeschüttet werden.

Bei diesen Untersuchungen bezüglich der Cathepsin L Proteinasen stellte sich heraus, dass die Cathepsin L Proteinase in Sekretgranula bzw. Sekretvesikeln der Darmepithelzellen lokalisiert ist (YAMASAKI et al., 1992; SMITH et al., 1993; DALTON et al., 2003). Auch bei *Necator americanus* konnte eine Proteasesekretion durch Exkretionssporen nachgewiesen werden (MCLAREN et al., 1974). Dies lässt darauf schließen, dass auch die Cathepsin L Proteinase von *M. hirudinaceus* in Sekretgranula bzw. Sekretvesikeln lokalisiert ist. Daher liegt die Vermutung nahe, dass die Granula bzw. Vesikel, die sich im weitverzweigten Kanal- bzw. Lakunensystem des fusionierten Kryptensystems befinden, tatsächlich Cathepsin L Proteinase enthalten. Durch Sekretion dieser enzymhaltigen Granula bzw. Vesikel über die zahlreichen Poren in der Acanthoroberfläche gelangt die Cathepsin L Proteinase vermutlich ins Darmlumen des entsprechenden Wirtstieres und beginnt den enzymatischen Abbau von dessen Darmwandepithelzellen. Damit die Darmwand eines Zwischenwirtes der Acanthocephalen an der richtigen Stelle durch die Cathepsin L Proteinase angegriffen wird, befinden sich sehr viele

---

Krypten des fusionierten Kryptensystems im Bereich des apikalen Acanthorhops bzw. in unmittelbarer Nähe zu den Acanthorhaken. Diese These muss allerdings zukünftig durch immunologische Untersuchungen verifiziert werden.

Erst durch den sekretorischen Einsatz der proteolytischen Cathepsin L Proteinase bei Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus* gelingt diesen Parasitenlarven eine schnelle und effektive Penetration der Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes. Durch diese Sekretion von Cathepsin L Proteinase durch die aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* kommt es sowohl zu einem lokalen enzymatischen Abbau von Strukturproteinen der Darmwand des entsprechenden Wirtsorganismus als auch zu einer gewissen Umgehung der Immunantwort des Wirtes. Die Degradierung verschiedener Immunglobuline durch sezernierte Proteinasen ist von zahlreichen parasitischen Larvalstadien bekannt (CHAPMAN & MITCHELL, 1982; WHITE et al., 1992).

Auch die Verteilung von Cathepsin L im Körper der adulten Stadien von *M. hirudinaceus* ist spannend und aufschlussreich. Der Gehalt von Cathepsin L ist in der Proboscis der adulten Parasiten relativ groß, während in medialer und caudaler Körperregion der Adulti deutlich geringere Mengen an Cathepsin L vorhanden sind. Dies könnte damit begründet sein, dass die Cathepsin L Proteinase die Immunabwehr des Endwirtes von *M. hirudinaceus* hemmt und den Angriff durch wirtseigene Antikörper deutlich abschwächt (SMITH et al., 1993). Daher werden Haken der Proboscis der adulten Würmer von *M. hirudinaceus*, mit denen sich die Würmer in der Darmwand ihres Endwirtes verankern, nur in abgeschwächter Form vom Immunsystem des Endwirtes angegriffen.

Aus oben genannten Gründen liegt die Vermutung nahe, dass auch die Acanthoren von anderen Acanthocephalenarten mit der Cathepsin L Proteinase ausgestattet sind, um in großer Anzahl besonders schnell und effektiv die Darmwand ihres entsprechenden Wirtstieres passieren zu können. Die Untersuchungen des Acanthors des Archiacanthocephalen auf die Ausstattung mit proteolytischer Cathepsin L Proteinase soll als Ausgangspunkt für zukünftige Untersuchungen dienen. Da die Existenz von Cathepsin L Proteinase bei einer Acanthocephalenart erstmals nachgewiesen wurde, können zukünftige Untersuchungen gezielter auf die Suche nach der generellen Existenz dieser Proteinase bei den Acanthocephala ausgerichtet werden. Diese Untersuchungen müssen jedoch im Rahmen anderer Forschungsarbeiten durchgeführt werden.

Außer der Cathepsin L Proteinase konnte bei den verschiedenen Entwicklungsstadien der Acanthocephala sowohl eine Chitinase (EDMONDS, 1966) als auch eine Reihe von Aminopeptidasen sowie eine trypsinähnliche Proteinase nachgewiesen werden (POLZER, 1994).

Da Chitin kein genereller Bestandteil der Eihülle  $E_4$  der Acanthocephala ist (TARASCHEWSKI, 2000) und auch die peritrophische Membran der Zwischenwirte nicht immer Chitin enthält (PETERS, 1992), ist die von EDMONDS (1966) detektierte Chitinase nicht generell geeignet  $E_4$  während des Schlüpfprozesses oder die peritrophische Mem-

bran während der Darmwandpenetration enzymatisch anzugreifen. Auch die von POLZER (1994) detektierten Aminopeptidasen und die trypsinähnliche Proteinase greifen kein äußerst breites Spektrum an Strukturproteinen an.

## 4.6 Parasitierung von Zwischenwirten mit Acanthocephalen

Im Allgemeinen verkraften Zwischenwirte Infektionen mit Acanthocephalen relativ gut (HYNES & NICHOLAS, 1958; SALT, 1963; ROBINSON & STRICKLAND, 1969; NICKOL & DAPPEN, 1982; DEZFULI et al., 1992; VOLKMANN & POLZER, 1994; HUYS & BODIN, 1997; PLAISTOW et al., 2001). Auch der Gammaride *G. tigrinus* wird durch eine Infektion mit dem Acanthocephalen *P. ambiguus* nicht ernsthaft geschädigt (HAMERS, 1990). Der Befall von entsprechenden Zwischenwirten mit Acanthocephalen führt jedoch oftmals zum Verlust ihrer Fortpflanzungsfähigkeit (sog. "chemische Kastration") (REINHARD, 1956). Häufig kommt es außerdem zu einer Favorisierung unparasitierter Tiere als Geschlechtspartner bzw. zu einem veränderten Reproduktionsverhalten, das auf physiologischen Veränderungen innerhalb des Wirtsorganismus beruht (HYNES, 1955; HYNES & NICHOLAS, 1963; TARASCHEWSKI, 2000).

Eine einzelne Infektion eines Zwischenwirtes mit einer Acanthocephalenart reicht aus, um vielfältige Veränderungen des Zwischenwirtes (Verhaltensänderungen, Farbveränderungen, physiologische Veränderungen, usw.) zu bewirken (BETHEL & HOLMES, 1973, 1974 & 1977; MOORE, 1984A & 1984B; NICKOL, 1985; BROWN & THOMPSON, 1986; WILSON et al., 1986; MOORE et al., 1994; FIELDING et al., 2003; KAKIZAKI et al., 2003; PERROT-MINNOT, 2004). Diese Veränderungen innerhalb des infizierten Zwischenwirtes fördern die Chancen für eine Infektion eines geeigneten Endwirtes mit der entsprechenden Acanthocephalenart deutlich. Die Bewertung der Auswirkung einer Acanthocephaleninfektion auf einen Endwirt reicht von harmlos, über klar erkennbare pathologische Veränderungen und Wachstumsstörungen, bis zum Tod (siehe 1 Einleitung: Pathogenität der Acanthocephala).

### 4.6.1 Experimentelle Parasitierungsraten von *P. americana* mit *M. moniliformis*

In den eigenen experimentellen Untersuchungen mit *M. moniliformis* und *P. americana* wurde durch das Zusammenspiel von Effekten verschiedener Ursachen ein Gesamteffekt erzielt, der zu den beobachteten unterschiedlich starken Befallsintensitäten der amerikanischen Schaben (*P. americana*) mit dem Archiacanthocephalen *M. moniliformis* geführt hat:

Jeder einzeln gehaltenen Schabe wurde die gleiche Menge an Eिसuspensionslösung zum Fressen angeboten, es konnte jedoch nicht exakt kontrolliert werden, wieviel der Eिसuspensionslösung jede Schabe tatsächlich zu sich genommen hat. Aufgrund der hochkonzentrierten Eिसuspension, die mehrmals großflächig über die angebotene Nahrung der Zwischenwirte geträufelt wurde, kann davon ausgegangen werden, dass die Zwischen-

wirte in der Regel mehr reife Eier von *M. moniliformis* oral aufnahmen als sie es in der freien Natur getan hätten. Durch optische Überprüfung der angebotenen Obststücke wurden Schaben, die keine Nahrung zu sich genommen hatten, von den Experimenten zu Beginn ausgeschlossen. Auch das Fraßverhalten der restlichen Exemplare von *P. americana* war nicht immer gleich. Es gab Schaben, die während der Infektionsphase kaum fraßen. Andere Exemplare von *P. americana* fraßen dagegen sehr viel. Dieses unterschiedliche Fraßverhalten der Versuchstiere beeinflusste die spätere Parasitierungsrate gleich zu Beginn des Laborexperimentes deutlich und limitierte die Anzahl der Acanthoren, die maximal im Darm der entsprechenden Schabe schlüpfen konnten.

Ein weiterer Grund, der die Parasitierungsrate der eingesetzten Schaben beeinflusst, liegt im Immunsystem und der damit verbundenen Immunantwort der Schaben gegen den eingesetzten Parasiten (VOLKMANN, 1991). Nachdem die Schaben die Eier von dem Archiacanthocephalen *M. moniliformis* oral aufgenommen haben, schlüpfen die Acanthoren, die durch die entscheidenden Schlüpfstimulantien aktiviert wurden, im Mitteldarm der verwendeten Exemplare von *P. americana* aus, penetrieren die Darmwand der Schabe und gelangen in das Hämocoel ihres Wirtstieres (SCHMIDT, 1985). Sobald sich die Parasitenlarven im Hämocoel des Zwischenwirtes befinden, sind die Larvalstadien für dessen Immunsystem kaum mehr angreifbar. Die Befallsintensität der Zwischenwirte ist deshalb mit von der Geschwindigkeit abhängig, mit der die geschlüpften Acanthoren die Darmwand ihres Zwischenwirtes aufspüren und penetrieren. Je länger die Acanthoren für die Penetration benötigen, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass sie von der Immunantwort des Zwischenwirtes abgetötet werden.

Bevor die geschlüpften Acanthoren die Darmwand ihres Wirtes penetrieren können, müssen die Larvalstadien der Acanthocephalen zunächst auf die Darmwand treffen. Es konnten während der transmissions- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen der Parasitenlarven jedoch keinerlei Sinnesorgane an den Untersuchungsobjekten detektiert werden. Die geschlüpften Acanthocephalenlarven dürften daher im Mitteldarm ihres Wirtstieres rein mechanisch den stereotypen Bewegungsablauf ihres Verhaltensrepertoires durchführen und hoffen, irgendwann auf die Darmwand der Schabe zu stoßen. Die Larven können dabei in keiner Weise feststellen, ob es sich tatsächlich um die Darmwand ihres Wirtes handelt. Deshalb bohren sich die geschlüpften Acanthoren mit ihrem hakenbewehrten Vorderende in jegliches Objekt hinein, das ihnen einen gewissen Widerstand entgegensetzt. Je mehr Acanthoren tatsächlich auf die Darmwand ihres Wirtes stoßen und mit der Darmwandpenetration beginnen, desto höher ist die Infektionsrate des eingesetzten Wirtes. Je nach Darminhalt der Schaben, dürfte die Zahl der Acanthoren, die die Darmwand tatsächlich erreichten, unterschiedlich gewesen sein.

Nachdem die Acanthoren die Darmwand des Mitteldarmes zum Hämocoel hin penetriert haben, fängt das Immunsystem der Schaben an, die Acanthoren durch eine primäre Abwehrreaktion zu bekämpfen. Die Acanthoren werden innerhalb kurzer Zeit durch Hämozyten abgekapselt (LACKIE & HOLT, 1988), wodurch die Eindringlinge von Sauerstoff und Nährstoffen abgeschnitten werden. Die ersten Larvalstadien der Acantho-

phalen besitzen jedoch einen sehr großen Energievorrat an Glykogen und benötigen keinen Sauerstoff, so dass diese Abwehrreaktion des Wirtes keinerlei Wirkung erzielt (ROTHERAM & CROMPTON, 1972). Durch den Penetrationsprozess der Acanthoren wird das Phenol-Oxidationssystem sowohl in den Epithelzellen des Mitteldarmgewebes als auch in den Hämozyten aktiviert (VOLKMANN, 1991). Die Aktivierung des Phenol-Oxidationssystems scheint die Hauptursache für die unterschiedliche Infektionsrate der verwendeten Exemplare von *P. americana* zu sein, da durch die entstehende Phenoloxidasase verstärkt jene Acanthoren abgetötet werden, die sich noch im Darm ihres Wirtes befinden (VOLKMANN, 1991). Da die Acanthoren die Darmwand zwischen 3 und 33 Tagen nach der Infektion der Wirtstiere penetrieren (VOLKMANN, 1991), werden nie alle geschlüpften Acanthoren durch die Phenoloxidasase abgetötet. Die Anzahl der überlebenden Acanthoren ist dabei stets unterschiedlich.

In Laborexperimenten, bei denen Schaben der Art *P. americana* eine exakt definierte Anzahl an reifen Acanthocephaleneiern oral verabreicht wurden, erzielten MOORE & CROMPTON (1993) eine durchschnittliche Wiederfindungsrate von 5.26 Prozent pro Schabe. In Laborexperimenten, bei welchen Schaben derselben Art eine beliebige Menge von Acanthocephaleneier mit ihrer Nahrung zu sich nahmen, ergab sich bei JÜRGES (1996) eine durchschnittliche Befallsintensität von 10 bzw. 4 Cystacanthen pro Schabe. Eine unterschiedliche Befallsintensität von Schaben, die auf dieselbe Art infiziert wurden, wurde von JÜRGES (1996) auf ein unterschiedliches Fraßverhalten der Versuchstiere während der Infektionsphase zurückgeführt.

Die experimentellen Versuche zur Befallsintensität von *P. americana* mit *M. moniliformis* führten zu ähnlichen Ergebnissen bezüglich der durchschnittlichen Parasitierungsrate mit Cystacanthen, wie sie auch JÜRGES (1996) dokumentiert hat. Die Schaben aus der Gruppe der "Viel-Fresser" waren durchschnittlich mit 11 Cystacanthen infiziert, die Tiere der Gruppe der "Wenig-Fresser" dagegen nur mit 3 Cystacanthen. Dies entspricht nur 29 Prozent der durchschnittlichen Befallsintensität der Gruppe der "Viel-Fresser". Auch die vereinzelte Befallsintensität von 23 bzw. 11 Cystacanthen pro Schabe entspricht in etwa der maximalen Befallsintensität von JÜRGES (1996).

Anhand dieser Ergebnisse ist erkennbar, dass die Höhe der Befallsintensität der Zwischenwirte mit der Menge der oral aufgenommenen Acanthocephaleneier in eindeutigen Zusammenhang steht. Je mehr reife Acanthocephaleneier ein Zwischenwirt frisst, desto höher ist zunächst seine Befallsintensität mit diesem Acanthocephalen. Tatsächlich wächst die Befallsintensität von *P. americana* mit *M. moniliformis* jedoch nicht beliebig stark an, sondern pendelt sich durchschnittlich bei etwa 11 Cystacanthen pro Schabe ein. Die Gründe dafür sind vielfältig. Hinzu kommt, dass sich bei einer hohen Befallsintensität eines Zwischenwirtes mit *M. moniliformis* die Überlebenswahrscheinlichkeit der einzelnen Cystacanthen stark verringert (MONKS & NICKOL, 1989).

Andererseits zeigt sich anhand der Experimente zur Befallsintensität der Schaben mit einem Acanthocephalen auch, dass selbst bei einer äußerst geringen Aufnahme von reifen Acanthocephaleneiern durch den Zwischenwirt der weitere Verlauf des Entwicklungszyklus des Acanthocephalen gesichert ist. So entwickelten sich selbst unter

ungünstigen Bedingungen immerhin noch durchschnittlich 3 infektiöse Cystacanthen pro Schabe. Damit ist im Zwischenwirt *P. americana* das Überleben der Acanthocephalenart *M. moniliformis* gesichert. *R. norvegicus*, der Endwirt des Acanthocephalen, benötigt durch den Verzehr einer größeren Anzahl von gering infizierten Schaben eine längere Zeit bis sich in seinem Darmlumen eine entsprechend große Population an adulten Parasiten von *M. moniliformis* entwickelt hat.

Außerdem ist zu bedenken, dass ein einziges weibliches Exemplar von *M. moniliformis* mehrere Monate lang täglich 5500 infektiöse Eier ausscheidet, d.h., ein einziger weiblicher Parasit scheidet in seinem gesamten Leben etwa 600.000 Acanthocephaleneier aus (ARNOLD & CROMPTON, 1987). Dabei ist zu beachten, dass Acanthocephalen im Gegensatz zu anderen Parasiten nur reife Eier ausscheiden, die für einen Zwischenwirt bereits infektiös sind. Dadurch erhalten täglich über 5000 noch ungeschlüpfte Acanthoren die potentielle Möglichkeit einen Zwischenwirt zu infizieren.

Zur Aufrechterhaltung des Parasitenzyklus im Labor wurden auf die gleiche Art und Weise weitere Infektionsversuche mit 100 Exemplaren von *P. americana* durchgeführt. Obwohl im Vorfeld sowohl der Reifegrad der Acanthocephaleneier optisch überprüft wurde als auch einige Acanthoren *in-vitro* erfolgreich zum Schlüpfen stimuliert wurden, führten diese Infektionsversuche unerklärlicherweise zu keiner einzigen Infektion einer Schabe mit der verwendeten Acanthocephalenart. Eine orale Aufnahme von Acanthocephaleneiern durch die Schaben wurde dabei sichergestellt. Möglicherweise spielen daher für die erfolgreiche Infektion der Zwischenwirte Parameter eine entscheidende Rolle, deren Einfluss auf den Erfolg einer Infektion mit Acanthocephalen bisher noch nicht entschlüsselt werden konnte.

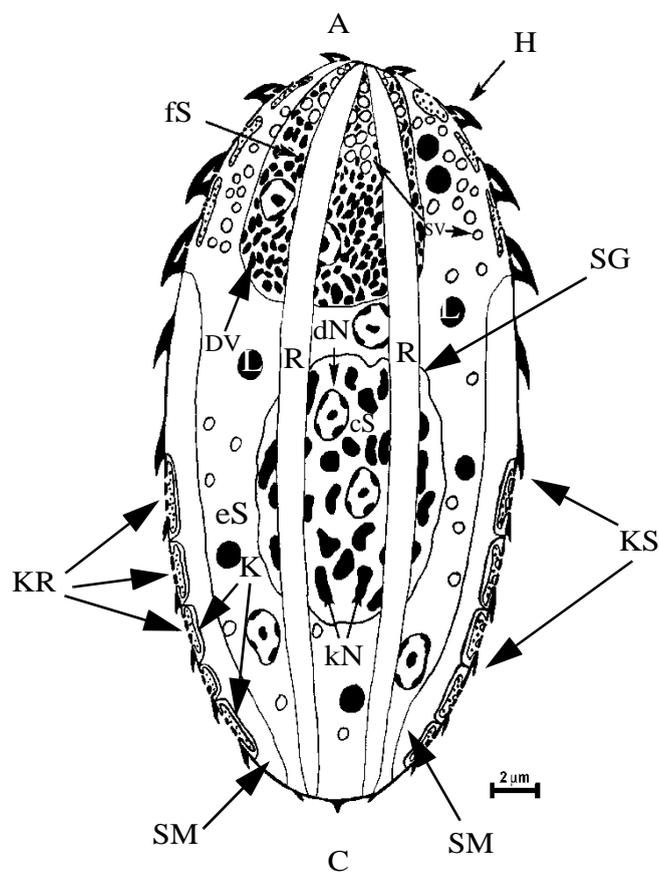
## 4.7 Die Gestalt und Morphologie der Acanthoren

Obschon der Aufbau der Eihülle von reifen Acanthocephaleneiern sowohl von Archi-, Palae- und Eoacanthocephalenarten ultrastrukturell erforscht wurde, wurde abgesehen von eigenen Untersuchungen (REITZE, 1998) einzig der Ultrastruktur von inaktiven Acanthoren Aufmerksamkeit gewidmet (ALBRECHT et al., 1997). Die aktivierten Acanthoren lassen im Gegensatz zu inaktiven Acanthoren, die noch von den Eihüllen E<sub>1</sub>-E<sub>4</sub> umgeben sind, morphologische Besonderheiten erkennen.

Der Acanthor mitsamt diesen vielfältigen morphologischen Ausstattungsmerkmalen wurde ausschließlich für die effektive Bewältigung seiner einzigen und essentiellen Aufgabe, dem Erreichen des Hämocoels seines Wirtstieres, entwickelt. Die Acanthoren der untersuchten Acanthocephalenarten können dabei auf drei verschiedene Funktionsuntereinheiten (1. Bewehrung mit Haken bzw. Körperstacheln, 2. Muskulatur, 3. fusioniertes Kryptensystem) zurückgreifen, die in einer exakt aufeinander abgestimmten Art und Weise interagieren (siehe Abbildung 121).

Die Bewehrung der Acanthoren sorgt für eine mechanische Beschädigung der Eihüllen bzw. der Darmwand eines entsprechenden Zwischenwirtes (WILLIAMS & JONES, 1994). Außerdem verhindern bzw. minimieren die in großer Anzahl vorhandenen Körperstacheln, die als eine Art Widerhaken funktionieren, ein Zurückrutschen der Acanthoren während ihrer Darmwandpassage.

Gleichzeitig sorgt das Muskelsystem der Acanthoren für eine aktive Bewegungsfähigkeit der Acanthoren und einen entsprechenden Vortrieb. Das fusionierte Kryptensystem unterstützt durch Ausscheidung von Enzymen, Sekretgranula und Schmierstoffen dabei sowohl die Zerstörungsarbeit der apikalen Haken als auch das Vorankommen der Acanthoren in der Darmwand.



**Abbildung 121** Schematische Zeichnung eines geschlüpften Acanthors des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*. (Verändert nach REITZE (1998)). A: apikal, C: caudal, cS: zentrales Syncytium, dN: dekondensierter Nucleus, DV: Dottervesikel, eS: epitheliales Syncytium, fS: frontales Syncytium, H: Haken, K: Kanal des fusionierten Kryptensystems, kN: kondensierter Nucleus, KR: Krypte, KS: Körperstachel, L: Lipidtröpfchen, R: Retraktormuskulatur, SG: Syncytiengrenze, SM: subepitheliale Muskulatur, SV: Vesikel mit elektronenlichtem Inhalt, vermutlich Mucopolysaccharide

### 4.7.1 Überblick über den geschlüpften Acanthor

Die geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis* (65 x 30 µm), *M. hirudinaceus* (90 x 50 µm) und *P. ambiguus* (37 x 12 µm) sind unterschiedlich groß, sie weisen jedoch alle eine zylindrische bzw. ovale Körperform auf (siehe Abbildung 121). Diese ovale Gestalt der Acanthoren (AMIN, 1982) ist zur Erledigung der Aufgaben der Acanthoren bestens geeignet, da die Acanthoren im Vergleich zur Körperlänge nur einen kleinen Querschnitt aufweisen. Die Acanthoren können sich aufgrund ihrer Körperform durch relativ kleine Öffnungen in der Eihülle bzw. in der Darmwand des Zwischenwirtes pressen. Während ein Teil des Acanthors die Engstelle in der Eihülle bzw. Darmwand des Zwischenwirtes passiert, schiebt bzw. zieht der Acanthor aufgrund der großen Körperlänge mit dem übrigen Körper gleichzeitig nach.

Die geschlüpften Acanthoren jeder Acanthocephalenart weisen aufgrund ihrer komprimierten Lagerung in den infektiösen Acanthocephaleneiern stets eine deutlich größere Körperlänge als die inaktiven Acanthoren auf (MERRIT & PRATT, 1964; SCHMIDT & OLSEN, 1964; SAMUEL & BULLOCK, 1981; WILLIAMS & JONES, 1994). Bei Größenangaben zu geschlüpften Acanthoren muss stets berücksichtigt werden, ob sich ein Acanthor in kontrahiertem oder elongiertem Zustand befindet (UGLEM, 1972). Jeder vollständig kontrahierte Acanthor ist unabhängig von der Acanthocephalenart aufgrund der Ausbildung zahlreicher Körperfalten deutlich kürzer als ein vollständig elongierter Acanthor. Da die Acanthoren von *P. ambiguus* bzw. *M. hirudinaceus* keine und die Acanthoren von *M. moniliformis* nur an ihrem apikalen Ende Ringmuskulatur besitzen, wirkt sich ein veränderter Muskelzustand im Gegensatz zur Körperlänge kaum auf den Durchmesser der geschlüpften Acanthoren aus.

Da der Durchmesser des apikalen Pols der Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* etwas größer ist als der Durchmesser des restlichen Körpers ist die Querung der Darmwand für die Acanthoren kein Problem mehr, sobald der Acanthor mit seinem hakenbewehrten Vorderende eine genügend große Öffnung in die Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes geschnitten bzw. "gefräst" hat. Der Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* benötigt aufgrund seines gleichmäßigen Körperdurchmessers zur Darmwandpassage im Vergleich zu den Acanthoren der beiden untersuchten Archiacanthocephalen einzig einen etwas größeren Kraftaufwand als diese.

Die Befunde von ALBRECHT et al. (1997) zur inneren Organisation der Acanthoren von *N. rutili*, *P. minutus* und *M. moniliformis* können bestätigt werden und stimmen mit der Organisation der untersuchten Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* überein.

### 4.7.2 Die apikalen Haken des Acanthors

Die Bewehrung der Acanthoren von Archi-, Palae- und Eoacanthocephalen mit charakteristisch um den apikalen Pol des einzelnen Acanthors angeordneten Reihen von mehr oder weniger großen Haken ist je nach Acanthocephalenart verschieden (KAISER, 1893;

GRABDA-KAZUBSKA, 1964; SAMUEL & BULLOCK, 1981; WILLIAMS & JONES, 1994; ALBRECHT et al., 1997; REITZE, 1998). Bei den meisten Untersuchungen wurde jedoch nur beiläufig das Vorhandensein von apikalen Haken bzw. caudalen Körperstacheln erwähnt (VAN CLEAVE, 1935; KATES, 1943; MOORE, 1946A & 1946B; VAN CLEAVE, 1947; HYNES & NICHOLAS, 1957).

Die apikalen Haken sind für den Acanthor nicht nur während des Schlüpfens oder nur während des Umherwanderns im Darmlumen eines Zwischenwirtes oder einzig während der Darmwandpassage von Bedeutung, sondern sie sind während seiner gesamten Existenz von Notwendigkeit. Ohne apikalen Haken am frontalen Pol, könnte ein Acanthor keine einzige seiner verschiedenen Aufgaben erfolgreich durchführen (siehe 4.4).

Die massiven Haken am apikalen Pol der Acanthoren sind einerseits hauptverantwortlich für die partielle Zerstörung der Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> (WILLIAMS & JONES, 1994), andererseits für die mechanische Zerstörung der Darmwand des Zwischenwirtes während der Darmwandpassage. Im Gegensatz dazu räumt der Acanthor während des Umherwanderns im Darmlumen eines Zwischenwirtes durch vollständiges und wiederholtes Ein- bzw. Ausfahren dieser spitzen Haken im Weg liegende Nahrungspartikel zur Seite und bahnt sich durch gleichzeitiges Kontrahieren bzw. Relaxieren seines Körpers einen Weg durch den zähflüssigen Nahrungsbrei. Aufgrund des geringen Widerstandes, welchen die zerkleinerten Nahrungspartikel den apikalen Haken des Acanthoren im Darmlumen entgegensetzen, erzielen die Acanthoren dabei eine deutlich geringere Vorwärtsbewegung als während der Darmwandpassage. Ohne eine derartige permanente Bewegung der apikalen Haken würde ein Acanthor nie aktiv die Darmwand des Zwischenwirtes erreichen, sondern im Nahrungsbrei des Darmlumens steckenbleiben. Einzig durch die Darmperestaltik verursachte Bewegungen des Darminhaltes könnten Acanthoren rein zufällig gegen die Darmwand des Zwischenwirtes spülen. Die Anzahl der Acanthoren, die die Darmwand des Zwischenwirtes erreichen, wäre verschwindend gering.

Die apikalen Haken sind sowohl bei den beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* als auch bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* in mehreren Reihen symmetrisch um den apikalen Pol des Acanthors angeordnet. Diese symmetrische Verteilung der Haken sorgt dafür, dass sowohl die Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> als auch der Nahrungsbrei sowie die Darmwand eines Zwischenwirtes rings um den apikalen Pol des Acanthors herum effektiv zerstört wird (siehe Abbildung 24). Die Bewehrung der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* mit vier Reihen von circular um den apikalen Pol des Acanthors angeordneten Haken entspricht dem gängigen Bewehrungsschema der Acanthoren mit vier bis sechs apikalen Hakenreihen (GRABDA-KAZUBSKA, 1964; NICHOLAS, 1973).

Auch das Vorhandensein von ein bis drei Paaren großer "zentraler Haken" ist je nach Acanthocephalenart unterschiedlich (NICHOLAS, 1973). Die Existenz von zwei "zentralen Hakenpaaren" bei den Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* ist bereits früher erwähnt worden (GRABDA-KAZUBSKA, 1964; WHITFIELD, 1971).

Besitzt der Acanthor einer Acanthocephalenart “zentrale Hakenpaare” (“central blades”), dürften diese für die größte mechanische Destruktionsleistung des Acanthors während der Querung der Darmwand eines Zwischenwirtes verantwortlich sein. Die restlichen apikalen Haken nehmen anschließend nur noch kleinere Beschädigungen der Darmwand vor. Besitzt ein Acanthor einer Acanthocephalenart keine “zentralen Hakenpaare”, z.B. der Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus*, dann sind alle apikalen Haken gleichberechtigt für die mechanische Zerstörung der Darmwand verantwortlich. Die Anordnung dieser robusten Haken “in Reihe” oder “auf Lücke” sollte bei der Darmwandzerstörung keine besondere Rolle spielen. Es ist anzunehmen, dass Acanthoren mit “auf Lücke” sitzenden apikalen Haken die Darmwand eines entsprechenden Zwischenwirtes geringfügig effektiver zerstören als Acanthoren mit “in Reihe” sitzenden apikalen Haken. Da die Acanthoren von *P. ambiguus* kein “zentrales Hakenpaar” besitzt und somit alle apikalen Haken gleichberechtigt für die mechanische Zerstörung der Darmwand eines entsprechenden Zwischenwirtes verantwortlich sind, ist die geringfügig effektivere Anordnung der apikalen Haken “auf Lücke” bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* nur konsequent.

Im Gegensatz zu den Acanthoren von *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* führt der Acanthor von *M. moniliformis* während des Kontrahierens bzw. Relaxierens mit dem Körper eine Drehbewegung durch, die sich auf die Bewegung der apikalen Haken überträgt. D.h., der Acanthor von *M. moniliformis* bohrt sich durch diese Drehbewegungen der apikalen Haken wie ein Fräskopf einer modernen Tunnelfräsmaschine durch die jeweilige Materie. Die “spirilige” Schneidbewegung der apikalen Haken des Acanthors von *M. moniliformis* ist besonders effektiv und garantiert eine besonders schnelle und breitflächige Zerstörung von Wirtsgewebe während der Darmwandpassage.

Da der Acanthor während seiner Existenz im Gegensatz zu den adulten Acanthocephalen keinerlei Nährstoffe aufnimmt und nur einen begrenzten Energievorrat an Glykogen in seinem Cytoplasma gespeichert hat (STARLING, 1985; TARASCHEWSKI, 2000), liegt es im Interesse dieser Parasitenlarve mit seinem limitiertem Energiereservoir effektiv und sparsam umzugehen. Dies dürfte auch ein Grund für die “Leichtbauweise” der apikalen Haken mit ihren cytoplasmatischen Kernbereichen darstellen. Aufgrund dieses cytoplasmatischen Kernbereichs sind die großen, apikalen Haken zwar relativ leicht, aber dennoch äußerst stabil gebaut. Die Acanthoren benötigen daher für die Durchführung von “Schneide-” bzw. “Sägebewegungen” mit den apikalen Haken im Vergleich zu Haken, die vollständig massiv aufgebaut sind, einen deutlich geringeren Kraft- bzw. Energieaufwand. D.h., die Acanthoren erzielen aufgrund dieser “Hakenleichtbauweise” mit einem minimalen Energieaufwand einen optimalen Wirkungsgrad bezüglich der mechanischen Zerstörung der Darmwand eines Zwischenwirtes.

Im Gegensatz zu ALBRECHT et al. (1997) konnte weder bei dem Acanthor von *M. moniliformis*, noch bei dem Acanthor von *M. hirudinaceus* oder gar dem Acanthor von *P. ambiguus* eindeutig belegt werden, dass die Acanthormuskulatur in den cytoplasmatischen Kernbereich der Haken des Acanthors hineinzieht. Es ist auch nicht notwendig, dass die Muskulatur in die Haken hineinzieht, um diese zu bewegen. Es ist vollkommen

ausreichend, dass die Retraktormuskulatur im Bereich des apikalen Pols bzw. der Hakenbasis am Acanthorepithel ansetzt. Sobald der Acanthor seinen apikalen Pol durch Kontraktion der Retraktormuskulatur vollständig invaginiert hat, zeigen automatisch die Spitzen aller apikalen Haken nach vorne. Durch die Evagination des Acanthorpols schnalzen die spitzen Haken heraus und klappen nach hinten um. D.h., die apikalen Haken führen Schneidebewegungen aus, ohne dass Muskulatur in ihrem Inneren insetiert.

Für eine ausreichende Stabilität sorgt eine Sklerotisierung der apikalen Haken, so dass diese selbst große mechanische Belastungen meist unbeschadet überstehen (ALBRECHT et al., 1997). In der Literatur finden sich seit langen Vermutungen, dass Chitin oder ein dem Chitin verwandtes Polysaccharid am Aufbau der Haken der adulten Acanthocephala beteiligt ist (MEYER, 1933; ANANTARAMAN & RAVINDRANATH, 1973A; VOLKMANN, 1988/1989). Die Sklerotisierung beginnt am apikalen Pol der Haken und zieht in Richtung Hakenbasis. Für eine große Stabilität der Haken sorgt weiterhin, dass die Haken an ihrem apikalen Ende massiv gebaut sind und keinerlei Ausführgänge bzw. Cytoplasma enthalten. Dennoch können diese robusten Haken, wie die eigenen Untersuchungen zeigen, bei unnatürlich starken Belastungen abbrechen.

Die Angaben von BUTTERWORTH (1969), WRIGHT & LUMSDEN (1970) und ALBRECHT et al. (1997) zur Bedeckung der apikalen Haken bzw. der Körperstacheln durch eine Plasmamembran kann durch die Untersuchungen an den Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* bestätigt werden. Diese Membran stellt keine Besonderheit der Haken dar, sondern bedeckt die gesamte Oberfläche der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus*. Aufgrund der Standardfixierung des Probenmaterials ist nicht eindeutig feststellbar, ob es sich dabei um eine trilaminare oder pentalaminare Membran handelt.

Das Vorhandensein von zahlreichen Poren eines fusionierten Kryptensystemes in unmittelbarer Nähe der apikalen Haken der Acanthoren deutet darauf hin, dass die mechanische Zerstörung des Darmwandgewebes eines Zwischenwirtes durch die apikalen Haken bei allen drei untersuchten Acanthocephalenarten zusätzlich chemisch unterstützt wird (siehe 4.5 u. 4.7.4.2).

Von zahlreichen Larvalstadien anderer Parasitenarten ist ebenfalls bekannt, dass sie Enzyme, insbesondere die Cathepsin L Proteinase, zur Unterstützung ihrer Penetrationsprozesse einsetzen (MCKERROW et al., 1985; MCKERROW et al., 1990; WHITE et al., 1992; DOWD et al., 1994; BERASAIN et al., 1997; PIACENZA et al., 1997; KONG et al., 2000; DALTON et al., 2003).

### 4.7.3 Die Körperstacheln des Acanthors

Während der apikale Pol der sogenannten Hakenlarven von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* von den spiralig angeordneten großen Haken dominiert wird, ist der restliche Körper der Acanthoren der drei untersuchten Acanthocephalenarten

---

von zahlreichen kleineren Körperstacheln übersät. Dabei ist zu beobachten, dass die Körperstacheln bei dem Acanthor von *P. ambiguus* weniger dicht stehen als bei den beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus*. Von weiteren Acanthocephalenarten ist bekannt, dass der hintere Körperleib der Hakenlarven von mehr oder weniger zahlreichen Körperstacheln bedeckt ist, deren Spitze stets nach hinten zeigt (KATES, 1943; VAN CLEAVE, 1947; DEGIUSTI, 1949; GRABDA-KAZUBSKA, 1964; SCHMIDT & OLSEN, 1964; WRIGHT & LUMSDEN, 1970; NICHOLAS, 1973; TARASCHEWSKI, 2000).

Die Körperstacheln sind bei den untersuchten Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* sehr viel zahlreicher und deutlich filigraner als die apikalen Haken. Diese kleineren Körperstacheln der Acanthoren dienen im Gegensatz zu den apikalen Haken nicht der mechanischen Beschädigung bzw. lokalen Zerstörung der Darmwand eines Zwischenwirtes. Die Körperstacheln erhöhen die Rauigkeit der Acanthoroberfläche und fungieren als eine Art Widerhaken, wobei sie fein abgestimmt mit den apikalen Haken interagieren. Sobald der apikale Pol der untersuchten Acanthoren invaginiert wird, spreizen die Acanthoren durch Kontraktion der subepithelialen Muskelstränge die unzähligen Körperstacheln weit vom Körper ab, um dadurch ein Zurückrutschen der Acanthoren während deren Passage durch die Darmwand eines Wirtstieres zu verhindern bzw. zu minimieren.

Rutscht ein Acanthor während der Darmwandpenetration zufällig in Richtung Darmlumen, stoßen zahlreiche, weit abgespreizte Körperstacheln des Acanthors nahezu simultan in das Darmwandgewebe des Wirtstieres und stoppen dadurch die Rückwärtsbewegung dieses Acanthors. D.h., je mehr Körperstacheln der Acanthor einer Acanthocephalenart besitzt, desto effektiver wird ein Zurückrutschen dieses Acanthors während der Darmwandpassage verhindert. Die Körperstacheln ermöglichen der Hakenlarve der Acanthocephalen somit erst eine zügige Durchquerung der Darmwand und eine rasche Weiterentwicklung zum Cystacanth-Stadium. Die Anordnung der Körperstacheln dürfte bei der "Antirückrutsch"-Funktion der Körperstacheln nur eine unbedeutende Rolle spielen. Acanthoren wie z.B. die von *N. rutili* und *N. cylindratus* (GRABDA-KAZUBSKA, 1964; NICHOLAS, 1973), die keine Körperstacheln besitzen, sollten für die Durchwanderung einer gleichdicken Darmwand einen längeren Zeitraum benötigen als Acanthoren, die zahlreiche Körperstacheln aufzuweisen haben. Sind die apikalen Haken in der Darmwand eines Wirtstieres fest verankert, entspannt sich die subepitheliale Muskulatur der Acanthoren und die Körperstacheln werden eng an den Körper angelegt. Die Körperstacheln stellen somit kein Hindernis beim Nachziehen des Hinterleibes dar.

Die Körperstacheln der Hakenlarven verschiedener Acanthocephalenarten weisen im Gegensatz zu den apikalen Haken in der Regel von ihrer Basis bis zu ihrer Spitze einen geradlinigen Verlauf auf, wobei sie sich von ihrer Basis in Richtung Körperstachelspitze verjüngen. Dieser geradlinige Körperstachelverlauf ist für die "Antirückrutsch"-Funktion bestens geeignet. Damit die "Spikes" der Acanthoren nicht frühzeitig in der Darmwand abbrechen, ist der apikale Teil der Körperstacheln massiv gebaut und weist

zudem eine gewisse Elastizität auf, die den Körperstacheln ein begrenzte Flexibilität verleiht. Möglicherweise sind die Körperstacheln der Acanthoren nach dem Schlüpfen noch besonders flexibel und benötigen erst einen gewissen Zeitraum, um vollständig auszuhärten.

Eine direkte Verbindung zwischen subepithelialen Muskulatur und Körperstacheln konnte bei keinem einzigen Acanthoren nachgewiesen werden. Dennoch besitzen die filigranen Körperstacheln der Acanthoren wie die apikalen Haken einen cytoplasmatischen Kernbereich. D.h., die Körperstacheln der Acanthoren werden über Kontraktionen der subepithelialen Muskulatur weit vom Körper abgespreizt, die subepithelialen Muskelstränge inserieren jedoch nicht direkt an bzw. in den Körperstacheln.

#### 4.7.4 Die innere Organisation des Acanthors

Die innere Organisation der Acanthoren der untersuchten Parasitenarten *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* stimmt mit dem Organisationsschema bisher untersuchter Acanthocephalenarten überein (ALBRECHT et al., 1997; REITZE, 1998; TARASCHEWSKI, 2000). Auch die Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* setzen sich aus drei verschiedenen Syncytien, die durch eine Syncytiengrenze voneinander getrennt sind, zusammen. Eine Einteilung der Acanthoren in nur zwei syncytiale Bereiche (BUTTERWORTH, 1969; CROMPTON & NICKOL, 1985; MEHLHORN, 1988) muss daher vehement abgelehnt werden.

Es ist anzunehmen, dass es sich bei der inneren Organisation der Acanthoren in Frontal-, Epidermal- und Zentralsyncytium um eine ideale Lösung handelt, die für alle anstehenden Aufgaben der Acanthoren bestens geeignet ist. Zudem sind in der elektronenlichten Matrix der drei unterschiedlichen Syncytien spezielle Strukturen, die verschiedene Aufgaben besitzen, eingebettet. Obwohl das medial gelegene Zentralsyncytium der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* reich an kondensierten und dekondensierten Nuclei ist, konnte keine einzige Verbindung zwischen dieser zentralen Kernmasse und der Muskulatur des Acanthors beobachtet werden. Auch bei geschlüpfen Acanthoren des Acanthocephalen *M. moniliformis* konnte kein Zusammenhang zwischen Muskulatur und zentraler Kernmasse detektiert werden, wie dies von ALBRECHT et al. (1997) beschrieben wurde. Somit war bei keinem der untersuchten Acanthoren eine Zuordnung der Nuclei zu bestimmten Muskelsträngen möglich. Daher kann die subepitheliale Muskulatur und die Retraktormuskulatur nicht eindeutig als dem Zentralsyncytium zugehörig eingeteilt werden. Im Gegensatz dazu enthält das apikal gelegene Frontalsyncytium der drei verschiedenen Acanthoren neben Lipidtropfen eine große Anzahl von Dotter-, "Schleim"- und Sekretvesikeln. Das epitheliale Syncytium bildet das Acanthorepithel aus und ist reich an elektronenlichtem Cytoplasma, in welches Glykogen, Mitochondrien sowie dekondensierte Kerne eingelagert sind. Außerdem bettet das Epidermalsyncytium die beiden

anderen Syncytien ein. Dieses epitheliale Cytoplasma wird häufig als Cortex oder parenchymatische Zone bezeichnet (AMIN, 1982; BUTTERWORTH, 1969, WHITHFIELD, 1971; CROMPTON & NICKOL, 1985).

Die Oberfläche der Acanthoren wird durch ein Epithel gebildet, das dem von ALBRECHT et al. (1997) beschriebenen Epithelaufbau der Acanthoren von *N. rutili*, *P. minutus* und *M. moniliformis* entspricht. Direkt unterhalb dieser Membran liegt bei den Acanthoren aller drei untersuchten Acanthocephalenarten eine intrasyncytiale Verdichtung, die stets aus einer elektronendichten, amorphen Matrix besteht. Eine derartige die äußere Plasmamembran unterlagernde intrasyncytiale Membran wurde bereits von Acanthoren verschiedener Acanthocephalenarten beschrieben (WHRIGHT & LUMSDEN, 1970; ALBRECHT et al., 1997).

Dieser amorphen Matrix sind bei dem Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* zahlreiche radial verlaufende Mikrotubuli eingelagert (REITZE, 1998). BYRAM & FISCHER (1973) beschrieben derartige, submembranöse Mikrotubuli ebenfalls bei dem Acanthor von *M. moniliformis*. Mikrotubuli sind bei zahlreichen Zellen am Aufbau des Cytoskelettes beteiligt (SAJONSKI & SMOLLICH, 1990) und fungieren als Stützelement innerhalb der intrasyncytialen Verdichtung. Wie auch ALBRECHT et al. (1997) vermuten, dürfte es sich deshalb bei der intrasyncytialen Verdichtung um eine Art Exoskelett handeln, das den gesamten Acanthor insbesondere während der Darmwandpassage stabilisiert.

Die Struktur und die Beschaffenheit der intrasyncytialen Verdichtung ist bei allen geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* identisch ausgebildet. Im Gegensatz zu dem Epithelverlauf der aktivierten Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* verläuft das Epithel des Acanthors von *P. ambiguus* nicht eben, sondern besitzt im Querschnitt einen regelmäßigen "zickzack-förmigen" Verlauf. D.h., die Oberfläche des Acanthors von *P. ambiguus* weist zahlreiche 0.2 µm breite Falten auf, die in Längsrichtung vom apikalen Pol des Acanthors über die gesamte Körperlänge bis zu seinem caudalen Pol verlaufen. Dieser ungewöhnliche Epithelverlauf dürfte dem Acanthor von *P. ambiguus* eine besonders große Zug- und Druckstabilität bzw. Verbiegesteifigkeit verleihen.

Möglicherweise hängt die Ausbildung einer derartigen, regelmäßig eingekerbten Oberfläche mit dem Fehlen von "zentralen Hakenpaaren" am apikalen Pol des Acanthors zusammen. Aufgrund dieses Mangels an einem oder mehreren "zentralen Hakenpaaren" dürfte der Acanthor des Eoacanthocephalen einen größeren Kraftaufwand als die mit "zentralen Hakenpaaren" bewehrten Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* benötigen, um mit den relativ kleinen Haken der apikalen Hakenreihe eine ausreichend große Öffnung in die Darmwand von *G. tigrinus* zu schneiden bzw. zu reißen. Dabei dürften wiederum größere Scher-, Zug- und Druckkräfte auf den die Darmwand penetrierenden Acanthoren einwirken, so dass dieser eine besonders große Zug- und Druckstabilität bzw. Verbiegesteifigkeit benötigt. Interessanterweise kann ein ähnlicher Epithelverlauf bei noch inaktiven Acanthoren von *P. minutus*, die ebenfalls keine "zentralen Hakenpaare" besitzen, nachgewiesen werden (TARASCHEWSKI, 1989).

Differenzierungen im Aufbau der Acanthoren, die nicht unbedingt zur Erledigung der Aufgaben des Acanthors notwendig sind, konnten nicht festgestellt werden. Das Fehlen eines Nervensystems und von Sinnesorganen (ROBINSON & STRICKLAND, 1969; AMIN, 1982; SAMUEL & BULLOCK, 1981; CROMPTON & NICKOL, 1985; ALBRECHT et al., 1997) kann durch die eigenen ultrastrukturellen Untersuchungen bestätigt werden.

Durch die Untersuchungen konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass es sich bei Acanthoren um "no feedback"-Systeme handelt. Würde es sich bei dem Acanthor um ein "feedback"-System handeln, würde dieser nicht versuchen leere Eihüllen von Acanthocephaleneiern zu penetrieren. Ein "no feedback"-System ist im Falle des Acanthors äußerst sinnvoll, da ein Acanthor die Darmwand nicht aktiv aufspüren muss. Trifft ein Acanthor im Darmlumen eines Zwischenwirtes auf einen größeren Widerstand, der sich seiner Vorwärtsbewegung entgegensetzt, handelt es sich mit großer Wahrscheinlichkeit um die Darmwand dieses Zwischenwirtes. Der Acanthor benötigt daher keine Sinnesorgane, die eventuell beschädigt werden können, um die Darmwand eines Wirtstieres zu detektieren.

#### 4.7.4.1 Die Muskulatur des Acanthors

Sowohl bei den beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* als auch bei dem Eoacanthocephalen *P. ambiguus* ist die Muskulatur der Acanthoren prinzipiell in mindestens zwei Funktionseinheiten unterteilt: die sogenannte Retraktormuskulatur und die subepitheliale Muskelstränge. Der Acanthor von *M. moniliformis* besitzt zudem noch eine dritte Funktionsuntereinheit, ein ringförmiges, apikales Muskelband (MOORE, 1946A; WHITFIELD, 1971). Dieses ringförmige Muskelband verläuft circular im Bereich der apikalen Haken des Acanthors (siehe Abbildung 41b-c, 43b-c). Es dient dazu, bei vollständig invaginiertem apikalen Pol, die Querschnittsfläche des apikalen Acanthorpols während der Darmwandpenetration zu minimieren, so dass der Acanthor die Darmwand des entsprechenden Zwischenwirtes besonders effektiv mechanisch beschädigen bzw. zerstören kann. MOORE (1946A) berichtete von einem derartigen Muskelband, welches bei dem Acanthor von *M. moniliformis* nachzuweisen WHITFIELD (1971) nicht gelang.

Ein derartiger Muskelstrang soll bei dem Acanthor von *M. hirudinaceus* ebenfalls vorhanden sein (MOORE, 1946B). Möglicherweise existiert dieser Muskelstrang bei dem Acanthor des Archiacanthocephalen *M. hirudinaceus*, obschon in den eigenen Untersuchungen des Acanthors von *M. hirudinaceus* keine ringförmig verlaufende Muskulatur festgestellt werden konnte. Bei dem Acanthor von *P. ambiguus* konnte ein derartiges ringförmiges Muskelband ebenfalls nicht nachgewiesen werden. D.h., die Acanthoren von *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* besitzen vermutlich ein Muskelsystem, das sich aus zwei unterschiedlichen Funktionsuntereinheiten (Retraktormuskulatur und subepitheliale Muskulatur) zusammensetzt, während sich das komplexere Muskelsystem des Acanthors von *M. moniliformis* aus drei verschiedenen Funktionsuntereinheiten (Retraktormuskulatur, subepitheliale Muskulatur u. ringförmiges, apikales Muskelband) zusammensetzt.

Zwischen diesen zwei bis drei funktionellen Muskeluntereinheiten des Acanthors besteht ein komplexes Wechselspiel, das bei gleichzeitigem Vortrieb die mechanische Zerstörung von Darmwandgewebe als Ziel verfolgt. Dieses exakt aufeinander abgestimmte Zusammenspiel der Muskulaturuntereinheiten führt schließlich zum stereotypen Bewegungszyklus der Acanthoren (WHITFIELD, 1971).

Während die Retraktormuskulatur durch Kontraktion die Invagination des apikalen Acanthorpol und somit auch der Haken zur Folge hat, ist die subepitheliale Muskulatur für die Kontraktion des hinteren Acanthorkörpers zuständig. Durch die Kontraktion der subepithelialen Muskulatur wird im Inneren des Acanthors ein hydrostatischer Druck erzeugt, der bei gleichzeitiger Relaxation der Retraktormuskulatur die Evagination des apikalen Pols bewirkt. Es werden dabei jene Körperpartien erweitert, die dem erzeugten Körperinnendruck den geringsten Widerstand entgegensetzen. Die Haken dringen bei diesem Vorgang in das Wirtsgewebe ein und schaffen ein Widerlager für ein weiteres Vordringen des Acanthors. Die Acanthoren ziehen bei in der Darmwand des Zwischenwirtes verankerten apikalen Haken den hinteren Körper nach und erzielen dadurch eine gewisse Vorwärtsbewegung. Diese Vorwärtsbewegung des Acanthors wird durch die intrasyncytialen Cytoplasmaströmungen unterstützt (WHITFIELD, 1971). Der apikale Ringmuskelstrang des Acanthors von *M. moniliformis* unterstützt die Retraktormuskulatur, indem er bei invaginiertem apikalen Pol durch Kontraktion die Querschnittsfläche dieses Acanthorpol minimiert. Dadurch kann der Acanthor von *M. moniliformis* seinen hakenbewehrten apikalen Scheitel bereits in sehr kleine Verletzungen einer Darmwand von *P. americana* zwingen und für den nachfolgenden Körper weiter aufreißen. Während diese Ringmuskulatur und die Retraktormuskulatur simultan kontrahieren (siehe Abbildung 43b-c), interagieren Retraktormuskulatur und subepitheliale Muskulatur antagonistisch. Die subepitheliale Muskulatur kontrahiert sich leicht zeitversetzt zur Retraktormuskulatur. Sie dient der Verankerung des Acanthors über die abgespreizten Körperstacheln, wenn der Acanthor seine Retraktormuskulatur kontrahiert und somit die Verankerung der apikalen Haken in der Darmwand eines Wirtstieres löst.

Während die Retraktormuskulatur der Acanthoren bei allen darauf bisher untersuchten Acanthocephalenarten aus zwei zentral verlaufenden Longitudinalmuskelsträngen besteht (Moore, 1946A & 1946B; SAMUEL & BULLOCK, 1981; ALBRECHT et al., 1997; TARASCHEWSKI, 2000; BUSH et al., 2001), weist die subepitheliale Muskulatur geringfügige Abweichungen in der Anzahl (10-12) der einzelnen Muskelstränge auf. Die beiden Retraktormuskelstränge inserieren stets am apikalen Pol der Acanthoren und durchziehen diese longitudinal in Richtung caudaler Acanthorpol. Mit ihrem zweiten Ende inserieren die Retraktoren lateral mehr oder weniger weit vom caudalen Acanthorpol entfernt. Während die Retraktormuskelstränge des Acanthors von *P. ambiguus* relativ nah am lateralen Acanthorepithel ansetzen, enden die Retraktoren der Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* bereits ungefähr ein Drittel der Körperlänge vom caudalen Acanthorpol entfernt. Dort inserieren die Retraktormuskeln lateral am Acanthorepithel. Am apikalen Pol des Acanthors

inserteren die Retraktoren der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* dagegen in breit aufgefächerter Form, so dass sie den apikalen Pol durch ihre großflächige Ansatzstelle auf breiter Front invaginieren können. Daher ist es für die Bewegung der apikalen Haken keineswegs notwendig, dass die Retraktormuskulatur in den cytoplasmatischen Kernbereich der einzelnen Haken hineinzieht.

Dieser unterschiedliche caudale Ansatzpunkt der schräggestreiften Retraktormuskelstränge hat keine gravierende Auswirkung auf die Acanthoren der einzelnen Acanthocephalenarten. Je näher am caudalen Pol die Retraktoren an der intrasyncytialen Verdichtung des Acanthors inserieren, desto mehr kann sich der Acanthor zusammenziehen bzw. strecken. D.h., die Acanthoren von *P. ambiguus* können ihren gesamten Körper im Vergleich zu den Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* stärker kontrahieren. Somit besitzen die apikalen Haken der Acanthoren von *P. ambiguus* im Vergleich zu den Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen, wenn sie ausgeschleudert werden, eine etwas größere kinetische Energie, die sie zur lokalen Destruktion der Darmwand von *G. tigrinus* einsetzen können.

Der Verlauf der subepithelialen Muskelstränge ist bei allen drei untersuchten Acanthocephalenarten ähnlich, wobei sich die Anzahl und Anordnung der einzelnen Muskelstränge von Art zu Art unterscheidet. Entscheidender als die Anzahl der subepithelialen Muskelstränge ist jedoch die Anordnung von diesen. Da die subepithelialen Muskelstränge nur für die Kontraktion des Hinterleibes des Acanthors zuständig sind, ziehen sie vom caudalen Acanthorpol bis zur hintersten apikalen Hakenreihe, zu der sie keinen direkten Kontakt aufweist. Dieses Fehlen von subepithelialer Muskulatur im apikalen Bereich der Acanthoren stimmt mit Beobachtungen von WHITFIELD (1971) überein, widerspricht jedoch Untersuchungen von ALBRECHT et al. (1997).

MOORE (1946A), ROBINSON & STRICKLAND (1969), WHITFIELD (1971), ALBRECHT et al. (1997) & TARASCHEWSKI (2000) berichteten von spiralig angeordneten subepithelialen Muskelsträngen bei den Acanthoren des Archiacanthocephalen *M. moniliformis*, die sich in ihrem Verlauf helixförmig um etwa 180 Grad verwinden und den Acanthoren dadurch die Durchführung einer gewissen Drehbewegung des Körpers während der Kontraktion bzw. Erschlaffung der subepithelialen Muskulatur ermöglichen. Diese Anordnung der subepithelialen Muskulatur kann durch die eigenen Untersuchungen eindeutig bestätigt werden (siehe Abbildung 57, 80a). Aufgrund dieser spiraligen Anordnung der subepithelialen Muskulatur vollführt der Acanthor während der Kontraktion bzw. Relaxation dieser Muskelbänder mit seinem gesamten Hinterleib eine Drehbewegung. Diese Drehbewegung überträgt sich auf den apikalen Pol des Acanthors, so dass dieser mit seinem hakenbesetzten Vorderende eine besonders effektive Fräsbewegung vollführt.

Im Gegensatz zu dem Archiacanthocephalen *M. moniliformis* weisen die subepithelialen Muskelbänder des Acanthors von *M. hirudinaceus* sowie von *P. ambiguus* keine spiralige Anordnung auf. Daher sollte der Acanthor von *M. moniliformis* eine gleichartige Darmwand effektiver beschädigen als die Acanthoren von *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus*, die ihre Haken geradlinig ein- und ausfahren. Dieses Ergebnis stimmt mit

der Anordnung der subepithelialen Muskulatur der Adulti von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* überein. Die Adulti dieser Acanthocephalenarten folgen dem gleichen Schema, d.h., die Adulti von *M. moniliformis* besitzen eine Spiralität im ihrem Aufbau, während die Adulti von *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* keine Spiralität aufweisen (TARASCHEWSKI, 2000).

Obwohl die Muskelstränge der Acanthoren sowohl von *M. moniliformis*, als auch von *M. hirudinaceus* sowie von *P. ambiguus* in einen peripher gelegenen kontraktile Bereich und einen proximal gelegenen cytoplasmatischen Bereich unterteilt sind, konnte im Gegensatz zu TARASCHEWSKI (1989) und ALBRECHT et al. (1997) keine Verbindung der subepithelialen Muskelstränge zur zentralen Kernmasse detektiert werden (siehe Abbildung 94, 95). Somit konnte keine Zuordnung der kondensierten Nuclei zu bestimmten subepithelialen Muskelsträngen erfolgen, wie dies von ALBRECHT et al. (1997) für die Acanthoren von *Polymorphus minutus* und *Neoechinorhynchus rutili* beschrieben wurde. Möglicherweise ist eine derartige Zuordnung von kondensierten Nuclei zu subepithelialen Muskelsträngen nur bei noch unvollständig entwickelten Acanthoren möglich, die sich in unreifen Acanthocephaleneiern befinden.

Durch die Kontraktion der subepithelialen Muskulatur kommt es bei den drei untersuchten Acanthoren an deren Hinterleib zur Ausbildung von relativ symmetrischen, tiefen Körperfalten. Diese Körperfalten können als äußerlich sichtbares Zeichen des Kontraktionszustandes der subepithelialen Muskulatur verwendet werden, da die Oberfläche der Acanthoren bei entspannter subepithelialer Muskulatur fast vollständig gespannt ist.

#### 4.7.4.2 Das fusionierte Kryptensystem des Acanthors

Wie die Oberfläche der adulten Acanthocephalen, ist die Oberfläche der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* und vieler anderer Acanthocephalenarten von unzähligen Poren, sogenannten Krypten, durchbrochen (WHRIGHT & LUMSDEN, 1970; MARCHAND, 1984B; TARASCHEWSKI, 1989; ALBRECHT et al., 1997).

Eine derartige Epidermis mit intrasyncytialer Verdichtung und zahlreichen Porenkanälen ist neben den adulten Acanthocephala von den Rotifera bekannt (AHLRICHS, 1997; HERLYN, 2000). Sie fehlt jedoch den Priapulida. Die Ausbildung dieser Porenkanäle und der intrasyncytialen Verdichtung sollte als Synapomorphie von Acanthocephala und Rotifera bewertet werden.

Diese Porenkanäle bilden bei den adulten Vertretern der Acanthocephala ein epidermales Lakunarsystem aus (KOZLOFF, 1990; LORENZEN, 1996; HERLYN, 2000), das im Vergleich zu dem fusionierten Kryptensystem der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus*, englumig gebaut ist. Diesen epidermalen Poren bzw. Krypten der adulten Acanthocephala kommt eine entscheidende Bedeutung bei der Nahrungsaufnahme der darmlosen Adulti zu, da sie die resorbierende Oberfläche der Acanthocephala enorm vergrößern (TARASCHEWSKI & MACKENSTEDT, 1991; AITZETMÜLLER et al., 1994).

Im Gegensatz zu den Poren der adulten Parasiten dienen die zahlreichen Poren bzw. Krypten des Acanthorepithels nicht der Aufnahme von Nährstoffen, sondern nach der Aktivierung der Acanthoren der Ausscheidung von unterschiedlichen Stoffwechselprodukten. D.h., die Krypten der Hakenlarve besitzen eine Sekretionsfunktion, die die mechanischen Penetrationsvorgänge des Acanthors von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* durch Sekretion von Vesikeln bzw. Granula unterschiedlicher Zusammensetzung chemisch unterstützt. Diese sekretorische Tätigkeit des fusionierten Kryptensystems dürfte bei allen Acanthocephalenarten zur Freisetzung von proteolytischen Enzymen (z.B. Cathepsin L Proteinase) und Lipidtröpfchen bzw. "Schleim"-Vesikeln führen. Es ist davon auszugehen, dass auch die Acanthoren der übrigen Acanthocephalenarten über ein gleichartiges fusioniertes Kryptensystem verfügen. Zur Klärung der generellen Zugehörigkeit eines solchen Kryptensystems zum Grundmuster des Acanthors der Acanthocephala bedarf es der Untersuchungen weiterer Acanthocephalenarten verschiedener Klassen.

Da die Acanthoren in der Regel über einen großen Vorrat an Glykogen verfügen (ALBRECHT et al., 1997; TARASCHEWSKI, 2000), erscheint es plausibel, dass die Poren des Acanthorepithels der Sekretion von Stoffwechselprodukten und nicht der Aufnahme von Nährstoffen dienen. Aufgrund ihres Glykogengehaltes verfügen die Acanthoren über ein derartig großes Energiereservoir, dass sie während ihrer Existenz keinerlei Nährstoffe von außen benötigen (STARLING, 1985). Dieser Glykogenvorrat nimmt nach der Aktivierung der Acanthoren kontinuierlich ab (CROMPTON, 1970; STARLING, 1985). Auch die bei den untersuchten Acanthoren sichtbare Abnahme der Kryptenanzahl pro  $\mu\text{m}^2$  von apikal nach caudal bzw. die Nähe der Krypten im apikalen Bereich zu den robusten Haken deutet auf eine die mechanischen Destruktionsarbeiten unterstützende sekretorische Tätigkeit der Krypten hin.

Von jeder einzelnen Pore in der Oberfläche der Acanthoren zieht ein unverzweigter Ausführgang durch die die äußere Membran unterlagernde intrasyncytiale Schicht aus amorpher Substanz radial in den Acanthor hinein und bildet unmittelbar unter der intrasyncytialen Verdichtung ein weitlumiges Lakunensystem aus. Über weitläufige Verzweigungen dieses Lakunensystems stehen die einzelnen Krypten der Acanthoren miteinander in Verbindung. Dieses vernetzte System aus Oberflächenöffnungen und subepitheliale Lakunensystem wird als fusioniertes Kryptensystem bezeichnet.

Das feinverzweigte Kanalsystem durchzieht den gesamten Acanthor unterhalb der intrasyncytialen Verdichtungsschicht und unterscheidet sich einzig durch die Anzahl der Poren pro  $\mu\text{m}^2$ . Das Lakunensystem der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* enthält in bestimmten Abständen besonders weitlumige Lakunen, die mit zahlreichen Sekretvesikeln bzw. Sekretgranula angefüllt sind und als Reservoir für diese fungieren. Die gespeicherten Vesikel bzw. Granula des Kryptensystems werden während der Darmwandpenetration aufgrund der auf den Acanthor einwirkenden Drücke über das engmaschige Kanalsystem innerhalb des Acanthors verteilt. Anschließend tritt ein Teil dieser Vesikel durch die vorhandenen Krypten der Acanthoroberfläche in das Darmlumen des entsprechenden Wirtstieres aus. Dabei

bewirken die von dem Darmwandgewebe auf den penetrierenden Acanthoren einwirkenden Drücke, dass die Sekretvesikel von dem Acanthoren exakt an jenen Körperstellen sezerniert werden, an welchen ein Gewebeabbau des Darmwandmaterials bzw. eine Schmierung des Acanthorkörpers am meisten benötigt wird. Die Vernetzung der einzelnen Krypten über ein feinmaschiges Kanalsystem sorgt für eine besonders effektive Penetration der Darmwand durch den Acanthor. Aufgrund der kompakten Lagerung der inaktiven Acanthoren in den infektiösen Acanthocephaleneiern wurde die Vernetzung der einzelnen Krypten bisher nie beobachtet (ALBRECHT et al., 1997). Einzig bei dem geschlüpften Acanthor des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* konnte die Fusion des Kryptensystems detektiert werden (REITZE, 1998). Interessanterweise stellte TARASCHEWSKI (1989) bei adulten Palaeacanthocephalen eine identische Vernetzung der Oberflächenkrypten über ein sackartiges Lakunensystem im apikalen Bereich der Würmer fest.

Bei den Stoffwechselprodukten, die über das fusionierte Kryptensystem der Acanthoren sezerniert werden, handelt es sich vermutlich um proteolytische Enzyme, wie z.B. der Cathepsin L Proteinase des Acanthors von *M. hirudinaceus*, oder um "Schmierstoffe", wie z.B. Monosaccharide bzw. Lipide (siehe 4.5). Von dem Archiacanthocephalen *M. moniliformis* ist bekannt, dass die aktivierten Acanthoren eine Chitinase ausschütten (EDMONDS, 1966). Ob die Acanthoren diese Chitinase zum Abbau der peritrophischen Membran ihres Wirtstieres oder zur Destruktion chitinhaltiger Eischalen einsetzen, ist noch umstritten (siehe 4.1.1.1).

Während die von den Acanthoren ausgeschiedenen histolytischen Enzyme der Degradation von verschiedenartigen Strukturproteinen in der Darmwand dienen dürften, fungieren die sezernierten Lipide bzw. die elektronenlichten Mucopolysaccharide sicherlich als eine Art Gleitmittel, das den Reibungswiderstand der Acanthoren während deren Darmwandpassage herabsetzt. Aufgrund dieser unterschiedlichen Wirkungen der Sekretionsprodukte wäre denkbar, dass die Acanthoren die proteolytischen Enzyme hauptsächlich aus Krypten im apikalen Bereich ihres Körpers sezernieren. Dort sind die sezernierten Enzyme sofort in unmittelbarer Hakennähe und könnten deshalb die mechanischen Destruktionsleistungen der robusten Haken optimal durch chemische Abbauvorgänge unterstützen. Die weiter caudalwärts gelegenen Krypten der Acanthoren könnten anschließend für die Sekretion von Lipiden und Mucopolysacchariden als Gleitsubstanz zuständig sein, da bereits eine ausreichende Öffnung in der Darmwand des Wirtstieres besteht. Jetzt ist für eine schnelle Passage des Acanthors durch die Darmwand einzig die Reduzierung des Gleitwiderstandes des Acanthors sinnvoll und notwendig.

Da jedoch vermutlich der gesamte Acanthor von einer Lipidschicht überzogen ist, die sich in der Regel durch die elektronenmikroskopische Probenaufbereitung vollständig auflöst, und die von den Acanthoren von *M. hirudinaceus* sezernierte Cathepsin L Proteinase die Immunantwort des Wirtstieres unterdrückt, ist es wahrscheinlicher, dass jede Krypte unabhängig von ihrer Lage sowohl proteolytische Enzyme als auch Gleitmittel sezerniert.

## 4.8 Ausblick

Diese Arbeit hat grundlegende Einblicke in die Ultrastruktur der geschlüpften Acanthoren der beiden Archiacanthocephalen *M. moniliformis* bzw. *M. hirudinaceus* sowie des Eoacanthocephalen *P. ambiguus* gewährt. Außerdem wurden interessante Details bezüglich des Eihüllenaufbaus der infektiösen Acanthocephaleneier und des unterschiedlichen Schlüpf- bzw. Penetrationsverhaltens aktivierter Acanthoren verschiedener Acanthocephalenarten erkannt. Dennoch können nicht alle bisher noch offenen Fragen zu den Eigen- bzw. Besonderheiten des ersten Larvalstadiums der Acanthocephala zur Zufriedenheit beantwortet werden. Daher sollten unbedingt noch weitere Untersuchungen an diesem invasiven Parasitenstadium durchgeführt werden, die weitere Details dieser Hakenlarve offenlegen.

Umfangreichere Experimente zum Schlüpfverhalten der Acanthoren sollten durchgeführt werden, um den Einfluss der Einwirkung der Mundwerkzeuge von entsprechenden Zwischenwirten auf das Schlüpfverhalten der Acanthoren bei weiteren Acanthocephalenarten zu bestätigen bzw. zu überprüfen. Anhand von geschlüpften Acanthoren verschiedener Archi-, Palae- und Eoacanthocephalenarten sollte versucht werden ein allgemeingültiges Schema in der Bewehrung der Parasitenlarven mit robusten Haken und filigranen Körperstacheln zu erhalten. Anschließend könnten Vergleiche mit der Bewehrung von Priapuliden bzw. Rotifera erfolgen.

Außerdem sollte der enzymatischen Ausstattung der Acanthoren verstärkt Aufmerksamkeit gewidmet werden, so dass die in dieser Arbeit bei den Acanthocephalen identifizierte Cathepsin L Proteinase das zentrale Objekt weiterer molekularbiologischer und immunologischer Studien wäre. Durch weiterführende Untersuchung von infektiösen Eiern bzw. adulten Würmern verschiedener Archi-, Palae- und Eoacanthocephalenarten sollte versucht werden Aufschluss über die generelle Ausstattung der Entwicklungsstadien der Acanthocephala mit der Cysteinproteinase Cathepsin L oder anderen proteolytischen Enzymen (Chitinasen, usw.) zu erhalten. Desweiteren sollte durch den Einsatz der sensitiven zweidimensionalen Gelelektrophorese die exakte Analyse, Identifizierung und Charakterisierung der proteolytischen Sekretionsprodukte des aktivierten Acanthors erfolgen.

Äußerst spannend wäre zudem die Erforschung der Lokalisation der proteolytischen Enzyme (Cathepsin L, usw.) innerhalb von Frontal-, Epidermal-, und Zentralsyncytium des Acanthors diverser Acanthocephalenarten durch Immunolokalisationsexperimente, um den Speicher- und Sekretionsweg der proteolytischen Enzyme identifizieren zu können.

---



## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Biologie und Morphologie des Acanthors stand im Mittelpunkt dieser Arbeit. Als Modellorganismen dienten die Archiacanthocephalen *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* sowie der Eoacanthocephale *P. ambiguus*. Bei der Erforschung des Acanthors kamen sowohl lichtmikroskopische als auch elektronenmikroskopische Methoden zur Anwendung. Des Weiteren wurden mittels SDS-Page und Western Blotting vergleichende biochemische Untersuchungen an infektiösen Eiern, aktivierten Acanthoren sowie an Adulti von *M. hirudinaceus* durchgeführt.

Es zeigte sich, dass die vier verschiedenen Eihüllen E<sub>1</sub>-E<sub>4</sub>, die die inaktiven Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* umgeben und je nach Acanthocephalenart verschiedenartig aufgebaut sind, den Acanthor effektiv schützen und ihm eine mehrmonatige Überlebensdauer ermöglichen.

Die äußerste Eihülle E<sub>1</sub>, die ein vorzeitiges Aufquellen der Eihüllen E<sub>2</sub>-E<sub>4</sub> verhindert und sich bei Archi-, Eo- und Palaeacanthocephalen vollständig von den übrigen Eihüllen ablöst, sobald die Parasiteneier ins Freie gelangen, dürfte dem Schutz des inaktiven Acanthors vor Verdauungsenzymen der Endwirte dienen.

Die zweitäußerste Eihülle E<sub>2</sub> der Archiacanthocephalen weist spezifische Adaptationen an den terrestrischen Lebensraum der adulten Acanthocephalen auf. Sowohl die Eier von *M. moniliformis* als auch von *M. hirudinaceus* besitzen einen sogenannten Schlüpfpunkt. Dieser "hatching point" der Eihülle E<sub>2</sub> ist notwendig, da die massive E<sub>2</sub> bei den Archiacanthocephalen sowohl für den mechanischen Schutz als auch den Schutz vor Dehydrierung der Acanthoren verantwortlich und E<sub>2</sub> daher besonders massiv ist. Im Gegensatz dazu weist E<sub>2</sub> der Eo- und Palaeacanthocephalen, die einen aquatischen Entwicklungszyklus besitzen, keinen Schlüpfpunkt auf. Dafür ist E<sub>2</sub> von *P. ambiguus* sowie der untersuchten Palaeacanthocephalenarten einerseits für die Verankerung der Eier an der Nahrung der Zwischenwirte als auch für einen mechanischen Schutz der ungeschlüpften Acanthoren zuständig. Diese Verankerungsfunktion konnte erstmals zweifelsfrei für Palae- und Eoacanthocephalenarten nachgewiesen werden.

Die inaktiven Acanthoren der Acanthocephalen werden durch spezifische Reize im Eiinneren aktiviert und beginnen mit der Ausführung von stereotypen Bewegungszyklen, wodurch sie die beiden inneren Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> mechanisch zerstören. Als beste Methode zur Aktivierung von Acanthoren erwies sich die Kombination einer äußeren, mechanischen Einwirkung (lokale Zerstörung der äußeren Eihülle) mit einer nachfolgenden chemischen Reizeinwirkung. Durch diese "Schlüpfstimulations-Methode" gelang es erstmals in *in-vitro*-Experimenten, sowohl die Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* als auch von *P. ambiguus* zum Schlüpfen anzuregen.

Der aktivierte Acanthor, der während seiner gesamten Existenz permanent stereotype, identisch verlaufende Bewegungszyklen durchführt, ist darauf spezialisiert seine primäre Aufgabe - das Erreichen des Hämocoels des Zwischenwirtes - effektiv zu lösen. Daher besitzt der Acanthor etliche morphologische als auch chemische charakteristischen Besonderheiten:

Die geschlüpften Acanthoren von *M. moniliformis* (65 x 30 µm), *M. hirudinaceus* (90 x 50 µm) und *P. ambiguus* (37 x 12 µm) besitzen eine ovale bis spindelförmige Gestalt und weisen einen nahezu kreisrunden Querschnitt auf. Die Bewehrung der Acanthoren besteht aus robusten Haken und filigranen Körperstacheln, die antagonistisch interagieren. Sowohl die apikalen Haken als auch die filigranen Körperstacheln, die bereits bei den inaktiven Acanthoren vollständig ausgebildet sind, sind massiv aufgebaut und üben im Gegensatz zu den Haken der Adulti keinerlei Sekretionsfunktion aus. Die spitzen Haken sind bei diesen Acanthoren stets in vier Reihen spiralg um den apikalen Acanthorpol angeordnet und dienen der mechanischen Destruktion der inneren Eihüllen E<sub>3</sub>-E<sub>4</sub> während des Schlüpfvorganges der Acanthoren bzw. der Darmwand eines Zwischenwirtes. Die Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* besitzen jeweils zwei zentrale Hakenpaare und insgesamt 87-92 Haken, die "in Reihe" sitzen. Im Gegensatz dazu besitzen die Acanthoren von *P. ambiguus* keine zentralen Hakenpaare, aber 76-80 apikale Haken, die "auf Lücke" sitzen.

Die kleineren Körperstacheln, die über den gesamten Acanthorkörper verteilt sind, üben eine "Antirückrutsch- und Verankerungsfunktion" aus und verhindern dadurch das Zurückgleiten des Acanthors während des Penetrationsprozesses. Während die Acanthoren von *P. ambiguus* 300-310 regelmäßig angeordnete Körperstacheln besitzen, weisen die Acanthoren von *M. moniliformis* und *M. hirudinaceus* 440-500 Körperstacheln auf.

Der innere Aufbau der Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* entspricht dem Organisationsschema von inaktiven Acanthoren, d.h. sie sind aus apikal gelegenem frontalem Syncytium, caudal gelegenem epidermalen Syncytium und medial gelegenem zentralem Syncytium aufgebaut.

Die Muskulatur der untersuchten Acanthoren ist bei allen drei Acanthocephalenarten in zwei Retraktormuskelstränge und zehn (*P. ambiguus*) bzw. zwölf (*M. moniliformis*, *M. hirudinaceus*) subepitheliale Muskelstränge unterteilt. Der Acanthor von *M. moniliformis* besitzt außerdem noch ein ringförmiges Muskelband, das circular im Bereich der apikalen Haken verläuft.

Während die Acanthoren von *P. ambiguus* radiärsymmetrisch aufgebaut sind, weisen die Acanthoren von *M. moniliformis* einen bilateralsymmetrischen Aufbau auf. Außerdem ist die subepitheliale Muskulatur bei den Acanthoren von *M. moniliformis* spiralg angeordnet. Die subepithelialen Muskelstränge der Acanthoren von *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* weisen dagegen nicht die geringste Spiralität in ihrer Anordnung auf, d.h., die Acanthoren folgen bezüglich der Spiralität dem Aufbauschema der adulten Parasiten.

Während die Acanthoren durch Kontraktion der beiden zentralen Retraktormuskeln ihre apikalen Haken zusammen mit ihrem apikalen Pol vollständig invaginieren können, dient die Kontraktion der subepithelialen Muskulatur dem Aufbau eines Körperinnendrucks (“Hydroskelett”). Erst das antagonistische Zusammenspiel von subepithelialer Muskulatur und Retraktormuskulatur ermöglicht dem Acanthor eine gezielte Vorwärtsbewegung. Die subepitheliale Muskulatur ist außerdem auch für die Bewegung der Körperstacheln und für die Verkürzung bzw. Relaxation des hinteren Körperbereiches des Acanthors verantwortlich.

Die enzymatische Ausstattung der Acanthoren von *M. hirudinaceus* ist zur Ausübung histolytischer Prozesse bestens geeignet. Erstmals konnte die proteolytische Cathepsin L Proteinase in verschiedenen Stadien (Eier, aktivierte Acanthoren, Adulti) eines Acanthocephalen (*M. hirudinaceus*) nachgewiesen werden. Die biochemischen Vergleichsuntersuchungen von infektiösen Eiern und aktivierten Acanthoren von *M. hirudinaceus* zeigen, dass sich die Konzentration von Cathepsin L Proteinase in den Acanthoren nach deren Aktivierung durch spezifische Schlüsselreize stark erhöht, d.h., die Cathepsin L Proteinase wird stadien- und zustandsspezifisch exprimiert. Dies lässt darauf schließen, dass die Acanthoren die Cathepsin L Proteinase zur Spaltung verschiedener Proteine des Darmwandgewebes ihres Wirtsorganismus einsetzen und den Acanthoren dadurch eine rasche Darmwandpenetration ermöglichen. Außerdem dürften die Acanthoren die Cathepsin L Proteinase während ihrer Darmwandpassage freisetzen, um die Immunantwort ihres Wirtstieres abzuschwächen und eine hohe Überlebensrate zu erzielen.

Die Cathepsin L Proteinase und “Schmierstoffe” werden vermutlich über die Krypten in der Oberfläche der Acanthoren sezerniert, da die Anzahl der Krypten pro  $\mu\text{m}^2$  bei den Acanthoren von *M. moniliformis*, *M. hirudinaceus* und *P. ambiguus* von apikal nach caudal deutlich abnimmt und besonders viele Krypten in unmittelbarer Hakennähe zu finden sind. Sowohl die Acanthoren von *M. moniliformis* als auch von *M. hirudinaceus* sowie von *P. ambiguus* besitzen ein “fusioniertes Kryptensystem”, das aus zahlreichen Poren in der Oberfläche und einem intrasyncytialen Lakunensystem besteht. Die einzelnen Krypten stehen über ein feinmaschiges Kanalsystem, das direkt unterhalb der intrasyncytialen Verdichtung verläuft, miteinander in Kontakt. Dieses Kanalsystem durchzieht den gesamten Acanthoren und hat regelmäßig sackartige, weitlumige Lakunen ausgebildet, die mit zahlreichen Sekretvesikeln bzw. Sekretgranula angefüllt sind und als Reservoir für diese fungieren. Aufgrund der auf den Acanthor einwirkenden Drücke kommt es stets an denjenigen Stellen, an denen die chemische Penetrationsunterstützung am meisten benötigen, zur Sekretionsaktivität. Abschließend wird postuliert, dass erst der kombinierte Einsatz von mechanischen (Darmwandzerstörung durch die apikalen Haken, “Antirückrutsch”-Funktion der Körperstacheln, Körperbewegungen) und chemischen Hilfsmitteln (Proteolyse des Darmwandgewebes durch sezernierte Enzyme, Abschwächung der wirtseigenen Immunantwort, Verminderung des Gleitwiderstandes) den geschlüpften Acanthoren eine derartig effektive Durchquerung der Darmwand ihres Wirtsorganismus ermöglicht.



## 6 LITERATURVERZEICHNIS

- ADAMS, A.M., MURELL, K.D. & CROSS, J.H. (1997):** Parasites of fish and risk to public health. *Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties*, 16(2), 652-660
- AHLRICH, W.H. (1997):** Epidermis ultrastructure of *Seison nebaliae* and *Seison annulatus*, and comparison of epidermal structures within the Gnathifera. *Zoomorphology*, 117, 41-48
- AITZETMÜLLER, K., TARASCHEWSKI, H., FILIPONI, C., WERNER, G. & WEBER, K. (1994):** Lipids of fish parasites and their hosts: fatty acids of phospholipids of *Paratenuisentis ambiguus* and its host eel (*Anguilla anguilla*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 109, 383-389
- ALBRECHT, H., EHLERS, U. & TARASCHEWSKI, H. (1997):** Syncytial organization of acanthors of *Polymorphus minutus* (Palaeanthocephala), *Neoechinorhynchus rutili* (Eoacanthocephala) and *Moniliformis moniliformis* (Archiacanthocephala) (Acanthocephala). *Parasitological Research*, 83, 326-338
- ALLELY, Z., MOORE, J. & GOTELLI, N.J. (1992):** *Moniliformis moniliformis* infection has no effect on some behaviours of the cockroach *Diploptera punctata*. *Journal of Parasitology*, 78, 524-526
- AL-RAWAS, A.Y., MIRZA, M.Y., SHAFIG, M.A. & AL-KINDY, L. (1977):** First finding of *Moniliformis moniliformis* (Bremser, 1811) Travassos, 1915 (Acanthocephala: Oligacanthorhynchidae) in Iraq from a human child. *Journal of Parasitology*, 63(2), 396-397
- AMIN, O.M. (1982):** Description of larval *Acanthocephalus parksidei* Amin, 1975 (Acanthocephala: Echinorhynchidae) from its isopod intermediate host. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 49, 235-245
- AMIN, O.M. (1985A):** Classification. In Crompton, D.W.T. & Nickol, B.B.: *Biology of Acanthocephala*. Cambridge University Press, Cambridge, 27-72
- AMIN, O.M. (1985 B):** The relationship between the size of some salmonid fishes and the intensity of their acanthocephalan infections. *Canadian Journal of Zoology*, 63, 924-927
- AMIN, O.M. (1987):** Key to the families and subfamilies of Acanthocephala, with the erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). *Journal of Parasitology*, 73(6), 1216-1219
- AMIN, O.M. (1998):** Marine Flora and Fauna of the Eastern United States - Acanthocephala. *NOAA Technical Report NMFS*, 135
- AMIN, O.M. & HECKMANN, R.A. (1992):** Description and pathology of *Neoechinorhynchus idahoensis* N. SP. (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in *Catostomus columbianus* from Idaho. *Journal of Parasitology*, 78(1), 34-39
- AMLACHER, E. (1986):** Taschenbuch der Fischkrankheiten. *Gustav Fischer Verlag*, Stuttgart
- ANANTARAMAN, S. & RAVINDRANATH, M.H. (1973A):** Chemical nature of the hooks of the cystacanth of *Moniliformis moniliformis*. *Acta Histochemica*, 47, 124-131
- ANANTARAMAN, S. & RAVINDRANATH, M.H. (1973B):** Histochemical characteristics of the egg envelopes of *Acanthosentis* sp.. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 48, 227-238
- ANUAR, A.K. & PARAN, T.P. (1976):** *Periplaneta americana* (L.) as intermediate host of *Moniliformis moniliformis* (Bremser) in Penang, Malaysia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 7(3), 415-416
- ARNOLD, S.E. & CROMPTON, D.W.T. (1987):** Survival of shelled acanthors of *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala) under laboratory conditions. *Journal of Helminthology*, 61, 306-310
- AWACHIE, J.B.E. (1972 A):** Experimental studies on some host-parasite relationships of the Acanthocephala. Effect of primary heavy infection and superimposed infection of *Salmo trutta* L. by *Echinorhynchus truttae* Schrank, 1788. *Acta Parasitologica Polonica*, 20(29), 375-382
- AWACHIE, J.B.E. (1972 B):** Experimental studies on some host-parasite relationships of the Acanthocephala. Effect of host size and starvation on *Echinorhynchus truttae* Schrank, 1788, in its definitive host. *Acta Parasitologica Polonica*, 20(30), 383-388
- BARGER, M.A. & NICKOL, B.B. (1998):** Structure of *Leptorhynchoides thecatus* and *Pomphorhynchus bulbocolli* (Acanthocephala) eggs in habitat partitioning and transmission. *The Journal of Parasitology*, 84(3), 534-537
- BARGER, M.A. & NICKOL, B.B. (1999):** Effects of coinfection with *Pomphorhynchus bulbocolli* on development of *Leptorhynchoides thecatus* (Acanthocephala) in amphipods (*Hyalella azteca*). *The Journal of Parasitology*, 85(1), 60-63

- BARNISH, G. & MISCH, K.A. (1987):** Unusual cases of parasitic infections in Papua New Guinea. The *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37(3), 585-587
- BARRETT, A.J. & KIRSCHKE, H. (1981):** Cathepsin B, Cathepsin H and Cathepsin L. *Methods in Enzymology*, 80, 535-561
- BARRETT, A.J., KEMBHAVI, A.A., BROWN, M.A., KIRSCHKE, H., KNIGHT, C.G., TAMAI, M. & HANADA, K. (1982):** L-trans-Epoxy succinyl-leucylamido(4-guanidino)butane (E-64) and its analogues as inhibitors of cysteine proteinases including cathepsins B, H and L. The *Biochemical Journal*, 201(1), 367-372
- BARTON, D.P. & PICHELIN, S. (1999):** *Acanthocephalus bufonis* (Acanthocephala) from *Bufo marinus* (Bufonidae: Amphibia) in Hawaii. *Parasite* 6(3), 269-272
- BATES, R.M. & KENNEDY, C.R. (1990):** Interactions between the acanthocephalans *Pomphorhynchus laevis* and *Acanthocephalus anguillae* in rainbow trout: testing an exclusion hypothesis. *Parasitology*, 100, 435-444
- BEGON, M., HARPER, J.L. & TOWNSEND, C.R. (1991):** Ökologie: Individuen, Populationen und Lebensgemeinschaften. *Birkhäuser*, Basel-Boston-Berlin
- BERASAIN, P., GONI, F., MCGONIGLE, S., DOWD, A., DALTON, J.P., FRANGIONE, B. & CARMONA, C. (1997):** Proteinases secreted by *Fasciola hepatica* degrade extracellular matrix and basement membrane components. *Journal of Parasitology*, 83(1), 1-5
- BETHEL, W.M. & HOLMES, J.C. (1973):** Altered evasive behavior and responses to light in amphipods harboring acanthocephalan cystacanths. *Journal of Parasitology*, 59(6), 945-956
- BETHEL, W.M. & HOLMES, J.C. (1974):** Correlation of development of altered evasive behavior in *Gammarus lacustris* (Amphipoda) harbouring cystacanths of *Polymorphus paradoxus* (Acanthocephala) with the infectivity to the definitive host. *Journal of Parasitology*, 60, 272-274
- BETHEL, W.M. & HOLMES, J.C. (1977):** Increased vulnerability to predation owing to altered behavior induced by larval acanthocephalans. *Canadian Journal of Zoology*, 55(1), 110-115
- BOLETTE, D.P. (1998):** Natural occurrence of *Macracanthorhynchus ingens* (Acanthocephala: Oligacanthorhynchidae) in a northern black racer, *Coluber constrictor* (Serpentes: Colubridae). *The Texas Journal of Science*, 50(1), 85-90
- BOLLACHE, L., GAMBADE, G. & CEZILLY, F. (2002):** Effects of two acanthocephalan parasites on the fecundity and pairing status of female *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of Invertebrate Pathology*, 79(2), 102-110
- BOWEN, R. C. (1967):** Defense reactions of certain spirobolid millipedes to larval *Macracanthorhynchus ingens*. *Journal of Parasitology*, 53(5), 1092-1095
- BÖCK, P. (1984):** Der Semidünnschnitt. *Bergmann Verlag*, München
- BRAND, T. VON (1940):** Further observations upon the composition of the Acanthocephala. *Journal of Parasitology*, 26, 301-307
- BRATTEY, J. (1986):** Life history and population biology of larval *Acanthocephalus lucii* (Acanthocephala: Echinorhynchidae) in the isopod *Asellus aquaticus*. *The Journal of Parasitology*, 72(5), 633-645
- BRENNAN, B.M. & CHENG, T.C. (1975):** Resistance of *Moniliformis dubius* to the defense reactions of the American Cockroach, *Periplaneta americana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 26, 65-73
- BROCKERHOFF, A.M. & SMALES, L.R. (2002):** *Proficollis novaezelandensis* n.sp. (Polymorphidae) and two other acanthocephalan parasites from shore birds (Haematopodidae and Scolopacidae) in New Zealand, with records of two species in intertidal crabs (Decapoda: Grapsidae and Ocypodidae). *Systematic Parasitology*, 52(1), 55-65
- BROWN, A.F. & THOMPSON, D.B.A. (1986):** Parasite manipulation of host behaviour: acanthocephalans and shrimps in the laboratory. *Journal of Biological Education*, 20, 121-127
- BUCKLE, A.C., KNOX, D.P. & RILEY, J. (2002):** Proteins and proteinases in the in vitro released products (IVRP) of the tissue-invasive and lung-dwelling larvae of the pentastomid *Porocephalus crotali*. *Parasitology*, 124(4), 391-399
- BULLA, G. (1990):** Ratten als Haustiere. *Gräfe & Unzer Verlag*, München
- BULLOCK, W.L. (1962):** Acanthocephalan parasites of freshwater fishes of New Hampshire. *Journal of Parasitology*, 48, 44
- BULLOCK, W.L. (1969):** Morphological features as tools and as pitfalls in acanthocephalan systematics. In: Schmidt G.D. (ed.) Problems in systematics of parasites. *University Park Press*, Baltimore, 9-45

- BULLOCK, W.L. & SAMUEL, G. (1975):** *Paratenuisentis* gen. n. for *Tanaorhamphus ambiguus* (Van Cleave, 1921, Acanthocephala) with reconsideration of the Tenuisentidae. *Journal of Parasitology*, 61, 105-109
- BURCK, H.C. (1982):** Histologische Technik. *Thieme Verlag*, Stuttgart
- BURGESS, J., MARTEN, M. & TAYLOR, R. (1990):** Mikrokosmos - Faszination mikroskopischer Strukturen. *Spektrum Verlag*, Heidelberg
- BUSH, A.O., FERNANDEZ, J.C., ESCH, G.W. & SEED, J.R. (2001):** Parasitism - The diversity and ecology of animal parasites. *Cambridge University Press*, 197-214
- BUTTERWORTH, P.E. (1969):** The development of the body wall of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) in the intermediate host *Gammarus pulex*. *Parasitology*, 59, 373-388
- BYRAM, J.E. & FISHER, F.M. (1973):** The absorptive surface of *Moniliformis dubius* (Acanthocephala). I. Fine structure. *Tissue & Cell*, 5(4), 553-579
- CARMICHAEL, L.M. & MOORE, J. (1991):** A comparison of behavioral alterations in the brown cockroach, *Periplaneta brunnea*, and the American cockroach, *Periplaneta americana*, infected with the acanthocephalan, *Moniliformis moniliformis*. *Journal of Parasitology*, 77(6), 931-936
- CARMONA, C., DOWD, A.J., SMITH, A.M. & DALTON, J.P. (1993):** Cathepsin L proteinase secreted by *Fasciola hepatica* in vitro prevents antibody-mediated eosinophil attachment to newly excysted juveniles. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 62, 9-18
- CHAPMAN C.B. & MITCHELL, G.F. (1982):** Proteolytic cleavage of immunoglobulin by enzymes released by *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology*, 11, 165-178
- CHENG, T.C. (1986):** Acanthocephala: The spiny-headed worms. In: General parasitology. *Academic Press*, Orlando, 445-463
- CHUNG, Y.B., KONG, Y., YUANG, H.J., KANG, S.Y. & CHO, S.Y. (1997):** Changes of cysteine protease activities during maturation stages of *Paragonimus westermani*. *Journal of Parasitology*, 83, 902-907
- CORNWELL, P.B. (1968):** The Cockroach. *Hutchinsons & Co. Ltd.*, London
- COUNSELMAN, K., FIELD, C., LEA, G., NICKOL, B. & NEAFIE, R. (1989):** *Moniliformis moniliformis* from a child in Florida. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 41(1), 88-90
- CROMPTON, D.W.T. (1970):** An ecological approach to acanthocephalan physiology. *Cambridge University Press*
- CROMPTON, D.W.T. (1975):** Relationships between Acanthocephala and their hosts. *Cambridge University Press*, Cambridge
- CROMPTON, D.W.T. & NICKOL, B.B. (1985):** Biology of the Acanthocephala. *Cambridge University Press*, Cambridge
- CROMPTON, D.W.T. & WHITFIELD, P.J. (1968):** The course of infection and egg production of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) in domestic ducks. *Parasitology*, 58, 231-246
- CROMPTON, D.W.T., KEYMER, A.E. & ARNOLD, S.E. (1984):** Investigation over-dispersion; *Moniliformis* (Acanthocephala) and rats. *Parasitology*, 88, 317-331
- DALTON, J.P., CLOUGH, K.A., JONES, M.K., & BRINDLEY, P.J. (1996):** Characterization of the cathepsin-like cysteine proteinases of *Schistosoma mansoni*. *Infection and Immunity*, 64, 1328-1334
- DALTON, J.P., NEILL, S.O., STACK, C., COLLINS, P., WALSH, A., SEKIYA, M., DOYLE, S., MULCAHY, G., HOYLE, D., KHAZNADJI, E., MOIRE, N., BRENNAN, G., MOUSLEY, A., KRESHCHENKO, N., MAULE, A.G. & DONNELLY, S.M. (2003):** *Fasciola hepatica* cathepsin L-like proteases: biology, function and potential in the development of first generation liver fluke vaccines. *International Journal for Parasitology*, 33(11), 1173-1181
- DANGJIN, L. (1996):** Study on a new egg count technique for *Macracanthorhynchus hirudinaceus* and *Ascaris suum*. *Veterinary Parasitology*, 61(1-2), 113-117
- DECHERT, U. (2002):** Gelelektrophoresen, in: Schimpf G. (Hrsg.) Gentechnische Methoden (Eine Sammlung von Arbeitsanleitungen für das molekularbiologische Labor). *Spektrum Akademischer Verlag, Gustav Fischer*
- DEGIUSTI, D.L. (1949):** The life cycle of *Leptorhynchoides thecatus* (Linton) - an acanthocephalan of fish. *Journal of Parasitology*, 35, 437-460
- DE-LA-MUELA, N., HERNANDES-DE-LUJAN, S. & FERRE, I. (2001):** Helminths of wild boar in Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 37(4), 840-843
- DEZFULI, B.S. (2000):** Host-parasite interface between *Asellus aquaticus* (Isopoda) and larvae of *Acanthocephalus anguillae* (Acanthocephala). *Folia Parasitologica*, 47(2), 154-156

- DEZFULI, B.S. & GIARI, L. (1999):** Amphipod intermediate host of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala), parasite of water birds, with notes on ultrastructure of host-parasite interface. *Folia Parasitologica*, 46(2), 117-122
- DEZFULI, B.S., BOSI, G. & ROSSI, R. (1992):** The ultrastructure of the capsule surrounding *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) in its intermediate host *Echinogammarus stammeri* (Amphipoda). *Parasitologia*, 34, 61-69
- DEZFULI, B.S., GIARI, L. & POULIN, R. (2000):** Species associations among larval helminths in an amphipod intermediate host. *International Journal for Parasitology*, 30(11), 1143-1146
- DORGELO, J. (1974):** Comparative ecophysiology of gammarids (Crustacea: Amphipoda) from marine, brackish and fresh-water habitats, exposed to the influence of salinity-temperature combinations, 1. Effect on survival. *Hydrobiological Bulletin*, 8(1-2), 90-108
- DOWD, A.J., SMITH, A.M., MCGONIGLE, S. & DALTON, J.P. (1994):** Purification and characterisation of a second cathepsin L proteinase secreted by the parasitic trematode *Fasciola hepatica*. *Eur. J. Biochem.*, 223, 91-98
- DUNAGAN, T.T. & MILLER, D.M. (1980):** *Macracanthorhynchus hirudinaceus* from Swine: An Eighteen-Year Record of Acanthocephala from Southern Illinois. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 47(1), 33-36
- EDMONDS, S.J., (1966):** Hatching of the eggs of *Moniliformis dubius*. *Experimental Parasitology*, 19, 216-226
- ESCH, G.W., BUSH, A.O. & AHO, J. (1990):** Parasite communities: Patterns and Processes. *Chapman & Hall*, London
- FIELDING, N.J., MACNEIL, C., DICK, J.T.A., ELWOOD, R.W., RIDDELL, G.E. & DUNN, A.M. (2003):** Effects of the acanthocephalan parasite *Echinorhynchus truttae* on the feeding ecology of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *Journal of Zoology*, 261(3), 321-325
- FLEGLER, S.L., HECKMAN, J. W. JR. & KLOMPARENS, K.L. (1995):** Elektronenmikroskopie (Grundlagen-Methoden-Anwendungen). *Spektrum Akademischer Verlag*, Heidelberg, Berlin, Oxford
- FOSTER, G.W., MAIN, M.B., KINSELLA, J.M., DIXON, L.M., TERRELL, S.P. & FORRESTER, D.J. (2003):** Parasitic helminths and arthropods of coyotes (*Canis latrans*) from Florida, U.S.A.. *Comparative Parasitology*, 70(2), 162-166
- FREEHLING, M. & MOORE, J. (1993):** Susceptibility of 13 Cockroach Species to *Moniliformis moniliformis*. *Journal of Parasitology*, 79(3), 442-444
- FRIEDRICH, B., JUNG, K., LEIN, M., TURK, I., RUDOLPH, B., HAMPEL, G, SCHNORR, D. & LOENING, S.A. (1999):** Cathepsins B, H, L and cysteine protease inhibitors in malignant prostate cell lines, primary cultured prostatic cells and prostatic tissue. *European Journal of Cancer*, 35(1), 138-144
- GELDHOF, P., CLAEREBOU, E., KNOX, D.P., JAGNEESSENS, J. & VERCRUYSE, J. (2000):** Proteinases released in vitro by the parasitic stages of the bovine abomasal nematode *Ostertagia ostertagi*. *Parasitology*, 121(6), 639-647
- GOODHEW, P.J. & HUMPHREYS, F.J. (1991):** Elektronenmikroskopie (Grundlagen und Anwendungen). *McGraw-Hill Book Company*, London
- GRABDA-KAZUBSKA, BOZENA (1964):** Observations on the armature of embryos of acanthocephalans. *Acta Parasitologica Polonica*, 12(22), 215-231
- GRASSI, B. & CALANDRUCCIO, S. (1888):** Über einen *Echinorhynchus*, welcher auch in Menschen parasitiert und dessen Zwischenwirt ein Blaps ist. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene* (abt. Originale), 3, 521-525
- GRIMSTONE, A.V., ROTHERAM, S. & SALT, G. (1967):** An electron-microscope study of capsule formation by insect blood cells. *Journal of Cell Science*, 2, 281-292
- GRUNER, H.-E., MORITZ, M. & DUNGER, W. (1993):** Lehrbuch der Speziellen Zoologie (Begründet von Alfred Kaestner), Band 1: Wirbellose Tiere. *Gustav-Fischer-Verlag*, Jena, Stuttgart, New York
- HAMERS, R. (1990):** In vitro Untersuchungen mit Acanthocephalen. Ruhr-Universität Bochum: *Diplomarbeit*
- HARMS, C.E. (1965):** The life cycle and larval development of *Octospinifer macilientis* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae). *Journal of Parasitology*, 51, 286-293
- HEHN, N., EHLERS, U. & HERLYN, H. (2001):** Ultrastructure of the acanthella of *Paratenuisentis ambiguus* (Acanthocephala). *Parasitology Research*, 87(6), 467-471
- HERLYN, H. (2000):** Zur Ultrastruktur, Morphologie und Phylogenie der Acanthocephala. Universität Göttingen. *Diplomarbeit*, Logos Verlag, Berlin

- HOBBERG, E.P. (1986):** Aspects of ecology and biogeography of Acanthocephala in Antarctic seabirds. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, 61, 199-214
- HOTEZ, P.J., TRANG, N., MCKERROW, J.H. & CERAMI, A. (1985):** Isolation and characterization of a proteolytic enzyme from the adult hookworm *Ancylostoma caninum*. *The Journal of Biological Chemistry*, 260, 7343-7348
- HYNES, H.B.N. (1955):** The reproductive cycle of some British freshwater gammaridae. *Journal of Animal Ecology*, 24, 352-387
- HYNES, H.B.N. & NICHOLAS, W.L. (1957):** The development of *Polymorphus minutus* (Goeze, 1782) (Acanthocephala) in the intermediate host. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 51, 380-391
- HYNES, H.B.N. & NICHOLAS, W.L. (1958):** The resistance of *Gammarus* spp. to infection by *Polymorphus minutus* (Goeze (1782), Acanthocephala). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 52, 376-383
- HYNES, H.B.N. & NICHOLAS, W.L. (1963):** The importance of the acanthocephalan *Polymorphus minutus* as a parasite of domestic ducks in the United Kingdom. *Journal of Helminthology*, 37, 185-198
- HUYS, R. & BODIN, P. (1997):** First record of Acanthocephala in marine copepods. *Ophelia*, 46(3): 217-231
- IKEH, E.I., ANOSIKE, J.C. & OKON, E. (1992):** Acanthocephalan infection in man in northern Nigeria. *Journal of Helminthology*, 66(3), 241-242
- ITÄMIES, J., VALTONEN, T. & FAGERHOLM, H.-P. (1980):** *Polymorphus minutus* (Acanthocephala) infestation in eiders and its role as a possible cause of death. *Annales Zoologici Fennici*, 17, 285-289
- JOHNSTON, T.H. (1942):** Australian Acanthocephala. *Transactions of the Royal Society of Australia*, 66(3), 250-254
- JOSEPH, L.J., CHANG, L.C., STAMENKOVICH, D. & SUKHATME, V.P. (1988):** Complete nucleotide and deduced amino acid sequences of human and murine preprocathepsin L. An abundant transcript induced by transformation of fibroblasts. *The Journal of Clinical Investigation*, 81(5), 1621-1629
- JÜRGES, G. (1996):** Schwermetallakkumulation in *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala) und seinem Wirt *Rattus norvegicus*. Universität Karlsruhe: *Diplomarbeit*
- KAISER, J.E. (1893):** Die Acanthocephalen und ihre Entwicklung. *Bibliographia Zoologica*, 2, 1-148
- KAKIZAKI, T., SAITO, T., OHTAKA, A. & NAGASAWA, K. (2003):** Effects of *Acanthocephalus* sp. (Acanthocephala: Echinorhynchidae) on the body size and reproduction of isopods (*Asellus hilgendorfi*). *Limnology*, 4(1), 43-46
- KATES, K.C. (1942):** Viability of eggs of the swine thorn-headed worm (*Macracanthorhynchus hirudinaceus*). *Journal of Agricultural Research*, 64, 93-100
- KATES, K.C. (1943):** Development of the swine thorn-headed worm, *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, in its intermediate host. *American Journal of Veterinary Research*, 4, 173-181
- KATES, K.C. (1944):** Some observations on experimental infections of pigs with the thorny-headed worm, *Macracanthorhynchus hirudinaceus*. *American Journal of Veterinary Research*, 5, 166-172
- KATHOON, N. & BILQEES (1991):** Classification of Acanthocephala - a review. *Proceedings of Parasitology*, 11, 22-70
- KEENE, W.E., PETIT, M.A., ALLEN, S. & MCKERROW, J.H. (1986):** The major neutral proteinase of *Entamoeba histolytica*. *Journal of Experimental Medicine*, 163, 536-549
- KENNEDY, C.R. & HOLMES, J.C. (1995):** Parasitism and biodiversity: a parasitised ecosystem is a healthy one? *Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology*, 5, 24
- KING, D. & ROBINSON, E. (1967):** Aspects of the development of *Moniliformis dubius*. *Journal of Parasitology*, 53(1), 142-149
- KIRSCHKE, H. & BARRETT, A.J. (1987):** Chemistry of Lysosomal Proteases. In: Lysosomes their Role in Protein Breakdown (Glaumann, H. & Ballard, F.J. eds.). *Acad. Press*, 193-238
- KNOFF, M., CLEMENTE, SCD, PINTO, R.M. & GOMES, D.C. (2001):** Digenea and Acanthocephala of elasmobranch fishes from southern coast of Brazil. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(8), 1095-1101
- KNOX, D.P. & KENNEDY, M.W. (1988):** Proteinases released by the parasitic larval stages of *Ascaris suum*, and their inhibition by antibody. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 28, 207-216
- KOHMANN, F. & SCHMEDTJE, U. (1992):** Bestimmungsschlüssel für die Saprobien-DIN-Arten (Makroorganismen). *Bayrisches Landesamt für Wasserwirtschaft*, München, 83-92
- KOLB, G.M.H. (1991):** Vergleichende Histologie (Cytologie und Mikroanatomie der Tiere). *Springer Verlag*, Berlin, Heidelberg, New York

- KONG, Y., YUN, D.H., CHO, S.Y., SOHN, W.M., CHUNG, Y.B. & KANG, S.Y. (2000):** Differential expression of the 27 kDa cathepsin L-like cysteine protease in developmental stages of *Spirometra erinacei*. *The Korean Journal of Parasitology*, 38(3), 195-199
- KOZLOFF, E.N. (1990):** Invertebrates. 9. Some Pseudocoelomate Phyla: Nematoda, Nematomorpha and Acanthocephala. *Saunders College Publishing*, Orlando, 221-246
- LACKIE, J.M. (1972):** The course of infection and growth of *Moniliformis dubius* (Acanthocephala) in the intermediate host *Periplaneta americana*. *Parasitology*, 64, 95-106
- LACKIE, A.M. & HOLT, R.H.F. (1988):** Immunosuppression by larvae of *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala) in their cockroach host (*Periplaneta americana*). *Parasitology*, 98, 307-314
- LANGE, R.H. & BLÖDORN, J. (1981):** Das Elektronenmikroskop TEM+REM (Leitfaden für Biologen und Mediziner). *Thieme Verlag*, Stuttgart, New York
- LEHNINGER, A.L. (1977):** Biochemie. *Verlag Chemie*, Weinheim, New York
- LEVRI, E.P. & COPPOLA, B.P. (2004):** First report of the acanthocephalan *Plagiorhynchus cylindraceus* in the terrestrial isopod *Porcellio scaber*. *Comparative Parasitology*, 71(1), 90-91
- LIAT, L.B. & PIKE, A.W. (1980):** The incidence and distribution of *Proficollis botulus* (Acanthocephala), in the eider duck, *Somateria mollissima*, and in its intermediate host the shore crab, *Carcinus maenas*, in north east Scotland. *Journal of Zoology*, 190, 39-51
- LIBERSAT, F. & MOORE, J. (2000):** The parasite *Moniliformis moniliformis* alters the escape responses of its cockroach host *Periplaneta americana*. *Journal of Insect Behaviour*, 13(1), 103-110
- LORENZEN, S. (1985):** Cladus: Nematelminthes = Aschelminthes (Coelomata incertae sedis), Rundwürmer. In: Siewing, R. (Hrsg.): *Lehrbuch der Zoologie*, Band 2, Systematik. *Fischer Verlag*, Stuttgart, New York, 217-257
- LORENZEN, S. (1996):** Acanthocephala, Kratzer. In: Westheide, W. & Rieger, R.: *Spezielle Zoologie I: Einzeller und wirbellose Tiere*. *Gustav Fischer Verlag*, 723-728
- MARCHAND, B. (1984A):** A comparative ultrastructural study of the shell surrounding the mature acanthor larvae of 13 acanthocephalan species. *Journal of Parasitology*, 70(6), 886-901
- MARCHAND, B. (1984B):** The elaboration of the acanthor shell of *Acanthosentis acanthuri* (Acanthocephala). *Journal of Parasitology*, 70(5), 712-718
- MASON, R.W., WALKER, J.E. & NORTHROP, F.D. (1986):** The N-terminal amino acid sequences of the heavy and light chains of human cathepsin L. *The Biochemical Journal*, 240, 373-377
- MASON, R.W., JOHNSON, D.A., BARRETT, A.J. & CHAPMAN, H.A. (1986):** Elastinolytic activity of human cathepsin L. *The Biochemical Journal*, 233(3), 925-927
- MAYNARD, B.J., WELLNITZ, T.A., ZANINI, N., WRIGHT, W.G. & DEZFULI, B.S. (1998):** Parasite-altered behavior in a crustacean intermediate host: field and laboratory studies. *Journal of Parasitology*, 84(6), 1102-1106
- MCKERROW, J.H. (1989):** Parasite proteases. *Experimental Parasitology*, 68, 111-115
- MCKERROW, J.H., JONES, P., SAGE, H. & PINO-HEISS, S. (1985):** Proteinases from invasive larvae of the trematode parasite *Schistosoma mansoni* degrade connective-tissue and basement-membrane macromolecules. *Biochem. J.*, 231, 47-51
- MCKERROW, J.H., BRINDLEY, P., BROWN, M. GAM, A.A., STAUNTON, C. & NEVA, F.A. (1990):** *Strongyloides stercoralis*: identification of a protease that facilitates penetration of skin by the infective larvae. *Experimental Parasitology*, 70(2), 134-143
- MCLAREN, D.J., BURT, J.S. & OGLVIE, B.M. (1974):** The anterior glands of *Necator americanus* (Nematoda: Strongyloidea). II. Cytochemical and functional studies. *International Journal for Parasitology*, 4, 39-46
- MEHLHORN, H. (E.) (1988):** Parasitology in focus: facts and trends. *Springer*, Berlin, Heidelberg, New York
- MEHLHORN, H. & PIEKARSKI, G. (1998):** Grundriß der Parasitenkunde. *Gustav Fischer Verlag*, Stuttgart, Jena, 244-250
- MEHLHORN, H., DÜWEL, D. & RAETHER, W. (1993):** Diagnose und Therapie der Parasiten der Haus-, Nutz- und Heimtiere. *Fischer Verlag*, Stuttgart, New York
- MERRIT, S.V. & PRATT, I. (1964):** The life history of *Neoechinorhynchus rutili* and its development in the intermediate host (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae). *The Journal of Parasitology*, 50(3), 394-400
- MEYER, A. (1931):** Infektion, Entwicklung und Wachstum des Riesenkratzers (*Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Pall.)) im Zwischenwirt. *Zoologischer Anzeiger*, 93, 163-172

- MEYER, A. (1933):** Acanthocephala. In: Bronn (Hg) Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. *Akademische Verlagsgesellschaft*, Leipzig
- MILLER, M.A. (1943):** Studies on the developmental stages and glycogen metabolism of *Macracanthorhynchus hirudinaceus* in the Japanese beetle larva. *Journal of Morphology*, 73, 19-42
- MILLER, D.M. & DUNAGAN, T.T. (1985):** Functional morphology. In: Biology of the Acanthocephala (ed. Crompton, D.W.T. & Nickol, B.B.). *Cambridge University Press*, Cambridge, 73-123
- MOCZON, T. (1994):** A cysteine proteinase in the cercariae of *Diplostomum pseudospathaceum* (Trematoda, Diplostomatidae). *Parasitology Research*, 80(8), 680-683
- MOCZON, T. (1996):** A serine proteinase in the penetration glands of the hexacanth of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda, Cyclophyllidae). *Parasitology Research*, 82(1), 67-71
- MONKS, S. & NICKOL, B.B. (1989):** Effect of *Moniliformis moniliformis* density on distribution within the definitive host population (*Rattus norvegicus*). *International Journal of Parasitology*, 19(8), 865-874
- MONNE, L. & HÖNIG, G. (1954):** On the embryonic envelopes of *Polymorphus botulus* and *Polymorphus minutus* (Acanthocephala). *Archiv für Zoologie*, 7, 257-260
- MOORE, D.V. (1946A):** Studies on the life history and development of *Moniliformis dubius* Meyer, 1933. *Journal of Parasitology*, 32, 257-271
- MOORE, D.V. (1946B):** Studies on the life history and development of *Macracanthorhynchus ingens* Meyer, 1933, with a redescription of the adult worm. *Journal of Parasitology*, 32, 387-399
- MOORE, J. (1970):** Epizootic of acanthocephaliasis among primates. *J. A. V. M. A.*, 157(5), 699-705
- MOORE, J. (1984A):** Altered behavioral responses in intermediate hosts - an acanthocephalan parasite strategy. *American Naturalist*, 123, 572-577
- MOORE, J. (1984B):** Parasites that change the behavior of their host. *Scientific American*, 250, 108-115
- MOORE, J. & CROMPTON, D.W.T. (1993):** A quantitative study of the susceptibility of cockroach species to *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala). *Parasitology*, 107, 63-69
- MOORE, J.G., FRY, G.F. & ENGLERT, E.JR. (1969):** Thorny headed worm infection in North American prehistoric man. *Science*, 163, 1324-1325
- MOORE, J., FREEHLING, M. & NICHOLAS, J.G. (1994):** Altered behavior in two species of blattid cockroaches infected with *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala). *Journal of Parasitology*, 80(2), 220-223
- MORAVEC, F., NIE, P. & WANG, G. (2003):** Observations on some acanthocephalans of fishes from Hubei Province, central China. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, 67(3), 213-224
- NELSON, M.J. & NICKOL, B.B. (1986):** Survival of *Macracanthorhynchus ingens* in swine and histopathology of infection in swine and racoons. *Journal of Parasitology*, 72(2), 306-314
- NICHOLAS, W.L. (1973):** The Biology of the Acanthocephala. *Advances in Parasitology*, 11, 205-236
- NICHOLAS, W.L. & HYNES, H.B.N. (1958):** Studies on *Polymorphus minutus* (Goeze, 1782) (Acanthocephala) as a parasite of the domestic duck. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 36-47
- NICKOL, B. (1985):** Epizootiology. In: Crompton, D.W.T. & Nickol, B. (Hrsg.) Biology of the Acanthocephala. *Cambridge University Press*, Cambridge, 307-346
- NICKOL, B.B. & DAPPEN, G.E. (1982):**  
*Armadillidium vulgare* (Isopoda) as an intermediate host of *Plagiorhynchus cylindraceus* (Acanthocephala) and isopod response to infection. *Journal of Parasitology*, 68(4), 570-575
- NICKOL, B.B., HEARD, R.W. & SMITH, N.F. (2002):** Acanthocephalans from crabs in the southeastern U.S., with the first intermediate hosts known for *Arhythmorhynchus frassoni* and *Hexaglandula corynosoma*. *Journal of Parasitology*, 88(1), 79-83
- OETINGER, D.F. & NICKOL, B.B. (1974):** A possible function of the fibrillar coat in *Acanthocephalus jacksoni* eggs. *Journal of Parasitology*, 60, 1055-1056
- OETINGER, D.F. & NICKOL, B.B. (1982):** Developmental relationships between Acanthocephalans and altered pigmentation in freshwater isopods. *Journal of Parasitology*, 68(3), 463-469
- PARK, S.Y., LEE, K.H., HWANG, Y.B., KIM, K.Y., PARK, S.K., HWANG, H.A., SAKANARI, J.A., HONG, K.M., KIM, S.I. & PARK, H. (2001):** Characterization and large-scale expression of the recombinant cyteine proteinase from adult *Clonorchis sinensis*. *Journal of Parasitology*, 87, 1454-1458

- PERROT-MINNOT, M. (2004):** Larval morphology, genetic divergence and contrasting levels of host manipulation between forms of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala). *International Journal for Parasitology*, 34(1), 45-54
- PETERS, W. (1992):** Peritrophic Membranes. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg
- PETERS, W., TARASCHEWSKI, H. & LATKA, I. (1991):** Comparative investigations of the morphology and chemical composition of the eggshells of Acanthocephala, 1. *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Archiacanthocephala). *Parasitology Research*, 77, 542-547
- PIACENZA, L., ACOSTA, D., DOWD, A., MCGONICLE, S., DALTON, J. & CARMONA, C. (1997):** Proteinases secreted by *Fasciola hepatica*: time course of the inhibitory effect of serum from experimentally infected rabbits demonstrated by gelatine-substrate polyacrylamide gel electrophoresis. *Journal of Helminthology*, 71, 333-338
- PINKSTER, S., SMIT, H. & BRANDSE-DE JONG, N. (1977):** The introduction of the alien amphipod *Gammarus tigrinus* Sexton, 1939, in the Netherlands and its competition with indigenous species. *Crustaceana (International Journal of Crustacean Research)*, 4, 91-105
- PLAISTOW, S.J., TROUSSARD, J.-P. & CÉZILLY, F. (2001):** The effect of the acanthocephalan parasite *Pomphorhynchus laevis* on the lipid and glycogen content of its intermediate host *Gammarus pulex*. *International Journal for Parasitology*, 31, 346-351
- PLATTNER, H. & ZINGSHEIM, H.P. (1987):** Elektronenmikroskopische Methodik in der Zell- und Molekularbiologie (Ein kritischer Leitfaden zur biologischen Ultrastrukturforschung für Biologen und Mediziner). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York
- POLZER, M. (1994):** Identifizierung und Charakterisierung der proteolytischen Enzyme verschiedener Helminthen von Fischen. Ruhr-Universität Bochum, *Dissertation*
- POULIN, R., WISE, M. & MOORE, J. (2003):** A comparative analysis of adult body size and its correlates in acanthocephalan parasites. *International Journal for Parasitology*, 33(8), 799-805
- RADOMYOS, P., CHOBCHUANCHOM, A. & TUNGTRONGCHITR, A. (1989):** Intestinal perforation due to *Macracanthorhynchus hirudinaceus* infection in Thailand. *Tropical Medicine and Parasitology*, 40, 476-477
- RAYMOND, S. & WEINTRAUB, L. (1959):** Acrylamide gel as a supporting medium for zone electrophoresis. *Science*, 130, 711
- REICHENBACH-KLINKE, H.H. (1980):** Krankheiten und Schädigungen der Fische. Fischer Verlag, Stuttgart
- REGE, A.A., HERRERA, P.R., LOPEZ, M. & DRESDEN, M.H. (1989):** Isolation and characterization of a cyteine proteinase from *Fasciola hepatica* adult worms. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 35, 89-96
- REINHARD, E.G. (1956):** Parasitological reviews - Parasitic Castration of Crustacea. *Parasitology*, 5, 79-107
- REITZE, F. (1998):** Morphologie und Ultrastruktur des Acanthors von *Paratenuisentis ambiguus*. Universität Karlsruhe: *Diplomarbeit*
- REYNOLDS, E.S. (1963):** The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *Journal of Cell Biology*, 17, 208-212
- RIEDER, N. & SCHMIDT, K. (1987):** Morphologische Arbeitsmethoden in der Biologie. VCH Verlag, Weinheim
- ROBENEK, H. (1995):** Mikroskopie in Forschung und Praxis. GIT Verlag, Darmstadt
- ROBINSON, E.S. & STRICKLAND, B.C. (1969):** Cellular Responses of *Periplaneta americana* to Acanthocephalan Larvae. *Experimental Parasitology*, 26, 384-392
- ROBINSON, D.G., EHLERS, U., HERKEN, R., HERRMANN, B., MAYER, F. & SCHÜRMMANN, F.W. (1985):** Präparationsmethodik in der Elektronenmikroskopie (Eine Einführung für Biologen und Mediziner). Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo
- ROGERS, W.P. (1958):** Physiology of the hatching of eggs of *Ascaris lumbricoides*. *Nature*, 181, 1410-1411
- ROGERS, W.P. (1960):** The physiology of infective processes of nematode parasites: the stimulus from the animal host. *Proceedings of the Royal Society*, 152, 367-386
- ROGERS, W.P. (1961):** The physiology of hatching of eggs of *Ascaridia galli*. *Journal of Helminthology*, R.T. Leiper Supplement, 151-156
- ROSE, C.J. (1981):** Preliminary observations on the performance of village pigs (*Sus scrofa papuensis*) under intensive outdoor management. Part II: Feed conversion efficiency, carcass composition and gastro-intestinal parasites. *Science in New Guinea*, 8, 156-163
- ROTHERAM, S. & CROMPTON, D.W.T. (1972):** Observations on the early relationship between *Moniliformis dubius* (Acanthocephala) and the haemocytes of the intermediate host, *Periplaneta americana*. *Parasitology*, 64, 15-21

- ROYAL, L., DAILEY, M., DEMAREE, R. & SAKANARI, J. (2004): Acanthocephala cystacanth infections in sand crabs from Bodega Bay, California. *California Fish & Game*, 90(1), 36-41
- RUOFF, K. (1968): Experimentelle Untersuchungen über den in die Weser eingebürgerten amerikanischen Bachflohkrebs *Gammarus tigrinus* Sexton, *Archiv für Fischereiwissenschaft*, 134-158
- RUPOVA, L. & KEILOVA H. (1979): Isolation and some properties of an acid protease from *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 61, 83-91
- RYDLO, M. (1975): Pathogenität und Übertragungsmöglichkeiten fischpathogener Kratzer. In: Die Bedeutung der Parasiten für die Produktion von Süßwasserfischen. *Fisch und Umwelt*, 1, 105-112
- SAJONSKI, H. & SMOLLIICH, A. (1990): Zelle und Gewebe (Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler). *Hirzel Verlag, Leipzig*
- SALT, G. (1963): The defense reaction of insects to metazoan parasites. *Parasitology*, 53, 527-642
- SAMUEL, G. & BULLOCK, W.C. (1981): Life Cycle of *Paratenuisentis ambiguus* (Van Cleave 1921) Bullock and Samuel, 1975 (Acanthocephala: Tenuisentidae). *Parasitology*, 67(2), 214-217
- SASAL, P., FALIEIX, E., DE BURON, I. & MORAND, S. (2001): Sex discriminatory effect of the acanthocephalan *Acanthocephaloides propinquus* on a gobiid fish *Gobius bucchichii*. *Parasite*, 8(3), 231-236
- SCHÄPERCLAUS, W. (1979): Fischkrankheiten (2. Teil). *Akademi-Verlag*, 4. bearbeitete und wesentlich erweiterte Auflage, Berlin, 722-732
- SCHMIDT, G.D. (1971): Acanthocephalan infections of man, with two new records. *Journal of Parasitology*, 57(3), 582-584
- SCHMIDT, G.D. (1985): Development and life cycles. In: Crompton, D.W.T. & Nickol, B. (Hrsg.) *Biology of the Acanthocephala*. Cambridge University Press, Cambridge, 273-286
- SCHMIDT, G.D. & OLSEN, O.W. (1964): Life cycle and development of *Prosthorhynchus formosus* (Van Cleave, 1918) Travassos, 1926, an acanthocephalan parasite of birds. *Journal of Parasitology*, 721-730
- SCHMIDT, G.D. & ROBERTS, L.S. (1981): Foundations of Parastiology, *The C.V. Mosby Company*
- SCHMITZ, W. (1960): Die Einbürgerung von *Gammarus tigrinus* Sexton auf dem europäischen Kontinent. *Archiv für Hydrobiologie*, 57, 223-225
- SCHULTE, W., SCHOLZE, H. & WERRIES, E. (1987): Specificity of a cysteine proteinase of *Entamoeba histolytica* towards the  $\alpha 1$ -CB2 peptide of bovine collagen type I. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 25, 39-43
- SHARPILO, V.P., BISERKOV, V., KOSTADINOVA, A., BEHNKE, J.M. & KUZMIN, Y.I. (2001): Helminths of the sand lizard, *Lacerta agilis* (Reptilia), Lacertidae, in the Palaearctic: Faunal diversity and spatial patterns of variation in the composition and structure of component communities. *Parasitology*, 123(4), 389-400
- SHIN, K.S. (1986): Contribution of the body fluid to egg envelope formation in *Echinorhynchus truttae* Schrank (Acanthocephalan). *Journal of Electron Microscope*, 35(3), 227-236
- SINGLETON, J., RICHARDSON, D.J., LOCKHARDT, J.M. (1993): Severe Moniliformiasis (Acanthocephala, Moniliformidae) in a Gray Squirrel, *Sciurus carolinensis*, from Arkansas, USA. *Journal of Wildlife Disease*, 29(1), 165-168
- SINISALO, T. & VALTONEN, E.T. (2003): Corynosoma acanthocephalans in their paratenic fish hosts in the northern Baltic Sea. *Parasite*, 10(3), 227-233
- SMALES, L.R. (2002): Plagiorhynchidae Meyer, 1931 (Acanthocephala) from Australasian birds and mammals, with description of *Plagiorhynchus (Plagiorhynchus) menurae* (Johnston, 1912) and *P. (P.) allisonae n.sp.*. *Systematic Parasitology*, 51(3), 207-216
- SMITH, S.M. & GOTTESMANN, M.M. (1989): Activity and deletion analysis of recombinant human cathepsin L expressed in *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 264, 34, 20487-20495
- SMITH, A.M., DOWD, A.J., MCGONIGLE, S., KEEGAN, P.S., BRENNAN, G., TRUDGETT, A. & DALTON, J.P. (1993): Purification of a cathepsin L-like preteinase secreted by adult *Fasciola hepatica*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 62, 1-8
- SPINDLER, L.A. & KATES, K.C. (1940): Survival on soil of eggs of the swine thorn-headed worm *Macracanthorhynchus hirudinaceus*. *Journal of Parasitology*, 26, 19
- SPURR, A.R. (1969): A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*, 26, 31-43
- STARLING, J.A. (1985): Feeding, nutrition and metabolism. In: *Biology of the Acanthocephala* (ed. Crompton, D.W.T. & Nickol, B.B.). Cambridge University Press, Cambridge, 125-213

- STORCH, V. & WELSCH, U. (1991):** Systematische Zoologie. 4. Auflage, *Gustav Fischer Verlag*, Stuttgart - New York
- STRANACK, F.R. (1972):** The fine structure of the acanthor shell of *Pomphorhynchus laevis*. *Parasitology*, 64, 187-190
- STRYER, L. (1988):** Biochemistry. *W.H. Freeman and Company*, New York
- SURES, B. & SIDDALL, R. (1999):**  
*Pomphorhynchus laevis*: The intestinal acanthocephalan as a lead sink for its fish host, chub (*Leuciscus cephalus*). *Experimental Parasitology*, 93(2), 66-72
- TARASCHEWSKI, H. (1988):** Reproduction. Acanthocephala. In: Mehlhorn H. (ed.) *Parasitology in focus. Facts and trends. Springer Verlag*, 344-352
- TARASCHEWSKI, H. (1989):** Das Wirt-Parasit-Interface der Acanthocephala. Ruhr-Universität Bochum: *Habilitationsschrift*
- TARASCHEWSKI, H. (2000):** Host parasite interactions in Acanthocephala - a morphological approach. *Advances in Parasitology*, 46, 1-179
- TARASCHEWSKI, H. (2001):** Acanthocephala. In: *Encyclopedic Reference of Parasitology* (ed. Mehlhorn). *Springer*, 1-32
- TARASCHEWSKI, H. & MACKENSTEDT, U. (1991):** Autoradiographic and morphological investigations on the uptake and incorporation of tritiated lysin by acanthocephalans. *Parasitology Research*, 77, 536-541
- TARASCHEWSKI, H. & PETERS, W. (1992):** Comparative investigations of the morphology and chemical composition of the eggshells of Acanthocephala, 2. Palaeacanthocephala. *Parasitology Research*, 78, 376-381
- TARASCHEWSKI, H., PETERS, W. & LATKA, I. (1992):** Comparative investigations of the morphology and chemical composition of the eggshells of Acanthocephala, 3. Eoacanthocephala. *Parasitology Research*, 78, 382-387
- TARASCHEWSKI, H., SAGANI, C. & MEHLHORN, H. (1989):** Ultrastructural study of the host-parasite interface of *Moniliformis moniliformis* (Archiacanthocephala) in laboratory-infected rats. *Journal of Parasitology*, 75, 288-296
- TARASCHEWSKI, H., MORAVEC, F., LAMAH, T. & ANDERS, K. (1987):** Distribution and morphology of two helminths recently introduced into European eel populations: *Anguillicola crassus* (Nematoda, Dracunculoidea) and *Paratenuisentis ambiguus* (Acanthocephala, Tenuisentidae). *Diseases of Aquatic organisms*, 3, 167-176
- TURK, D., GUNCAR, G., PODOBNIK, M. & TURK, B. (1998):** Revised definition of substrate binding sites of papain-like cystein proteases. *Biological Chemistry*, 379, 137-147
- UGLEM, G.L. (1972):** A physiological basis for habitat specificity in the acanthocephalan parasites *Neoechinorhynchus cristatus* Lynch, 1938 and *N. crassus* Van Cleave, 1919. *Diss. Abstracts Internat.*, 33B, 2417
- UZNANSKI, R. & NICKOL, B.B. (1976):** Structure and function of the fibrillar coat of *Leptorhynchoides thecatus* eggs. *Journal of Parasitology*, 62(4), 569-573
- VALTONEN, E.T. (1980):** *Metechinorhynchus salmonis* (Müller, 1780) (Acanthocephala) as a parasite of the whitefish in the Bothnian Bay. I. Seasonal relationships between infection and fish size. *Acta Parasitologica Polonica*, 27, 293-300
- VAN CLEAVE, H.J. (1935):** The larval stages of Acanthocephala. *Journal of Parasitology*, 21, 435-436
- VAN CLEAVE, H.J. (1947):** A critical review of terminology for immature stages in acanthocephalan life histories. *Journal of Parasitology*, 33, 118-125
- VOET, D. & VOET, J.G. (1992):** Biochemie. *VCH Verlag*, Weinheim, New York, Basel, Cambridge
- VOLKMANN, A. (1988/1989):** Lokalisation von Chitin in den Haken von *Pomphorhynchus laevis* Van Cleave (Acanthocephala). *Acta Biol Benrodis*, 1, 155-157
- VOLKMANN, A. (1991):** Localization of phenoloxidase in the midgut of *Periplaneta americana* parasitized by larvae of *Moniliformis moniliformis* (Acanthocephala). *Parasitology Research*, 77, 616-621
- VOLKMANN, A. (1993):** Untersuchungen zur Wechselwirkung zwischen Parasit und Wirt am Beispiel des Acanthocephalen *Moniliformis moniliformis* und der Schabe *Periplaneta americana*. Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, *Inaugural-Dissertation*
- VOLKMANN, A. & POLZER, M. (1994):** Leucine aminopeptidase activity in adults of *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala): a histochemical study. *Parasitology Research*, 80, 502-504
- WALTER, T., PALM, H.W., PIEPIORKA, S. & RUCKERT, S. (2002):** Parasites of the Antarctic rattail *Macrourus whitsoni* (Regan, 1913) (Macrouridae, Gadiformes). *Polar Biology*, 25(9), 633-640
- WANSTALL, S.T., ROBOTHOM, P.W.J. & THOMAS, J.S. (1986):** Pathological changes induced by *Pomphorhynchus laevis* Muller (Acanthoceph-

- ala) in the gut of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 72, 105-114
- WARD, H.L. & NELSON, D.R. (1967):** Acanthocephala of the genus *Moniliformis* from rodents of Egypt with the description of a new species from the egyptian spiny mouse (*Acomys cahirinus*). *Journal of Parasitology*, 53(1), 150-156
- WEHNER, R. & GEHRING, W. (1990):** Zoologie. Thieme, Stuttgart, New York
- WEST, A.J. (1964):** The acanthor membran of two species of Acanthocephala. *Journal of Parasitology*, 50(6), 731-743
- WESTERMEIER, R. (1990):** Elektrophorese-Praktikum. VCH, Weinheim, New York, Basel, Cambridge
- WESTHEIDE, W. & RIEGER, R. (HRSG.) (1996):** Spezielle Zoologie, Teil 1: Einzeller und Wirbellose Tiere. *Gustav Fischer Verlag*, Stuttgart, Jena, New York, 723-729
- WHITE, A.JR., MOLINARI, J.L., PILLAI, A.V. & REGE, A.A. (1992):** Detection and preliminary characterization of *Taenia solium* metacestode proteases. *Journal of Parasitology*, 78(2), 281-287
- WHITFIELD, P.J. (1970):** The egg sorting function of the uterine bell of *Polymorphus minutus* (Palaeacanthocephala). *Parasitology*, 61, 111-126
- WHITFIELD, P.J. (1971):** The locomotion of the acanthor of *Moniliformis dubius*. *Parasitology*, 62, 35-47
- WHITFIELD, P.J. (1973):** The egg envelopes of *Polymorphus minutus* (Acanthocephala). *Parasitology*, 66, 387-403
- WILLIAMS, H. & JONES, A. (1994):** Parasitic Worms of Fish. *Taylor- und Francis-Verlag*, London, Bristol, 147-374
- WILSON, KENNETH & EDWARDS, J. (1986):** The effects of parasitic infection on the behaviour of an intermediate host, the american cockroach, *Periplaneta americana*, infected with the acanthocephalan, *Moniliformis moniliformis*. *Animal Behaviour*, 34(3), 942-944
- WRIGHT, R.D. (1971):** The egg envelopes of *Moniliformis dubius*. *Journal of Parasitology*, 57, 122-131
- WRIGHT, R.D. & LUMSDEN, R.D. (1970):** The acanthor tegument of *Moniliformis dubius*. *Journal of Parasitology*, 56, 727-735
- YAMASAKI, H., AOKI, T. & OYA, H. (1989):** A cysteine proteinase from the liver fluke *Fasciola spp.*: purification, characterization, localization and application to Immunodiagnosis. *Japanese Journal of Parasitology*, 38, 373-384
- YAMASAKI, H., KOMINAMI, E. & AOKI, T. (1992):** Immunocytochemical localization of a cysteine protease in adult worms of the liver fluke *Fasciola sp.*. *Parasitological Research*, 78, 574-580
- YAMASAKI H., MINEKI, R., MURAYAMA, K., ITO, A. & AOKI, T. (2002):** Characterization and expression of the *Fasciola gigantica* cathepsin L gene. *International Journal for Parasitology*, 32, 1031-1042
- ZHAO, B., TARASCHEWSKI, H. & MEHLHORN, H. (1990):** Light and electron microscopic studies of the histopathogenicity of *Macracanthorhynchus hirudinaceus* (Archiacanthocephala) in experimentally infected domestic swine. *Parasitology Research*, 76(4), 355-359
- ZHAO, B. & WANG, M.X. (1992):** Ultrastructural Study of the Defense Reaction Against the Larvae of *Macracanthorhynchus hirudinaceus* in Laboratory-infected Beetles. *Journal of Parasitology*, 78(6), 1098-1101



## 7 ANHANG

### 7.1 Rezeptteil

#### 7.1.1 Färbelösungen zum Anfärben von Semidünnschnitten

##### 7.1.1.1 Methylenblau mit NaCl

###### Herstellung:

1.5 g Methylenblau  
0.8 g Natriumchlorid  
100 ml Aqua dest.

und  
in  
geben und  
1 Stunde mit Rückflusskühler kochen lassen.  
Die Lösung abkühlen lassen.  
Die Lösung mit einer Wasserstrahlpumpe abfiltrieren und darauf achten, dass keine Krümel in der Färbelösung enthalten sind.

###### Lagerung

Die fertige Lösung ist bei Zimmertemperatur jahrelang haltbar. Eventuell sollte sie vor erneutem Gebrauch jedoch nochmals durchfiltriert werden.

###### Anwendung:

Die Semidünnschnitte werden mit der fertigen Lösung mehrere Minuten bei 75 °C angefärbt. Dabei ist darauf zu achten, dass die verwendete Färbelösung auf den Semidünnschnitten nicht eintrocknet.

### 7.1.1.2 Stevenel's Blue

#### Herstellung:

<b>1.0 g</b>	<b>Methylenblau</b>	in
<b>75 ml</b>	<b>Aqua dest.</b>	und
<b>1.5 g</b>	<b>Kaliumpermanganat</b>	in
<b>75 ml</b>	<b>Aqua dest.</b>	geben. Die beiden Lösungen miteinander

vermischen und im Wasserbad solange erhitzen, bis sich der gesamte Niederschlag aufgelöst hat. Die Lösung abkühlen lassen und anschließend mit einem feinen Papierfilter abfiltrieren. Dabei ist darauf zu achten, dass keine Krümel in der Färbelösung enthalten sind.

#### Lagerung

Die fertige Lösung ist bei Zimmertemperatur monatelang haltbar. Eventuell sollte sie vor erneutem Gebrauch jedoch nochmals durchfiltriert werden.

#### Anwendung:

Die Semidünnschnitte werden mit der fertigen Lösung 10 Minuten auf einer Heizbank bei 60 °C angefärbt. Dabei ist darauf zu achten, dass die verwendete Färbelösung auf den Semidünnschnitten nicht eintrocknet.

## 7.1.2 Fixierlösungen für biologisches Probenmaterial

### 7.1.2.1 4%-Osmiumtetroxidlösung

#### Herstellung:

<b>1 g</b>	<b>Osmiumtetroxid</b>	in
<b>25 ml</b>	<b>Aqua dest.</b>	auflösen.

Dieser Ansatz ergibt 25 ml einer 4%igen Osmiumtetroxid-Lösung.

### 7.1.2.2 5%-Glutardialdehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer

**Herstellung:**

40 ml	25%-Glutardialdehyd	über
	Aktivkohle	filtrieren und mit
125 ml	0.2 M Na-Cacodylatpuffer	und
85 ml	Aqua dest.	vermengen.

Dieser Ansatz ergibt 250 ml einer 25%igen Glutardialdehyd-Lösung.

### 7.1.2.3 0.1 M Na-Cacodylatpuffer

**Herstellung**

50 ml	0.2 M $\text{Na}_2(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$	und
5.6 ml	0.2 M HCl	werden mit
44.4 ml	Aqua dest.	vermengt.

Dieser Ansatz ergibt 100 ml von 0.1 M Na-Cacodylatpuffer.

## 7.1.3 Einbettungsmedium für biologisches Probenmaterial

### 7.1.3.1 Spurr-Einbettungsmedium (nach SPURR, 1969)

**Herstellung:**

30 g	ERL-4206	werden mit
18 g	DER-736	und
78 g	NBA	und
1.2 g	DMAE (S-1)	vermischt.

**Anmerkung:**

Es empfiehlt sich, in jede Probe einen Zettel mit der Code-Nummer des Präparates einzupolymerisieren, um die Proben später eindeutig wieder zuordnen zu können.

**7.1.4 Kontrastierlösungen zum Kontrastieren von Ultradünnschnitten****7.1.4.1 Uranylacetat (in gesättigter wässriger Lösung)****Herstellung:**

**2.5 g Uranylacetat**  
**10 ml Aqua dest.**

in  
auflösen.

Dabei ist zu beachten, dass sich Uranylacetat in Wasser sehr langsam löst. Deshalb sollte man dem Uranylacetat mehrere Stunden Zeit lassen sich vollständig zu lösen.

Die fertige Uranylacetat-Lösung kann durch Zentrifugieren von etwaigen ungelösten Rückständen abgetrennt werden.

**Lagerung:**

Da Uranylacetat lichtempfindlich ist, sollte es im Dunkeln aufbewahrt werden. Außerdem empfiehlt sich eine Lagerung der Kontrastierlösung im Kühlschrank bei etwa 8 °C.

### 7.1.4.2 Bleicitrat (nach REYNOLDS, 1963)

#### Herstellung:

<b>1.33 g</b>	<b>Bleinitrat</b>	und
<b>1.76 g</b>	<b>Natriumcitrat</b>	in
<b>30 ml</b>	<b>Aqua dest.</b>	in einem 50-ml-Erlenmeyerkolben suspendieren. Diese Lösung 30 Minuten lang kräftig schütteln bzw. für etwa 15 Minuten in ein Ultraschallbad geben. Das Bleinitrat wird dabei vollständig in Bleicitrat überführt.
<b>8 ml</b>	<b>NaOH (1 n) carbonatfrei</b>	Das gebildete Bleicitrat wird mit aufgelöst und der Erlenmeyerkolben mit auf 50 ml aufgefüllt.
	<b>Aqua dest.</b>	

### 7.1.5 Trägerfilm-Lösung zum Befilmen von Grids

#### 7.1.5.1 0.32%-Polyvinylformaldehyd (Formvar)

#### Herstellung:

<b>0.16 g</b>	<b>Formvar</b>	in
<b>50 ml</b>	<b>Chloroform</b>	aflösen.
		Dieser Ansatz ergibt eine etwa 0.32%ige Formvarlösung.
	<b>Kupfersulfat</b>	Eventuell muss das Chloroform vor seiner Verwendung über getrocknet werden, um es wasserfrei zu bekommen.

#### Anmerkung:

Während der Herstellung der Formvar-Lösung sollte die Luftfeuchtigkeit 60% nicht übersteigen. Es empfiehlt sich daher, während der Herstellung der Formvar-Lösung, in einer Trockenkammer, deren Luftfeuchtigkeit durch Verwendung von Phosphorpentoxid auf unter 60% abgesenkt wurde, zu arbeiten.

**Lagerung:**

Die Formvar-Lösung ist, lichtgeschützt und luftdicht verschlossen aufbewahrt, mehrere Monate haltbar.

## 7.2 Protokoll zur Probenaufbereitung für die TEM

### Einbettungsverfahren nach Spurr:

**FIXIEREN**

<b>Zeitpunkt:</b>	sofort nach der Präparation
<b>Medium:</b>	5%-Glutardialdehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4)
<b>Lagerung:</b>	über Nacht bei 4 °C (Kühlschrank)

**WASCHEN**

<b>Medium:</b>	1 ml 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4)
<b>Dauer:</b>	4 x 15 Minuten

**FIXIEREN**

<b>Medium:</b>	2%-Osmiumtetroxid
<b>Menge:</b>	etwa 1 ml pro Probe
<b>Dauer:</b>	2 Stunden

**WASCHEN**

<b>Medium:</b>	Aqua dest.
<b>Dauer:</b>	3 x 15 Minuten

**ENTWÄSSERN**

<b>30% Aceton:</b>	1 ml Aqua dest. 0,5 ml Aceton (99.5%)
<b>50% Aceton:</b>	0.3 ml Aceton (30%) verwerfen 0.3 ml Aceton (99.5%) auffüllen
<b>70% Aceton:</b>	0.6 ml Aceton (50%) verwerfen 0.6 ml Aceton (99.5%) auffüllen

**ENTWÄSSERN**

<b>90% Aceton:</b>	1 ml Aceton (70%) verwerfen 1 ml Aceton (99.5%) auffüllen
<b>96% Aceton:</b>	1 ml Aceton (90%) verwerfen Aceton (99.5%) auffüllen
<b>100% Aceton:</b>	3x Aceton (96%) verwerfen Aceton (100%) auffüllen
<b>Dauer:</b>	pro Entwässerungsschritt 20 Minuten

**ÜBERFÜHREN IN SPURR-EINBETTUNGS-MEDIUM****1.Schritt:**

<b>Medium:</b>	1 (Aceton) : 1 (Spurr)
<b>Dauer:</b>	30 Minuten

**2.Schritt:**

<b>Medium:</b>	1 (Aceton) : 2 (Spurr)
<b>Dauer:</b>	30 Minuten

**3.Schritt:**

<b>Medium:</b>	reines Spurr
<b>Dauer:</b>	über Nacht im Kühlschrank

**Menge:** pro Probe 0.5 ml Spurrsches Standard-Medium verwenden

**Durchführung:**

Die Proben in Kautschukformen überführen und in reines Spurr-Medium einbetten.

Die eingebetteten Proben 2-3 Tage lang bei 70°C im Abzug auspolymerisieren lassen.

## HERSTELLEN VON SEMI- UND ULTRA-DÜNNSCHNITTEN

Mit Hilfe eines Ultra-Mikrotomes werden von den gewünschten Proben Semi- und Ultradünnschnitte der entsprechenden Stärke angefertigt.

## KONTRASTIEREN DER ANGEFERTIGTEN ULTRA-DÜNNSCHNITTE

Durch die Einführung von Uranyl- und Bleisalz kommt es zu einer Kontrasterhöhung der untersuchten Objekte.

**Medium:** Uranylacetat  
**Dauer:** 5 Minuten

**Zwischenschritt:** Dreimaliges Waschen der Grids mit Aqua dest.

**Medium:** Bleicitrat  
**Dauer:** 10 Minuten

**Zwischenschritt:** Dreimaliges Waschen der Grids mit Aqua dest.

## 7.3 Protokoll zur Probenaufbereitung für die REM

### FIXIEREN

**Zeitpunkt:** sofort nach der Präparation  
**Medium:** 5% Glutardialdehyd in 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4)  
**Lagerung:** über Nacht bei 4 °C (Kühlschrank)

### WASCHEN

**Medium:** 1 ml 0.1 M Na-Cacodylatpuffer (pH 7.4)  
**Dauer:** 4 x 15 Minuten

### WASCHEN

**Medium:** Aqua dest.  
**Dauer:** 3 x 15 Minuten

---

---

**ENTWÄSSERUNG**

---

---

<b>30% Aceton:</b>	1 ml Aqua dest. 0,5 ml Aceton (99.5%)
<b>50% Aceton:</b>	0.3 ml Aceton (30%) verwerfen 0.3 ml Aceton (99.5%) auffüllen
<b>70% Aceton:</b>	0.6 ml Aceton (50%) verwerfen 0.6 ml Aceton (99.5%) auffüllen
<b>90% Aceton:</b>	1 ml Aceton (70%) verwerfen 1 ml Aceton (99.5%) auffüllen
<b>96% Aceton:</b>	1 ml Aceton (90%) verwerfen 1 ml Aceton (99.5%) auffüllen
<b>100% Aceton:</b>	3x Aceton (96%) verwerfen Aceton (100%) auffüllen
<b>Dauer:</b>	pro Entwässerungsschritt 20 Minuten

---

---

**TROCKNEN MIT DEM CRITICAL-POINT-VERFAHREN**

---

---

<b>Medium:</b>	CO <sub>2</sub>
<b>Dauer:</b>	Mehrfache Wiederholung des Spülvorganges mit CO <sub>2</sub> bis die Proben vollkommen getrocknet sind.

---

---

**PROBENMONTAGE**

---

---

Die getrockneten hydrophilen Proben werden in der gewünschten Stellung auf Präparathalter aus Aluminium übertragen. Damit die Proben auf diesen Präparathaltern ihre Position behalten, werden die Präparathalter vor der Probenmontage mit doppelseitigem Klebeband überzogen.

---

---

**ERHÖHUNG DER LEITFÄHIGKEIT**

---

---

Auf die Oberfläche der getrockneten Proben wird mittels eines Bedampfungsverfahrens eine dünne Goldschicht (10-40 nm) aufgebracht. Diese Goldschicht erhöht die Leitfähigkeit der Oberfläche der untersuchten Proben und ermöglicht somit eine erheblich bessere Darstellung derselben.

---

## 7.4 SDS-Page

### 7.4.1 10% SDS

---

**Herstellung:**

---

10 g **Sodiumdodecylsulfat (Merck, Darmstadt)** in  
70 ml **Aqua dest.** lösen und auf 100 ml auffüllen.

### 7.4.2 1,5 M Tris-HCl pH 8,8

---

**Herstellung:**

---

54.45 g **Tris-hydroxymethyl-aminomethan (Merck, Darmstadt)** in  
150 ml **Aqua dest.** lösen, mit  
6 N **HCl (Merck, Darmstadt)** auf pH 8,8 einstellen.  
Auf 300 ml auffüllen.

### 7.4.3 0,5 M Tris-HCl pH 6,8

---

**Herstellung:**

---

6 g **Tris-hydroxymethyl-aminomethan (Merck, Darmstadt)** in  
60 ml **Aqua dest.** lösen, mit  
6 N **HCl (Merck, Darmstadt)** auf pH 6,8 einstellen

### 7.4.4 10x SDS Laufpuffer

---

**Herstellung:**

---

30,3 g **Tris-hydroxymethyl-aminomethan (Merck, Darmstadt)**  
144 g **Glycin (Merck, Darmstadt)**  
10 g **Dodecylsulfat (Merck, Darmstadt)**  
Mit **Aqua dest.** auf 1 l auffüllen.

---

**7.4.5 10% APS****Herstellung:**

100 mg Ammoniumperoxodisulfat (Merck, Darmstadt) in  
1 ml Aqua dest. auflösen.

**7.4.6 12% Trenngel (10 ml)****Herstellung:**

3,4 ml Aqua dest. in  
0,65 ml Acrylamid-Bis-Fertiglösung (37,5:1, Merck, Darmstadt)  
2,5 ml 1,5 M Tris-HCl pH 8,8 (Merck, Darmstadt)  
100 µl 10% SDS

**7.4.7 4% Sammelgel (5 ml)****Herstellung:**

3,05 ml Aqua dest.  
0,65 ml Acrylamid-Fertiglösung 37,5:1, Merck, Darmstadt)  
1,25 ml 0,5 M Tris-HCl pH 6,8  
50 µl 10% SDS

**7.4.8 0,5% Bromphenolblau-Lösung****Herstellung:**

50 mg Bromphenolblau (Merck, Darmstadt) in  
10ml Aqua dest. auflösen.

## 7.4.9 Laufpuffer

### Herstellung:

3,55 ml Aqua dest.  
 1,25 ml 0,5 M Tris-HCl, pH 6,8  
 2,5 ml Glycerin (Roth, Karlsruhe)  
 2 ml 10% SDS  
 0,2 ml 0,5% Bromphenolblau-Lösung  
 Vor Gebrauch je 950 µl noch 50 µl β-Mercaptoethano (Merck, Darmstadt)  
 zugeben.

## 7.5 Western Blot (Semidry)

### 7.5.1 Towbin Transfer Puffer

### Herstellung:

3.03 g	Tris	und
14.4 g	Glycin	und
1 ml	10% SDS	und
200 ml	Methanol	mit
	Aqua dest.	auf 1 l auffüllen.

### 7.5.2 10 x TBS

### Herstellung:

24.3 g	Tris	und
80.1 g	NaCl	
		mit 6 N HCl auf pH 7,6 einstellen.
		mit
	Aqua dest.	auf 1 l auffüllen.
		Vor Gebrauch mit Aqua dest. 1:2 verdünnen.

---

**7.5.3 1 x TBS-T**

---

**Herstellung:**

---

**2.5 l 1 x TBS** und  
**2.5 ml Tween 20**

**7.5.4 5% Magermilch**

---

**Herstellung:**

---

**10 g Magermilchpulver** mit  
**TBS-T** auf 200 ml auffüllen. Dabei rühren.

---



## 8 DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, sehr herzlich bedanken:

Herrn Prof. Dr. Horst Taraschewski für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und die Unterstützung bei der Durchführung meiner Promotionsarbeit,

Herrn Prof. Dr. Konrad Schmidt für die freundliche Übernahme des Korreferates,

Herrn Prof. Dr. Norbert Rieder für die Möglichkeit zur uneingeschränkten Nutzung eines Ultra-Mikrotoms sowie einer Critical-Point-Trocknungsanlage,

Herrn HD. Dr. Bernd Sures für die vielfältige Unterstützung und die zahlreichen wertvollen Ratschläge sowie seine konstruktive Diskussionsbereitschaft,

den Herren Mohammad Fotouhi, Windfried Send und Peter Pfundstein (alle: Laboratorium für Elektronenmikroskopie, Universität Karlsruhe) für ihre hervorragende technische Unterstützung bei der Arbeit am Transmissions- bzw. am Raster-Elektronenmikroskop und ihre wertvollen Tipps bezüglich der elektronenmikroskopischen Präparationstechniken,

Herrn Christoph Singer für die Einarbeitung in die biochemischen Arbeitsmethoden, der gesamten Arbeitsgruppe Ökologie-Parasitologie, besonders den Damen Christine Werth und Dr. Sonja Zimmermann sowie den Herren Marcel Münderle und Frankie Thielen, für die vielen kleinen und großen Hilfen sowie das hervorragende Arbeitsklima,

Herrn Rainer Müller für seine kompetente und freundliche Unterstützung und die zahlreichen anregenden Diskussionen,

Herrn Wolfgang Woditschka für seine außerordentliche Hilfsbereitschaft, insbesondere für die rasche Herstellung von benötigten Gerätschaften,

Herrn Prof. Dr. Brent B. Nickol (School of Biological Sciences, University of Nebraska-Lincoln) für die Überlassung von adulten Würmern bzw. reifen Eiern des Archi-Acanthocephalen *Moniliformis moniliformis* für den Aufbau eines eigenen Laborzyklus,

Herrn Dr. Laszlo Sugar für die Überlassung von adulten Tieren des Schweinekratzers *Macracanthorhynchus hirudinaceus*,

Herrn Dr. Thomas Lang (Bundesanstalt für Fischerei, Cuxhaven), welcher freundlicherweise adulte Würmer des Acanthocephalen *Echinorhynchus gadi* zur Verfügung stellte,

Herrn Dr. Bernd Stemmer (Regierungspräsidium Arnsberg) für die freundliche Überlassung von adulten Würmern des Parasiten *Neoechinorhynchus rutili*, welche in zeit-  
aufwendigen Elektroabfischmaßnahmen gewonnen wurden,

meinem Bruder für Rat und Tat bezüglich computertechnischer Belange,

großer Dank gebührt schließlich meinen Eltern, die mir meine Ausbildung ermöglicht haben und immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

---

