



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Die Histologie des Genitaltrakts der Tritonymphe von
Sancassania berlesei (Michael, 1903) (Acari: Acaridida)

zur Erlangung des akademischen Grades
Magister rerum naturalium (Mag. rer. nat)
an der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Universität Wien

Verfasser: Rupert Hefler
Matrikelnummer: 0204090
Studienrichtung: Zoologie (A439)
Begutachter: ao. Univ.-Prof. Dr. Manfred G. Walzl

Wien, im Juli 2010

„Es ist schon lange einer meiner Grundsätze,
dass die kleinsten Dinge bei weitem die wichtigsten sind.“

Sir Arthur Conan Doyle (1859-1930)

Dank geht an...

... Prof. Manfred G. Walzl für die Themenstellung, sämtliches Material, die mannigfaltigsten Arten der Hilfestellung, kritische Hinterfragung und Anregungen, und vor allem seine Zeit.

... Thomas Schwaha für alles! Ohne ihn wäre diese Arbeit so nicht möglich gewesen. Außerdem für natürlich stets gut gemeinte Ratschläge.

... Elisabeth Kiene für tatkräftige Unterstützung und ihr scharfes Auge.

... Christl, Chrissi, Lisa und Verli, die stets dafür gesorgt haben, dass der Autor dieser Arbeit nicht vom Fleisch fällt.

... alle Kolleginnen und Kollegen der Abt. Anatomie & Morphologie die, auf welche Art auch immer, das Leben eines Diplomanden zu bereichern im Stande waren, für ihre Hilfe.

... alle Kolleginnen und Kollegen von der Abt. Ultrastruktur für die Möglichkeit der Benützung der Geräte und Hilfestellung bei deren Bedienung.

... meine Schwester Elisabeth für moralische Unterstützung, diverseste Hilfestellungen und ihr akademisches Vorbild.

... zu guter Letzt meine Eltern für... dafür ist hier eindeutig nicht genug Platz!

1. EINLEITUNG	7
2. MATERIAL & METHODE	9
2.1. SANCASSANIA BERLESEI	9
2.1.1. DAS WEIBCHEN	11
2.1.2. DAS MÄNNCHEN	13
2.1.3. DIE TRITONYMPHE	14
2.2 HALTUNG	15
2.2.1 STAMMZUCHTEN	15
2.2.2 EINZELZUCHTEN	15
2.3. VERMESSUNG PHARATER TRITONYMPHEN	16
2.4. HISTOLOGISCHE BEARBEITUNG	18
3. ERGEBNISSE	19
3.1. VERMESSUNG PHARATER TRITONYMPHEN	19
3.2. DER GENITALTRAKT DER WEIBLICHEN TRITONYMPHE	20
3.2.1. AKTIVE WEIBLICHE TRITONYMPHE - ALLGEMEINER AUFBAU	20
3.2.2. AKTIVE WEIBLICHE TRITONYMPHE - STRUKTUR DES OVARS	26
3.2.3. PHARATE WEIBLICHE TRITONYMPHE - ALLGEMEINER AUFBAU	30
3.2.4. PHARATE WEIBLICHE TRITONYMPHE - STRUKTUR DES OVARS	34
3.3. DER GENITALTRAKT DER MÄNNLICHEN TRITONYMPHE	36
3.3.1. AKTIVE MÄNNLICHE TRITONYMPHE - ALLGEMEINER AUFBAU	36
3.3.2. AKTIVE MÄNNLICHE TRITONYMPHE - STRUKTUR DER HODEN	40
3.3.3. PHARATE MÄNNLICHE TRITONYMPHE - ALLGEMEINER AUFBAU	43
3.3.4. PHARATE MÄNNLICHE TRITONYMPHE - STRUKTUR DER HODEN	46
4. DISKUSSION	49
4.1 DER GENITALTRAKT DER WEIBLICHEN TRITONYMPHE	49
4.2. DER GENITALTRAKT DER MÄNNLICHEN TRITONYMPHE	58
4.3. ZUSAMMENFASSUNG	64
5. LITERATUR	69
6. ABSTRACT	75
7. ANHANG	77
8. LEBENSLAUF	79

1. EINLEITUNG

Wegen des enormen Fortpflanzungspotentials der wirtschaftlich bedeutenden Vorratsmilben, deren Vertreter zu den Acaridida (vormals Astigmata) zählen, ist es von Interesse, Aufbau und Entwicklung ihrer Geschlechtsorgane zu untersuchen.

Arbeiten über die Acaridida beschäftigen sich meist mit Systematik, Ökologie und allgemeiner Biologie (z.B. Türk & Türk 1957). Untersuchungen der Geschlechtsorgane selbst konzentrieren sich vor allem auf Oogenese, Spermatogenese und Befruchtung bei den Adulti (z.B. Prasse 1968, 1970; Heinemann & Hughes 1970, Kuo & Nesbitt 1970, Vijayambika & John 1975, Alberti 1980, Witaliński et al. 1990, Baker & Krantz 1985, Radwan 1991, Walzl 1992, Radwan 1993, Witaliński & Walzl 1995, Desch 2001, Lekimme et al. 2005, Liana & Witaliński 2005, Schwaha et al. 2008, Florek & Witaliński 2010). Ebenso verhält es sich mit Arbeiten über andere Milbentaxa wie Oribatida (z.B. Witaliński 1987, Alberti & Coons 1999, Heethoff et al. 2007) und Actinedida (z.B. Witaliński 1987, Alberti & Meyer-Rochow 2002, Mauß-Erdmann 2004, Alberti et al. 2007) oder Gamasida (z.B. Witaliński 1975, 1987; Krantz & Wernz 1979, Alberti & Hänel 1986, Alberti & Zeck-Kapp 1986, Alberti 1989).

Untersuchungen, welche unter anderem oder ausschließlich die Geschlechtsorgane der Juvenilstadien behandeln, sind rar (Nalepa 1884, 1885; Hughes & Hughes 1938, Perepelkina-Christopulo 1940, Vijayambika & John 1976, Klien 2007, Klien & Walzl 2010). Da Herkunft, Aufbau und Funktionsweise von einzelnen Bestandteilen des Genitaltrakts allein durch Untersuchungen der Adulti nicht restlos geklärt werden können, ist eine genauere Betrachtung der Juvenilentwicklung notwendig.

Die Entwicklung der Milben vom Ei zum Adultus läuft grundsätzlich über folgende Stadien: Prälarve, Larve, Protonympe, Deutonympe, Tritonympe. Larve und Nymphen gehen vor der Häutung zum nächsten Stadium in eine Ruhephase, die sogenannte pharate Phase, über (Evans 1992).

Die Tritonympe als letztes Jugendstadium wurde für diese Arbeit ausgewählt,

um Anlagen und Entwicklung von - beim Adultus bereits bekannten - Strukturen zuordnen, analysieren und vergleichen zu können.

Sancassania berlesei bietet sich hierfür aufgrund der bereits gut untersuchten Genitaltrakte der Adulti an (Prasse 1968, 1970; Radwan 1991, Klien 2007, Schwaha 2007, Schwaha et al. 2008, Klien & Walzl 2010). Außerdem handelt es sich um eine einfach und rasch zu züchtende, bis zu 1600µm große Milbe, was für Handhabung und Verfügbarkeit von aktiven und pharaten Individuen des zu bearbeitenden Stadiums vorteilhaft ist.

Ziel dieser Arbeit war zunächst eine Darstellung des allgemeinen Aufbaus des Genitaltraktes der aktiven und pharaten Tritonymphen beider Geschlechter.

In den Gonaden waren vor allem die Herkunft und Entwicklung der zentralen Region, das Vorhandensein somatischer Zellen sowie der Fortschritt der Keimzellenreifung von Interesse. Aufbau und Differenzierung des inseminatorischen Anteils des Genitaltraktes beim Weibchen sowie der akzessorischen Drüse beim Männchen wurden ebenfalls untersucht.

2. MATERIAL & METHODE

2.1. *Sancassania berlesei*

Die Milben (Acari) werden unterteilt in Anactinotrichida (Parasitiformes) und Actinotrichida (Acariformes). Zu den Actinotrichida gehören einerseits die Actinedida (Trombidiformes) und andererseits die Sarcoptiformes, welche wiederum in Oribatida und Acaridida (vormals Astigmata) unterteilt werden (Evans 1992, Alberti & Coons 1999) (Abb.2.1). Das Untersuchungsobjekt, *Sancassania berlesei*, ein Vorratsschädling, welcher früher zur Gattung *Caloglyphus* gestellt wurde, gehört innerhalb der Acaridida zur Familie der Acaridae (zur Biologie und Nomenklatur siehe Türk & Türk 1957, Timms et al. 1981a, b).

Die Entwicklung von *S. berlesei* läuft, wie bei den meisten Acaridida, über sechs postembryonale Stadien (Türk & Türk 1957, Timms et al. 1981a, Evans 1992). Aus der im Ei gebildeten Prälarve schlüpft die sechsbeinige Larve, aus welcher wiederum die achtbeinige Protonympe hervorgeht. Das zweite Nymphenstadium – die Deutonympe - stellt eine stark abgewandelte Überdauerungs- und Verbreitungsform (Hypopus) dar und wird nur fakultativ gebildet, sonst schlüpft direkt aus der Protonympe das letzte Nymphenstadium (Tritonympe), aus dem schließlich nach der Adulthäutung geschlechtsreife Männchen und Weibchen hervorgehen. Vor jeder Häutung fallen die Milben in einen Ruhezustand, die sogenannte pharate Phase. Dazu wird ein geschützter Bereich wie zum Beispiel Ritzen oder Spalten aufgesucht, wo die Tiere jede Aktivität einstellen - in diesem Zustand befinden sich die Beine in einer charakteristischen, stark abgewinkelten Position. Am Ende der pharaten Phase bricht die Cuticula der Tritonympe am Hinterleib auf, das Tier des nächsten Entwicklungsstadiums schlüpft rückwärts heraus.

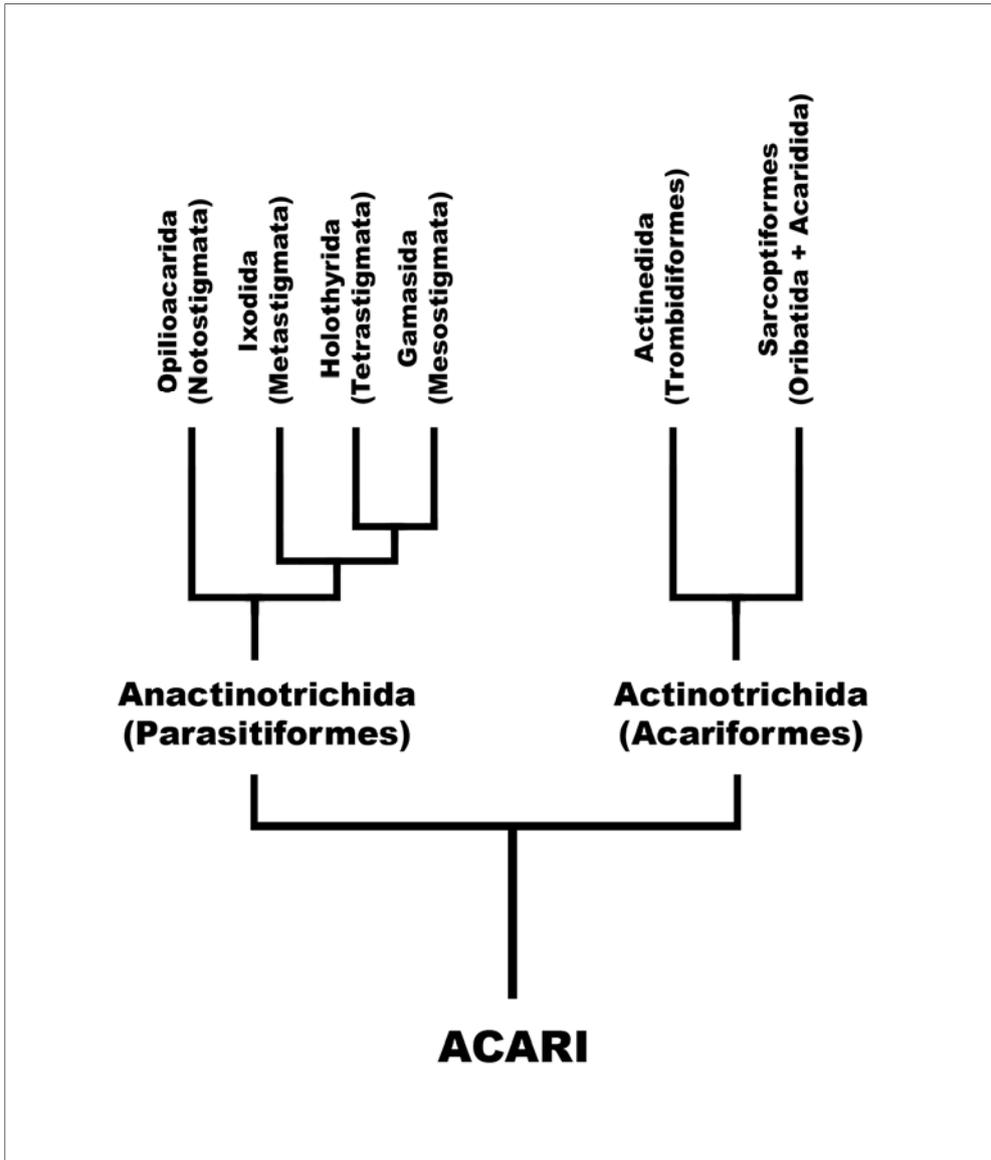


Abb.2.1: Systematik der Acari, nach Alberti & Coons (1999)

2.1.1. Das Weibchen

Adulte Weibchen sind zwischen 800 und 1600µm groß. Genital- und Analöffnung liegen auf der Ventralseite (Abb. 2.2).

Die Kopulationsöffnung (Bursa copulatrix) befindet sich terminal am oviductalen Opisthosoma. Der an sie anschließende Canalis copulator oder Ductus bursae führt zum dorsal gelegenen Receptaculum seminis. Dieser erste Teil des Genitaltraktes dient ausschließlich der Aufnahme und Speicherung von Spermien. Cranial des Receptaculum seminis liegt der zur Analspalte ziehende Enddarm, der mit dem vom Ösophagus aufsteigenden Mitteldarm eine zur Dorsalseite weisende Schleife bildet. Die paarigen Darmblindsäcke oder Caeca liegen zu beiden Seiten dieser Schleife.

Aus dem Receptaculum seminis gelangen die Spermien über die paarigen, nach lateroventral ziehenden Ducti conjunctivi in die paarigen, lateral des Enddarms und ventral der Caeca liegenden Ovarien.

Jedes Ovar ist von einem einschichtigen Ovarialepithel umgeben und beinhaltet im caudalen Teil eine große, randständige Nährzelle von halbmondförmigem Querschnitt mit einem komplexen, stark verzweigten Kern. Der andere Teil des Ovariums besteht aus Oogonien und heranreifenden Oocyten. Diese reifenden Oocyten stehen mit der Nährzelle über kegelförmige Plasmabrücken in Verbindung.

Reife Eizellen liegen bei den von den anterioventralen Polen der Ovarien abgehenden Ovidukten, die Verbindung zur Nährzelle wird aufgelöst. Die Befruchtung der prävitellogenetischen Oocyten erfolgt noch im Ovar.

Die in einer S-Schleife liegenden, zweischichtigen Ovidukte bestehen aus drei Abschnitten, in denen Vitellogenese, Meiose und Furchung stattfinden. Die Ovidukte vereinigen sich zu einer präoviporalen Kammer (unpaariger Ovidukt).

Die Eier werden über einen kurzen Ovipositor durch die Genitalöffnung abgegeben. (Prasse 1968, 1970; Witaliński & Walzl 1995, Alberti & Coons 1999, Klien 2007, Schwaha 2007, Schwaha et al. 2008, Klien & Walzl 2010).

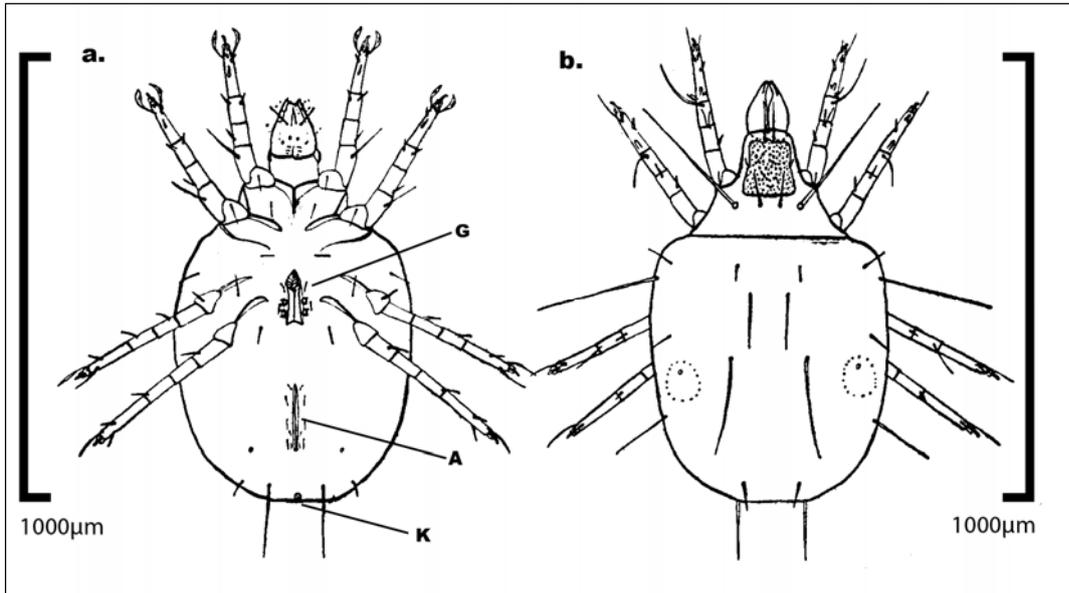


Abb. 2.2: Adultes Weibchen, nach Türk & Türk (1957); a. Ventralansicht, b. Dorsalansicht; G - Genitalöffnung, A – Analöffnung, K – Kopulations-öffnung (Bursa copulatrix)

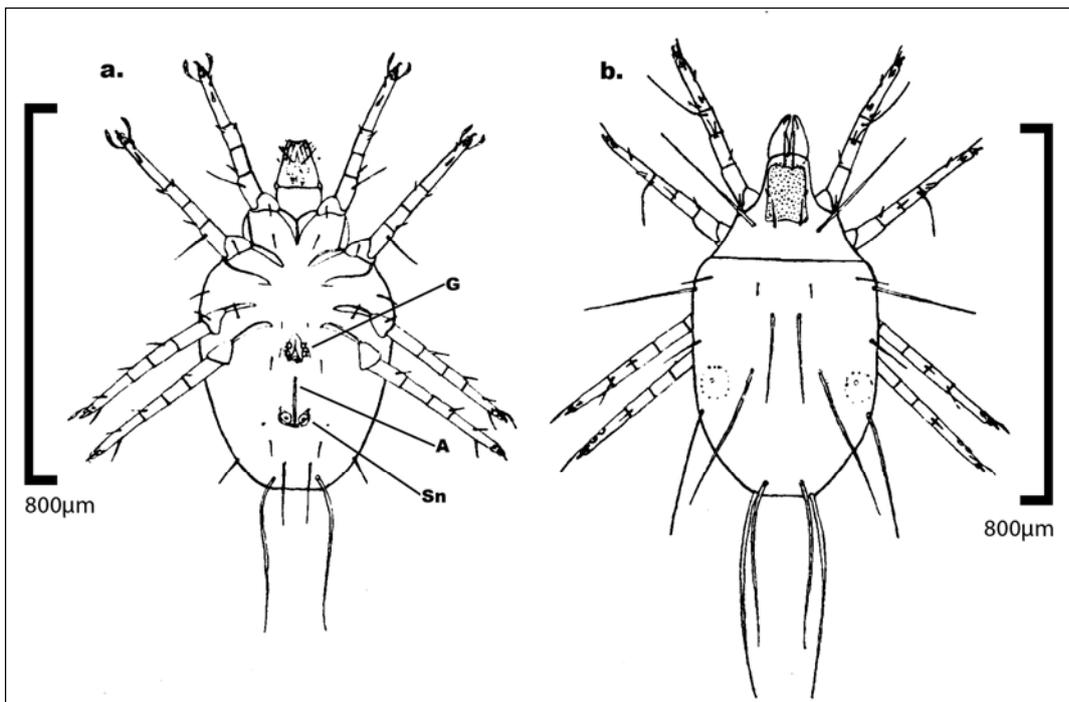


Abb. 2.3: Adultes Männchen, nach Türk & Türk (1957) a. Ventralansicht, b. Dorsalansicht; G - Genitalöffnung, A – Analöffnung, Sn – adanale Saugnäpfe

2.1.2. Das Männchen

Es gibt zwei Typen von Männchen: bimorphe und pleomorphe („Fighter“), deren Auftreten von der Populationsdichte abhängig ist (Türk & Türk 1957, Timms et al. 1981a, b; Radwan 1993, 1995; Radwan et al. 2002). Beide Typen von Männchen sind kleiner als die Weibchen, ihr Hinterleib ist schlank und trapezförmig. Ihre Borsten sind deutlich länger als jene der Weibchen und sie besitzen tarsale sowie leicht sichtbare adanale Saugnäpfe (Abb. 2. 3).

Bei der Kopulation besteigt das Männchen das Weibchen und benutzt eben diese Saugnäpfe um sich, in die entgegengesetzte Richtung blickend, am Hinterleib der Partnerin festzuheften (retrokonjugative Kopulationsstellung). Zur Spermienübertragung wird der Aedeagus („Penis“) in die Bursa copulatrix des Weibchens eingeführt.

Nach den Beschreibungen von Witalińsky & Walzl (1995) liegen die paarigen Hoden etwa auf der Höhe der adanal Saugnäpfe. Während der rechte jedoch lateral des Enddarms, ventral und unter dem Caecum liegt, befindet sich der linke direkt unter der dorsalen Cuticula näher an der Mittellinie des Hinterleibs. Die an der Ventralseite der Hoden anschließenden Vasa deferentia verlaufen ebenso nicht symmetrisch. Der linke Gang verläuft erst nach ventral und dann nach anterior und wird in den anterioren Teil der akzessorische Drüse mit einbezogen, während der rechte erst nach anterior läuft und dann vor der Geschlechtsöffnung nach links zieht, um sich mit dem anterioren Teil der akzessorischen Drüse zu einem Speicherorgan zu vereinigen. Die akzessorische Drüse liegt in der linken Körperhälfte. Sie ist auffallend groß und bogenförmig, ihr hinterer Teil füllt den gesamten Hinterleib caudal der zu den adanal Saugnäpfen ziehenden Muskeln aus. Ihre Sekretionsprodukte werden über einen zentral verlaufenden Kanal ausgeleitet. Vom anterioren Teil der akzessorischen Drüse zweigt rechts der Ductus ejaculatorius ab, über den Spermien und Sekrete der Drüse ausgeleitet werden.

Der Aedeagus liegt im Ruhezustand in der Genitalspalte verborgen. Zur Kopulation wird er ausgeklappt, seine Spitze weist dann nach caudal (Prasse 1968, 1970; Witalińsky & Walzl 1995, Alberti & Coons 1999).

2.1.3. Die Tritonymphe

Tritonymphen ähneln in ihrer Körperform den Weibchen, sind jedoch mit 400 – 700µm deutlich kleiner (Timms et al. 1981a) (Abb. 2.4). Eine Genitalspalte mit vier Genitalpapillen ist ebenso vorhanden wie Anlagen des Geschlechtstrakts - darunter Zellstränge, die den Gonodukten entsprechen dürften, sowie die Gonaden. Die akzessorische Drüse und Anlagen der Hoden wurden bei seziierten männlichen Tritonymphen beschrieben (Klien 2007, Klien & Walz 2010). Eine nicht-invasive Geschlechtsbestimmung „von außen“, zum Beispiel anhand cuticulärer Strukturen, ist nicht möglich. Sie gestaltet sie sich auch bei Betrachtung im Durchlicht sehr schwierig, da die Tiere während der aktiven Phase Fett einlagern und der größte Teil des Hinterleibs vom Darm und den großen, undurchsichtigen Caeca ausgefüllt wird. Geschlechtsspezifische Strukturen oder deren Anlagen wie das Receptaculum seminis, die akzessorische Drüse oder die wenig prominenten Gonaden sind dadurch kaum bis gar nicht erkennbar.

Am Ende der aktiven Phase wird die Nahrungsaufnahme eingestellt, die Tritonymphe geht in die pharate Phase über. Die Epidermis löst sich dabei von der Cuticula ab, die Beine werden aus den alten Chitinröhren gezogen und liegen flach an der Ventralseite an (Abb. 2.5). Die Cuticula der Tritonymphe umgibt das sich entwickelnde Adulttier nur mehr als schützende Hülle, kann allerdings nicht mehr als wirklicher Bestandteil des Integuments betrachtet werden. Dies stellt auch die Ursache für die Inaktivität der Tiere in der pharaten Phase dar. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Geschlechtsreife erst mit der Adulthäutung erlangt wird, weswegen das sich entwickelnde Tier noch nicht als adult zu bezeichnen ist. Der Begriff „pharate Tritonymphe“ ist allerdings in Frage zu stellen, da die Cuticula der Tritonymphe bereits abgestoßen wurde. Zur Bezeichnung des Ruhestadiums kann dieser zwar herangezogen werden, es muss allerdings bedacht werden, dass allein die alte Cuticula noch der Tritonymphe zuzuordnen ist.

2.2 Haltung

2.2.1 Stammzuchten

Die Milben stammten aus der Zucht von Prof. Walzl. Sie wurden in Zuchtboxen (150x135x60mm) bei Zimmertemperatur (20-25°C) und in Dunkelheit gehalten und mit Frischhefe gefüttert. Die Boxen wurden mit saugfähigem Papier ausgelegt, die Hefe (~ 10g) wurde in mit mehreren Lagen runden Filterpapiers (Ø 90mm) ausgelegten Plastikbechern (Ø 67-84mm) deponiert. Bei starker Verschmutzung oder nachdem das Futtermittel aufgebraucht war - etwa alle zwei Wochen - wurden die Zuchten erneuert und neue Nahrung zugegeben.

2.2.2 Einzelzuchten

Für Einzelzuchten wurden die von Oberrauch (1994) in ihrer Diplomarbeit benutzten Zuchtkammern verwendet, als Futter diente hier ebenfalls Frischhefe. Für die histologische Bearbeitung pharater Tritonymphen wurden aktive Nymphen in Einzelzuchten gegeben und stündlich kontrolliert. Als pharat wurden solche angesehen, die die typische Körperhaltung eingenommen hatten und auch nach Anstoßen mit Nadeln keine motorische Reaktion mehr zeigten. Die Zuchtkammern wurden in einem Wärmeschrank (Köttermann 22771) über einer gesättigten wässrigen Natriumkarbonatdekahydratlösung ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \times 10 \text{ H}_2\text{O}$, 214g/l), die bei einer Temperatur von 20°C eine relative Luftfeuchtigkeit von 90% gewährleistet, inkubiert.

Die pharate Phase dauert bei diesen Bedingungen etwa 24 Stunden. Es wurden Nymphen innerhalb von 1-4, 8-12 und 18 oder mehr Stunden nach Eintritt in die pharate Phase fixiert.

2.3. Vermessung pharater Tritonymphen

Aufgrund des bei den Adulti vorliegenden Längenunterschiedes war es von Interesse, festzustellen, ob ein solcher bereits bei den Tritonymphen feststellbar ist. Ein geschlechtsbedingter Längenunterschied würde, so vorhanden, eine Geschlechtsbestimmung bei den Tritonymphen erleichtern.

Da sich die Größe der Tritonymphencuticula im Verlauf der pharaten Phase nicht ändert, kann außer Acht gelassen werden, zu welchem Zeitpunkt nach dem Eintritt in die Ruhephase die Längenmessung vorgenommen wird. Dagegen kann nicht davon ausgegangen werden, dass die Körpergröße aktiver Tiere konstant bleibt, da eine Änderung derselben durch Nahrungsaufnahme und Defäkation nicht vollständig ausgeschlossen werden kann. Die Vermessung pharater Tritonymphen bietet außerdem den Vorteil, dass spätestens nach 24 Stunden die Geschlechtsbestimmung durchgeführt werden kann (siehe Kap.2.1.5).

Pharate Tritonymphen wurden für die Messung auf einem Standardobjektträger in Wasser mit etwas Seifenlösung gegeben und unter einem Deckglas mit Bienenwachsfüßchen eingeklemmt, wobei darauf geachtet wurde, die Tiere nicht zu quetschen. Gemessen wurde der Abstand vom Hinterende zum Gnathosoma in der Mediane auf der Ventralseite (Abb.2.5). Da das Gnathosoma aus beweglichen Teilen besteht, wurde es nicht in die Messung mit einbezogen.

Die Tiere (N=56) wurden mit einem geeichten Messokkular (IOX W.F. 483; Eichplatte J. D. Möller Optische Werke GmbH, 2 WEDEL, 2mm) vermessen und danach in Einzelzuchten transferiert. Nach der Adulthäutung wurde das Geschlecht bestimmt.

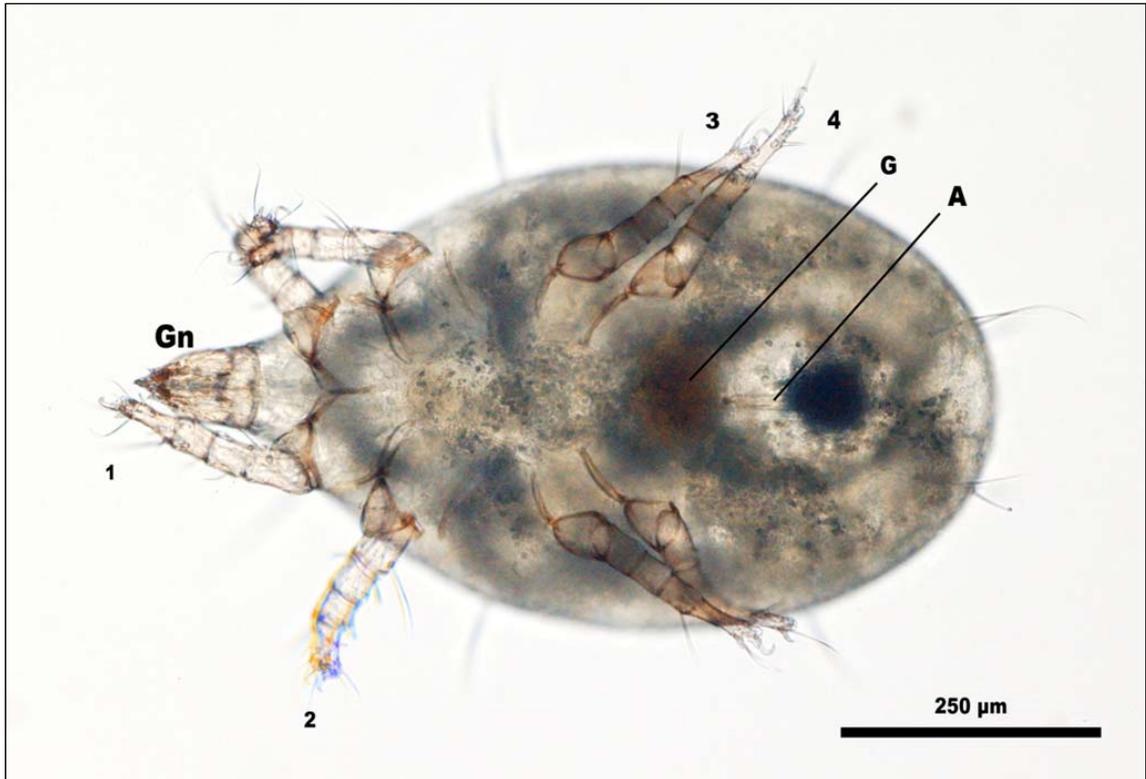


Abb. 2.4: Ventralansicht einer aktiven Tritonymphe; 1,2,3,4 – Beine, A – Analspalte, G- Genitalspalte mit vier Genitalpapillen, Gn – Gnathosoma.

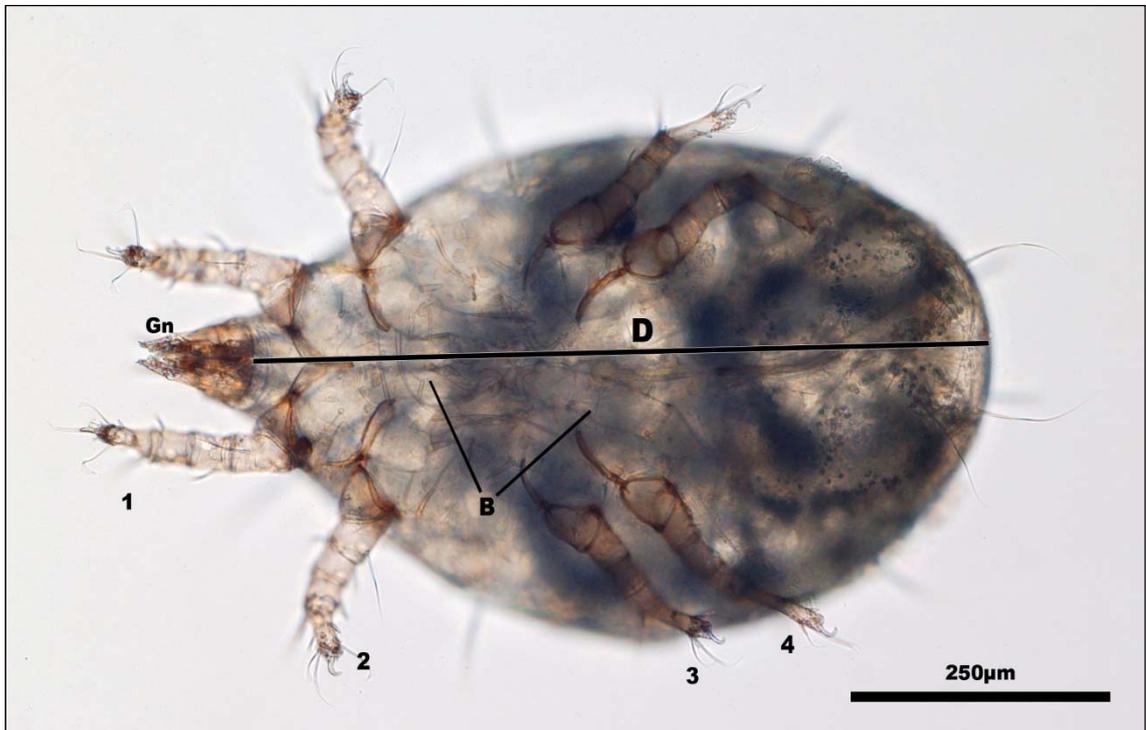


Abb.2.5: Ventralansicht einer pharaten Tritonymphe; 1,2,3,4 – Beine der Tritonymphe, B – Beine des sich entwickelnden Adulttieres, Gn – Gnathosoma, D – gemessene Distanz

2.4. Histologische Bearbeitung

Um eine rasche und vollständige Fixierung trotz der bei allen Stadien ausgebildeten Cuticula zu gewährleisten, musste diese eröffnet werden.

Dazu wurden die Tritonymphen zuerst im Fixiermedium Karnovsky (Hayat 1986) zwischen dem Gnathosoma und der Genitalfalte an der Ventralseite mit elektrolytisch angespitzten Wolframnadeln angestochen, um ein Eindringen der Fixierlösung zu ermöglichen. Dies sollte bei den folgenden Bearbeitungsschritten ein Herausquellen der Organe weitestgehend verhindern. Nach etwa drei Minuten wurde dann mit scherenartig gegeneinander geführten Wolframnadeln der vordere Teil des Körpers, das Proterosoma, etwa zwischen dem zweiten und dritten Beinpaar abgetrennt. Nach der ersten Fixierung in Karnovsky wurde der Hinterleib mit 0,1M Na-Kakodylatpuffer (pH 7,4; +4% Sucrose) gespült und in 2% Osmiumtetroxid nachfixiert. Nach erneutem Spülen mit A. bidest. wurden die Objekte in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Die Hinterleiber wurden in Low viscosity resin (ERL, Glauert & Lewis 1998) eingebettet. Als Intermedium diente Aceton, die Polymerisierung erfolgte bei 60°C (Protokoll siehe Anhang).

Semidünnschnittserien (1µm) wurden mit einem Diatome Histo Jumbo Diamantmesser an einem Reichert Ultracut S Mikrotom hergestellt, zum Verbinden der Schnitte zu Bändern diente mit Xylolersatz verdünnter Pattexkleber. Die Schnittserien wurden nach Richardson et al. (1960) oder mit Toluidinblau gefärbt. Eingedeckt wurde in beiden Fällen mit Immersionsöl, die Deckgläser wurden mit Eukitt fixiert.

Die Schnitte wurden an einem Nikon Eclipse E800 Mikroskop analysiert und zur Dokumentation mit einer Kamera (DS5M-U1) fotografiert.

Die Fotos wurden mit Adobe Photoshop CS3 v10.0 digital bearbeitet (Helligkeit, Kontrast, Tonwertkorrektur, Farbsättigung, Maßstäbe und Beschriftungen).

3. ERGEBNISSE

3.1. Vermessung pharater Tritonymphen

Von den 56 vermessenen Tieren waren 27 Weibchen und 24 Männchen. Fünf waren bereits vor der Adulthäutung verendet und konnten nicht zur Geschlechtsbestimmung herangezogen werden. Der gemessene Abstand vom Hinterende zum Gnathosoma pharater Tritonymphen schwankte zwischen ~550 und ~750 μm . Der Mittelwert betrug bei weiblichen Tritonymphen 682,1 μm (S.D. = 40,86 μm), bei männlichen Tritonymphen 660,9 μm (S.D. = 49,41 μm). Ein signifikanter Längenunterschied zwischen den beiden Geschlechtern konnte nicht festgestellt werden (t-Test: $p = 0,12$; $\alpha = 0,05$) (Abb.3.1).

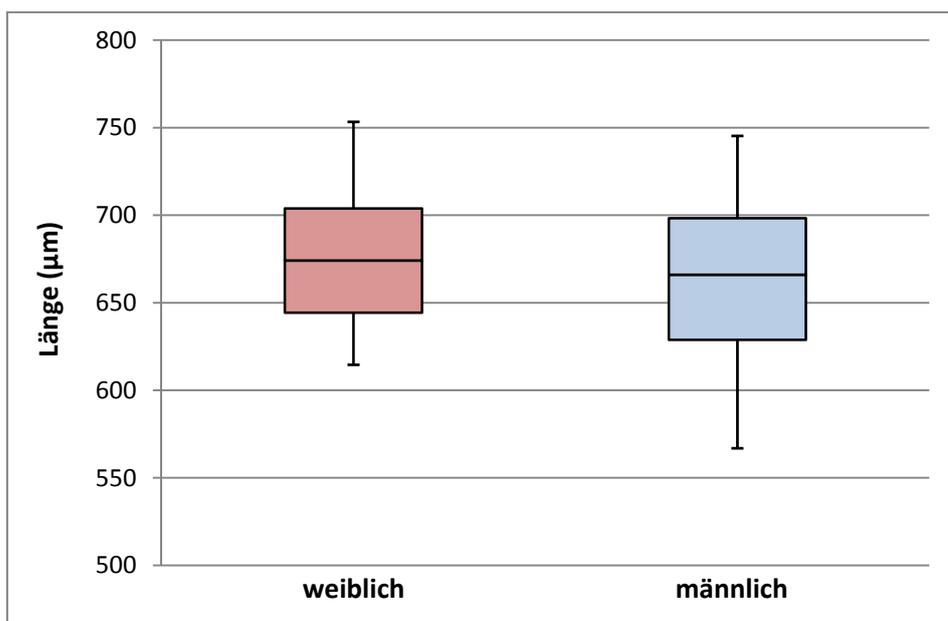


Abb.3.1: gemessene Länge pharater Tritonymphen, nach Geschlechtern

3.2. Der Genitaltrakt der weiblichen Tritonymphe

3.2.1. Aktive weibliche Tritonymphe - Allgemeiner Aufbau

Vom bei den Adulti beschriebenen Genitaltrakt sind Ovarien und Ovidukte sowie die präoviporale Kammer vorhanden. Der inseminatorische Anteil des Geschlechtstraktes und der Ovipositor sind angelegt.

Die Anlage des inseminatorischen Anteils des Geschlechtstraktes (Bursa copulatrix, Canalis copulator, Receptaculum seminis) ist eine Einstülpung der von der postanalen Cuticula abgelösten Epidermis in der Mediane unmittelbar hinter dem Enddarm und über dem caudalen Ende der Analspalte, ihr Durchmesser beträgt 50-60µm. Diese blasige, einschichtige, dickwandige epidermale Struktur ist von etwa Ω -förmigem Querschnitt und hat keine Verbindung zu den Ovarien. An der Oberfläche der invaginierten Epidermis ist lichtmikroskopisch keine Cuticula nachweisbar (Abb.3.2.1.1, 3.2.1.2). Diese Struktur wird im Folgenden als postanale Invagination bezeichnet.

Zwischen der Epidermis und der Cuticula des gesamten Hysterosomas liegen unspezifisch verteilte, schwach gefärbte Zellen mit granulärem Plasma, in deren Kern stets ein Nucleolus zu sehen ist. Eine Anhäufung dieser Zellen ist auch an der Basis der postanalen Invagination zu finden (Abb.3.2.1.1, 3.2.1.2, 3.3.1.1a, 3.1.1.1b). Diese Zellen, die auch bei männlichen Tritonymphen zu finden sind, werden im Folgenden als subcuticuläre Zellen bezeichnet.

Die Länge der paarigen Ovarien beträgt 80-105µm. Sie liegen ventral der Caeca, laterocaudal des Enddarms und lateral der postanalen Invagination. Ventral der Ovarien liegen von der ventralen Cuticula zu den Analklappen ziehende Muskelbündel. Die Ovarien sind im Querschnitt kreisförmig bis oval, im Sagittalschnitt etwa elliptisch. Das Ovarialepithel umgibt das Ovar nicht vollständig, es konnte nur in der cranioventralen Region – am Übergang zum Ovidukt - gefunden werden, während es weiter caudal und dorsal lichtmikroskopisch nicht nachweisbar war (Abb.3.2.1.1, 3.2.1.2, 3.2.1.3, 3.2.1.4).

Die Ovidukte setzen sich aus zwei Zellschichten zusammen: die innere besteht aus Zellen mit einer Höhe von bis zu 8µm, die Zellen der äußeren sind bis zu 3µm hoch. Die innere Schicht geht direkt in das Ovarialepithel über, die Zellen der äußeren Zellschicht enden am cranioventralen Pol des Ovars (Abb.3.2.1.3). In den Ovidukten ist kein Lumen sichtbar.

Die Ovidukte bilden direkt vor den Ovarien eine flach entlang der ventralen Körperwand verlaufende, S-förmige Schleife und ziehen dann nach cranial und median. Sie treffen über der Genitalspalte aufeinander und gehen in eine gemeinsame Tasche über, die ebenfalls aus einer dünneren äußeren und einer höheren inneren Zellschicht besteht. Wie in den Ovidukten ist auch in dieser Struktur kein Lumen erkennbar - allerdings ist auch in den Ovidukten der Adulti kein persistierendes Lumen ausgebildet, die Ovidukte und die präoviporale Kammer werden durch die hindurch gleitenden Eier aufgedehnt. Die Tasche entspricht somit der präoviporalen Kammer, ist allerdings aufgrund des nicht ausgebildeten Lumens nicht als solche zu bezeichnen.

Die zweischichtige Ovidukttasche liegt auf der Ventralseite über den Genitalpapillen. Die Epidermis bildet zwischen ihr und den Strukturen der Genitalspalte eine weitere einschichtige Einstülpung. Ähnlich wie bei der Anlage des inseminatorischen Anteils des Genitaltraktes liegt eine nicht cuticularisierte Blase vor, welche die Anlage des Ovipositors darstellt. Diese Blase, deren Lumen im Querschnitt etwa T-förmige Gestalt hat, steht an ihrer Dorsalseite in direktem Kontakt mit der inneren, hohen Zellschicht der Ovidukttasche- die äußere, dünne Zellschicht der Tasche ist an dieser Stelle nicht vorhanden (Abb.3.2.1.5).

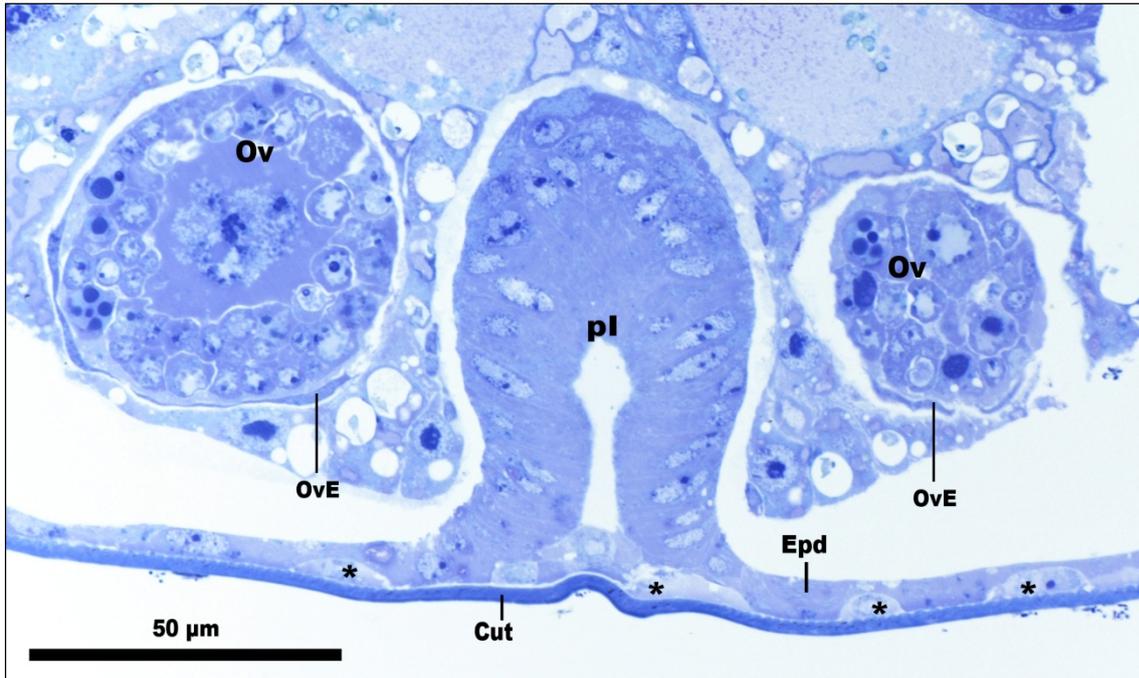


Abb. 3.2.1.1: Übersicht über Ovarien und Anlage des inseminatorischen Anteils des Genitaltrakts, Querschnitt durch eine aktive Tritonymphe, Toluidinblau; Cut – Cuticula, Epd – Epidermis, Ov – Ovar, OvE – Ovarialepithel, pl – postanale Invagination, * subcuticuläre Zellen

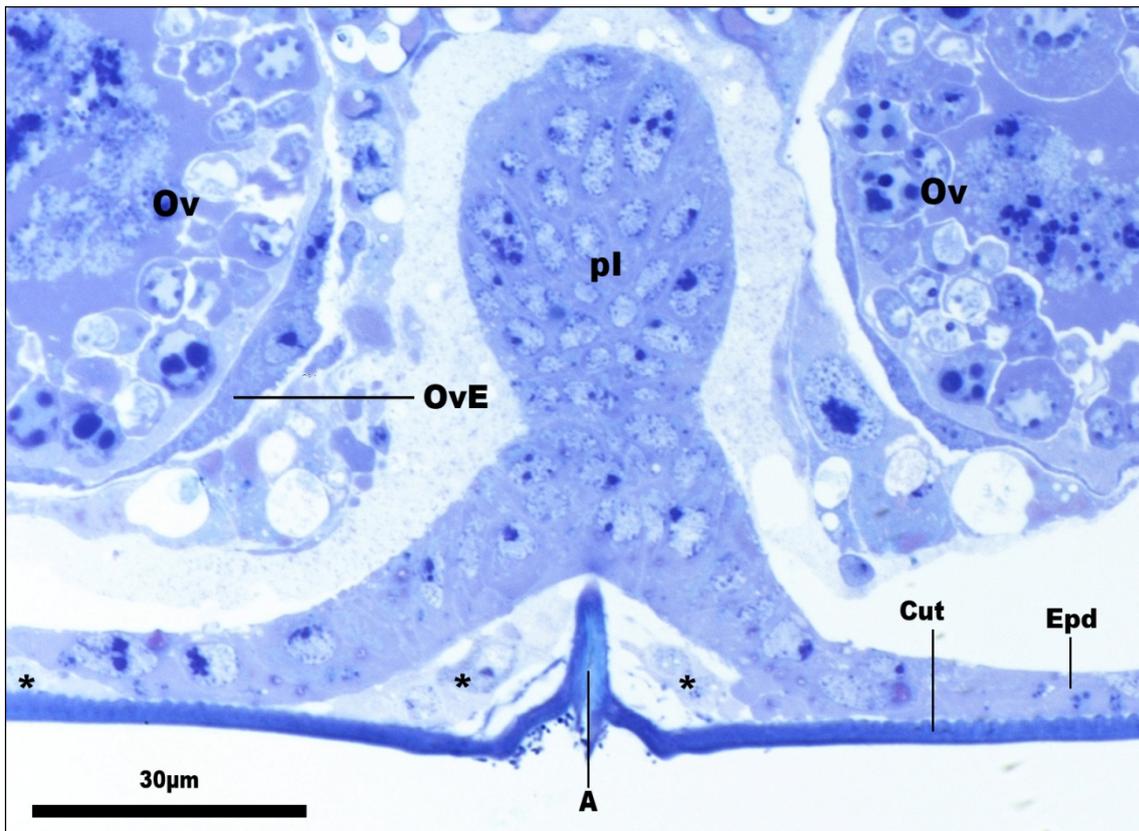


Abb.3.2.1.2: Querschnitt durch die postanale Invagination unmittelbar caudal der Analspalte, aktive Tritonymphe, Toluidinblau; A – Anschnitt der Analklappen, Cut – Cuticula, Epd – Epidermis, Ov – Ovar, OvE – Ovarialepithel, pl – postanale Invagination, * subcuticuläre Zellen

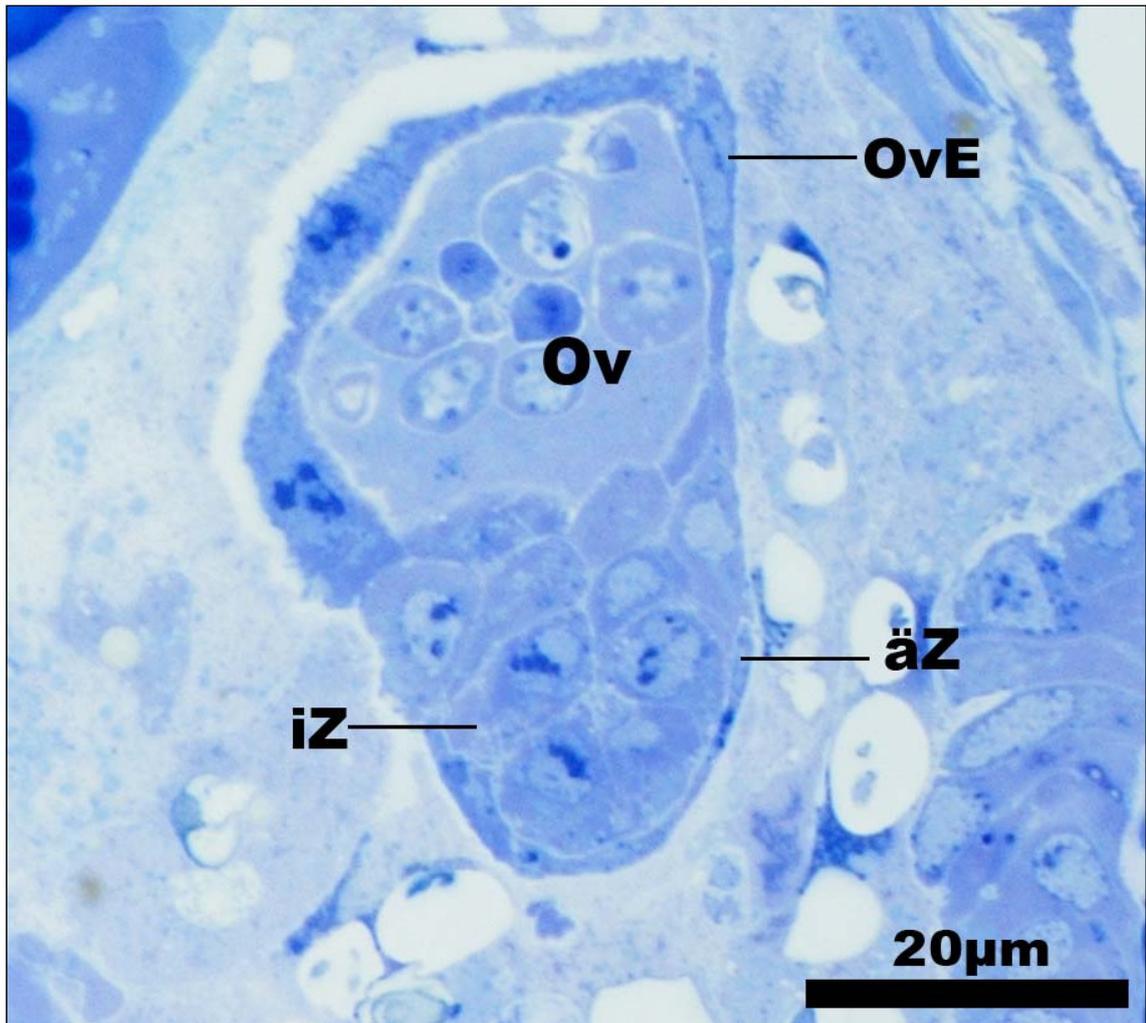


Abb.3.2.1.3: Querschnitt durch den Übergang vom Ovidukt zum Ovar einer aktiven Tritonymphe, Toluidinblau; Ov – Ovar, OvE – Ovarialepithel, das in die innere Zellschicht des Ovidukts übergeht, iZ / äZ – innere / äußere Zellschicht des Ovidukts

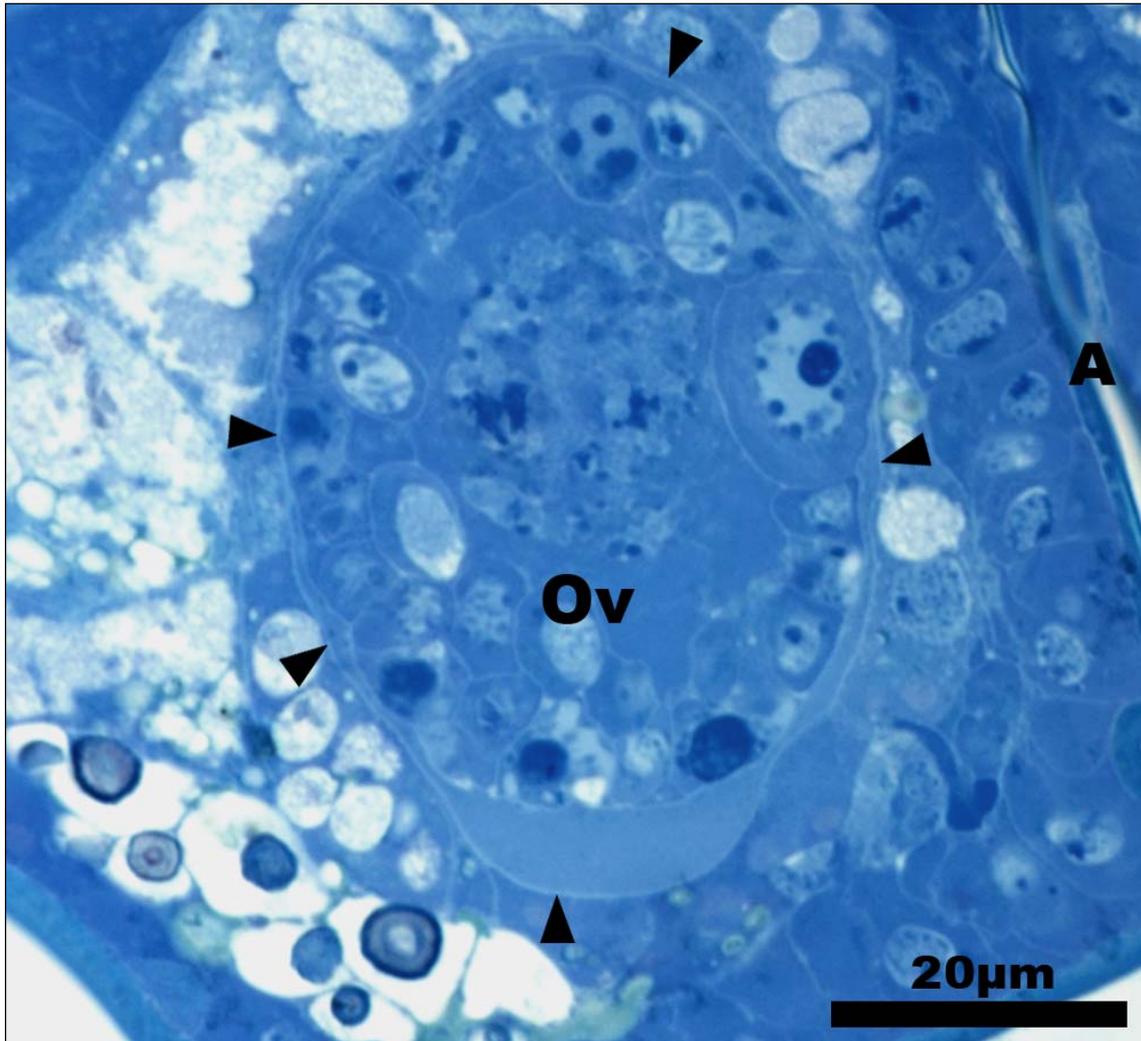


Abb.3.2.1.3: Querschnitt durch die caudale Region eines Ovars ohne sichtbares Ovarialepithel, aktive Tritonymphe, Richardson; A – Analspalte, Ov – Ovar, ► Region in der Ovarialepithel um das Ovar liegen würde

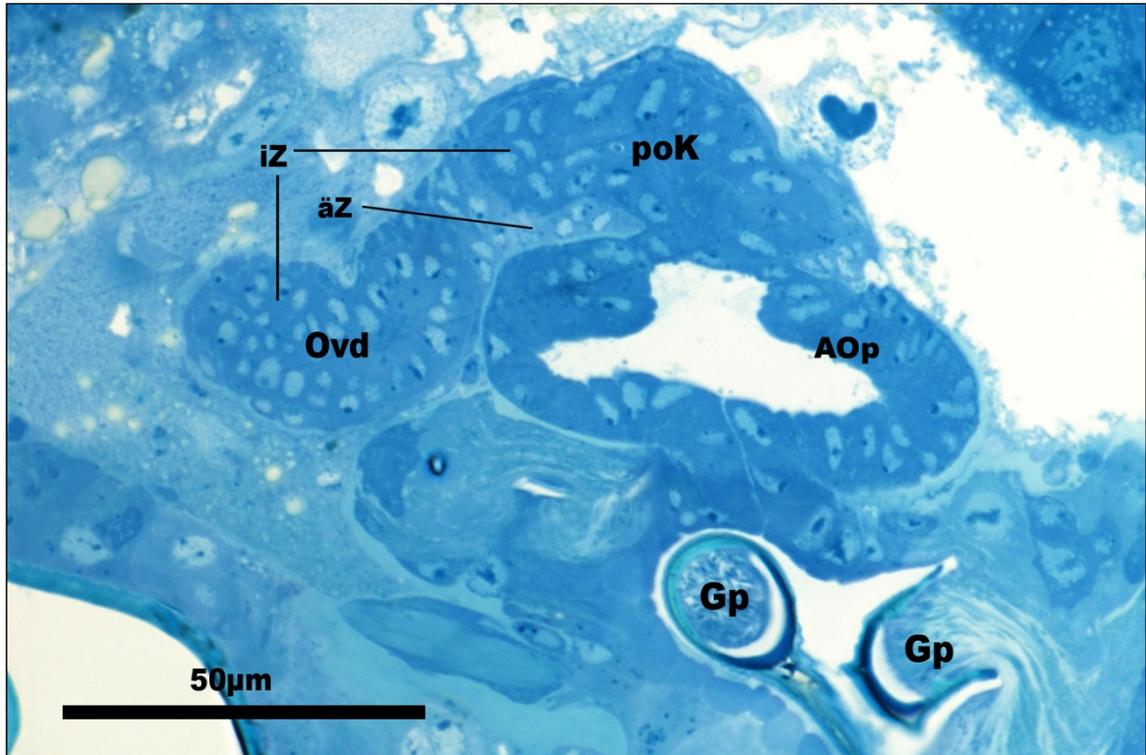


Abb.3.2.1.5: Übersicht über Ovidukttasche (präoviporale Kammer) und Anlage des Ovipositors einer aktiven Tritonymphe, Querschnitt, Richardson; AOp – Anlage des Ovipositors, Gp – Genitalpapillen, Ovd – Ovidukt, poK – Ovidukttasche, iZ / äZ – innere / äußere Zelllage des Ovidukts

3.2.2. Aktive weibliche Tritonymphe - Struktur des Ovars

Die Ovarien bestehen aus einer großen, zentral liegenden Nährzelle mit einem Durchmesser von 45–65µm, die von Keimzellen mit einem Durchmesser von 3–25µm umgeben ist (Abb.3.2.2.1). Der Nährzellkern stellt keine homogene Struktur dar: in zentral geführten Schnitten sind große Zellplasmastränge, die in den Kern ragen, zu sehen, in peripheren Anschnitten scheint der Kern aus miteinander verbundenen, elliptischen Untereinheiten aufgebaut zu sein (Abb.3.2.2.2a, b).

Die zentrale Nährzelle der aktiven Tritonymphe ist aufgrund der zahlreichen um sie liegenden Zellen von variabler Form. Keimzellen, die eine Größe von etwa 10µm überschreiten, stehen immer über eine stark gefärbte, im Schnitt dreieckige oder V-förmige Plasmabrücke mit dieser zentralen Nährzelle in Verbindung (Abb.3.2.2.3a). Es konnte keine Region im Ovar ausgemacht werden, in der sich diese reifenden Keimzellen, die sogenannten prävitellogenetische Oocyten, häufen. In den Ovarien aktiver Tritonymphen sind solche Plasmabrücken - und damit auch reifende Oocyten - in kleiner Zahl vorhanden (2-5 pro Ovar).

Neben diesen leicht erkennbaren Zellverbindungen treten im Ovar auch Strukturen auf, die eine direkte Plasmaverbindung von kleinen Keimzellen mit der zentralen Zelle darstellen könnten, jedoch nicht auffällig gefärbt sind (Abb.3.2.2.3b). Ob es sich hierbei tatsächlich um Zellverbindungen oder Artefakte der histologischen Bearbeitung handelt, kann nicht eindeutig bestimmt werden.

Die meisten Keimzellen in den Ovarien aktiver Tritonymphen haben einen Durchmesser von etwa 3-6µm. Es handelt sich hierbei um Oogonien, also Keimzellen, die noch nicht in die Wachstumsphase eingetreten sind. Diese Oogonien wurden in unterschiedlichen Phasen der Mitose angetroffen. Es konnten Zellen in Metaphase und Anaphase gefunden werden (Abb.3.2.2.4a, b).

Neben Nährzelle und Keimzellen ist im Ovar außerdem eine Zelle erkennbar, die einerseits einen die Keimzellen des Ovars umhüllenden Mantel formt,

andererseits auch einige zwischen die Keimzellen ragende Fortsätze ins Innere des Ovars besitzt. Sie verfügt über einen einzelnen, großen, linsenförmigen, sehr charakteristischen Kern, der ventral bis median am cranialen Ende des Ovars – am Übergang zu den Ovidukten - liegt (Abb.3.2.2.1, 3.2.2.4b). Diese Zelle wird im Folgenden als Mantelzelle bezeichnet.

In den Kernen aller Keimzellen sind Chromatin sowie meist auch Nuage-Material sichtbar (Abb.3.2.2.1). Kerne kleinerer Keimzellen verfügen oft, diejenigen größerer Keimzellen immer über einen Nucleolus.

Im Kern der Mantelzelle, ebenso wie in jenem der zentralen Nährzelle, sind auffallend große Mengen an Chromatin in verschiedenen großen und dichten Aggregationen vorhanden.

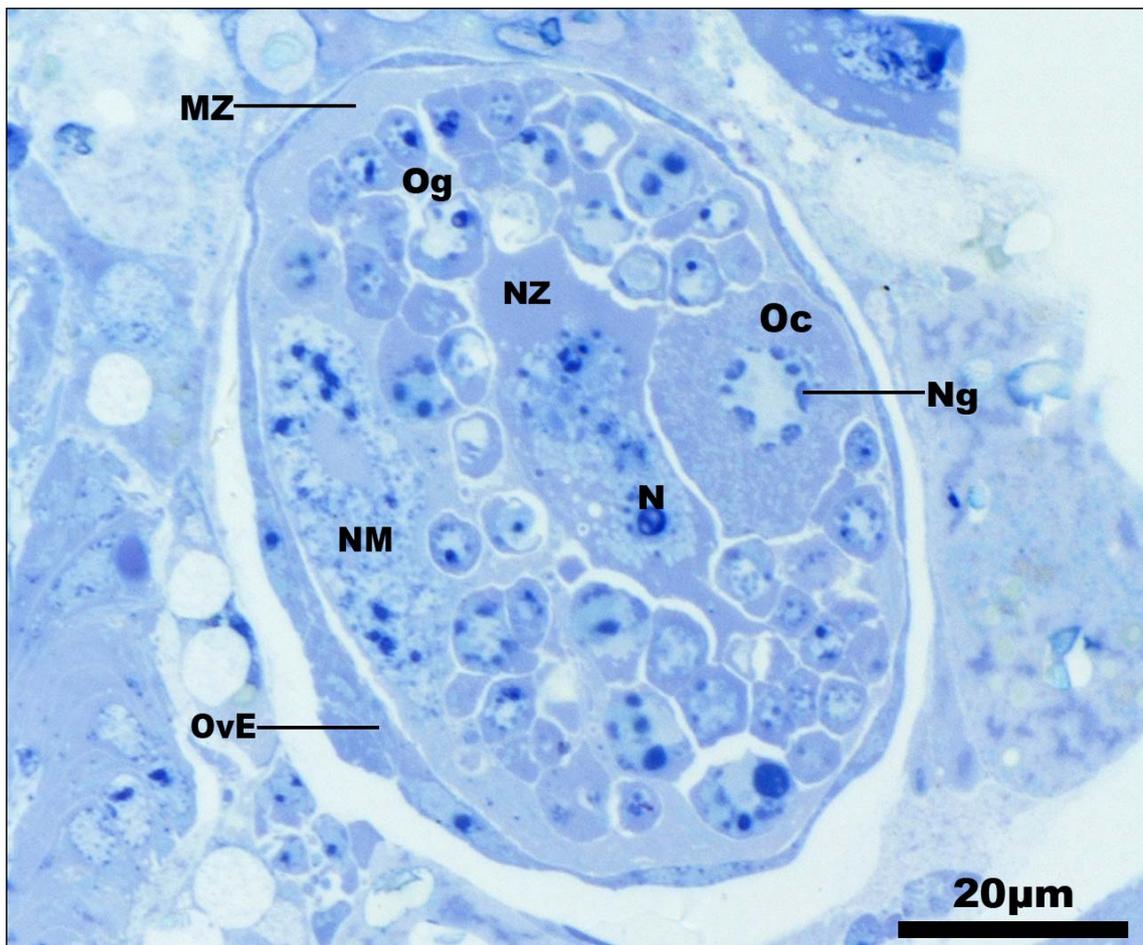


Abb. 3.2.2.1: Übersicht über ein Ovar, Querschnitt durch eine aktive Tritonymphe, Touluidinblau; MZ – Mantelzelle, N – Kern der Nährzelle, Ng – Nuage-Material, NM – Kern der Mantelzelle, NZ – Nährzelle, Oc – Oocyte, Og – Oogonien, OvE - Ovarialepithel

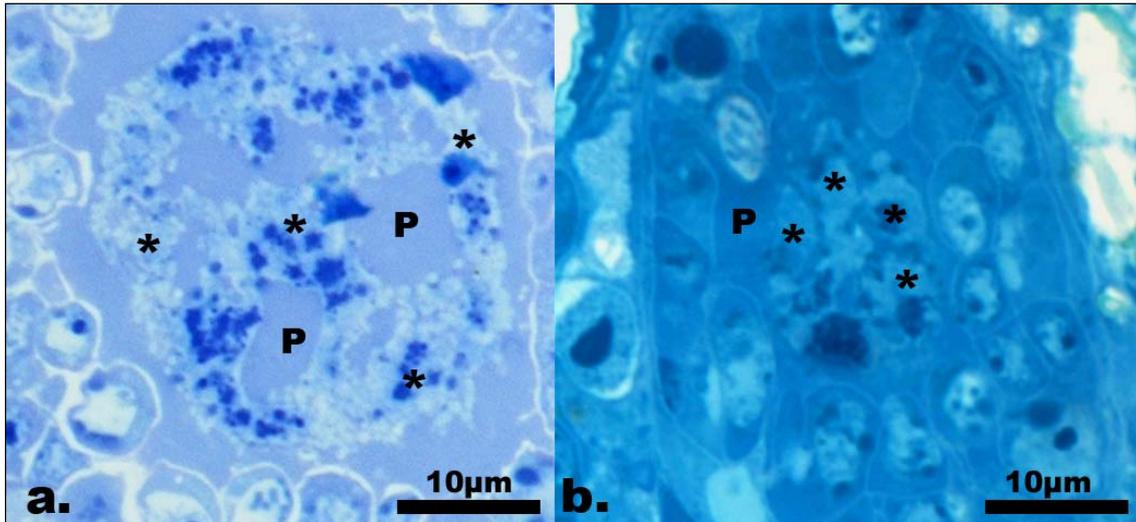


Abb.3.2.2.2: Querschnitte durch den Kern der Nährzelle aktiver Tritonymphen; a. zentraler Anschnitt, Toluidinblau; b. peripherer Anschnitt, Richardson; P – Plasma der Nährzelle, * Anschnitte des Kerns

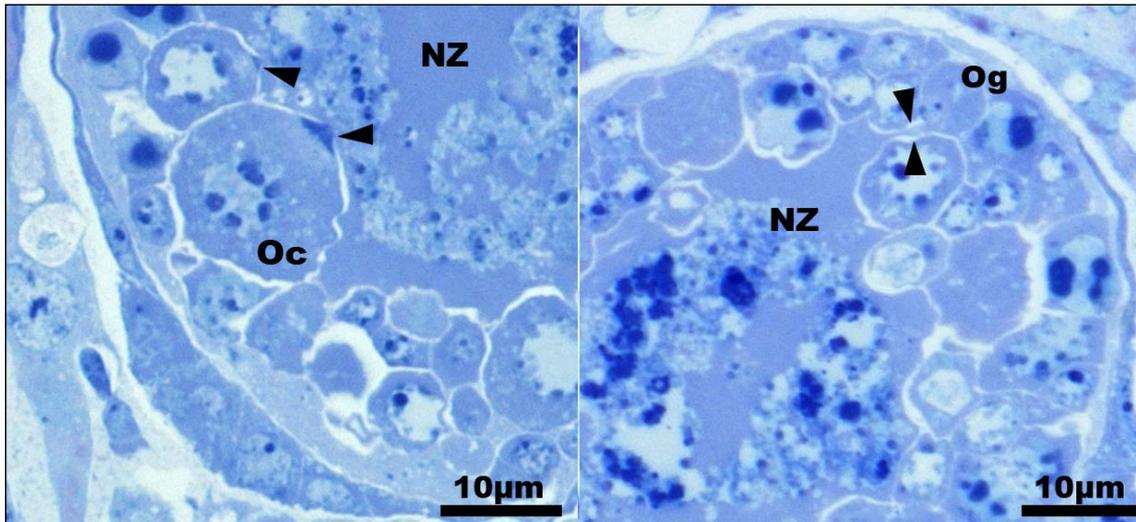


Abb.3.2.2.3: Plasmaverbindungen zwischen Keimzellen und Nährzellen aktiver Tritonymphen, Toluidinblau; a. stark gefärbte Verbindung mit einer reifenden Oocyte; b. unspezifische gefärbte Verbindung mit einer Oogonie; NZ – Nährzelle, Oc – Oocyte, Og – Oogonie, ► Zellverbindung

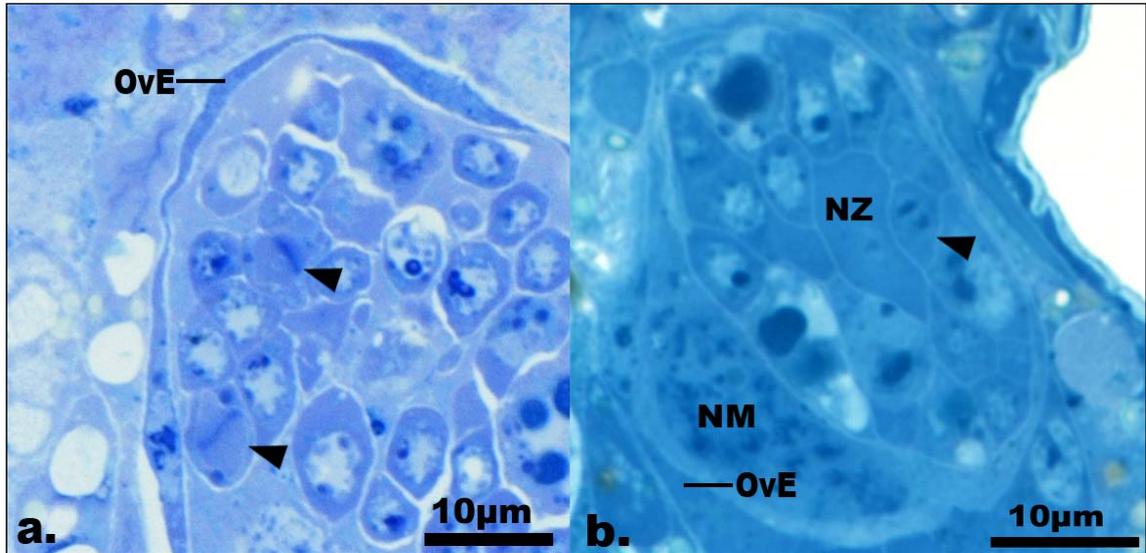


Abb.3.2.2.4: Oogonien in Mitose, Querschnitte durch die Ovarien aktiver Tritonymphen, a. Anschnitt von zwei Oogonien in Metaphase, Toluidinblau; Oogonie in Anaphase, Richardson; NM – Kern der Mantelzelle, NZ – Nährzelle, OvE Ovarialepithel, ► Oogonien in Zellteilung

3.2.3. Pharate weibliche Tritonymphe - Allgemeiner Aufbau

Während der pharaten Phase findet die Differenzierung der in Kap.3.2.1 beschriebenen Anlagen des inseminatorischen Anteils des Genitaltraktes sowie des Ovipositors statt. Das Receptaculum seminis, der Canalis copulator und die Bursa copulatrix sind vorhanden, eine endgültige Verbindung zwischen Receptaculum und Ovarien ist noch nicht ausgebildet.

Die Anlage des Receptaculum seminis liegt vom caudalen Ende der Analspalte entfernt, näher an bzw. knapp unter der dorsalen Cuticula, caudal des vom Rektum aufsteigenden Darms. Von seiner Ventralseite führt ein dünner, einschichtiger und cuticularisierter Gang (Canalis copulator) zum caudalen Ende der Analspalte. Das Lumen dieses Ganges weist einen Durchmesser von 3µm auf. Seine Öffnung in der Epidermis liegt im Vergleich zur Lage der postanalen Invagination bei der aktiven Tritonymphe nicht mehr direkt hinter der Analspalte sondern weiter nach terminal verschoben (Abb.3.2.3.1). Die Differenzierung der Bursa copulatrix konnte nicht verfolgt werden.

Das Receptaculum seminis hat im Sagittalschnitt etwa die Form eines Deltoids oder Dreiecks, seine Spitze weist nach dorsal. Es besteht 8-12 Stunden nach Eintritt in die pharate Phase aus drei übereinander liegenden Zellschichten, von denen die innerste einen U-förmigen, cuticularisierten Hohlraum bildet (Abb.3.2.3.1, 3.2.3.2a). Die Öffnung dieses Hohlraums weist auf den Abgang des Canalis copulator. An der Mündung des Canalis copulator und der Basis des Receptaculums liegt die dünne Cuticula eng am Epithel an, während die im Hohlraum gebildete Cuticula von der innersten Zellschicht abgelöst und in Falten gelegt ist. Die innere Zellschicht geht direkt in die mittlere Zellschicht über. Diese erstreckt sich von der Basis des Receptaculums zwischen der inneren und äußeren Zellschicht bis zum unter der dorsalen Körperwand liegenden, apikalen Pol des Receptaculums, wo ihre Zellen mit jenen der äußeren Lage in Kontakt stehen (Abb.3.2.3.2b). Das Vorhandensein von Cuticula an den Oberflächen der mittleren und äußeren Zellschicht ist lichtmikroskopisch nicht eindeutig nachweisbar.

Die Cuticula im inneren Hohlraum ist nicht vollständig geschlossen sondern weist eine Öffnung auf (Abb.3.2.3.2a). Die Länge des Receptaculum seminis, von der Basis (Abgang des Canalis copulator) zum apikalen Pol, beträgt etwa 100µm.

An jener Stelle, wo in der aktiven Tritonymphe das Ovarialepithel noch nicht eindeutig nachweisbar war – in der mediodorsalen Region - bildet dasselbe nunmehr einen Fortsatz, welcher auf das Receptaculum seminis - weiter nach mediodorsal - weist. Es handelt sich hierbei um eine Anlage des Ductus conjunctivus (Abb.3.2.3.2a, 3.2.4.1b).

Für eine weitere Differenzierung der Ovidukte konnten keine Hinweise gefunden werden. Die Differenzierung des Ovipositors konnte nicht nachvollzogen werden.

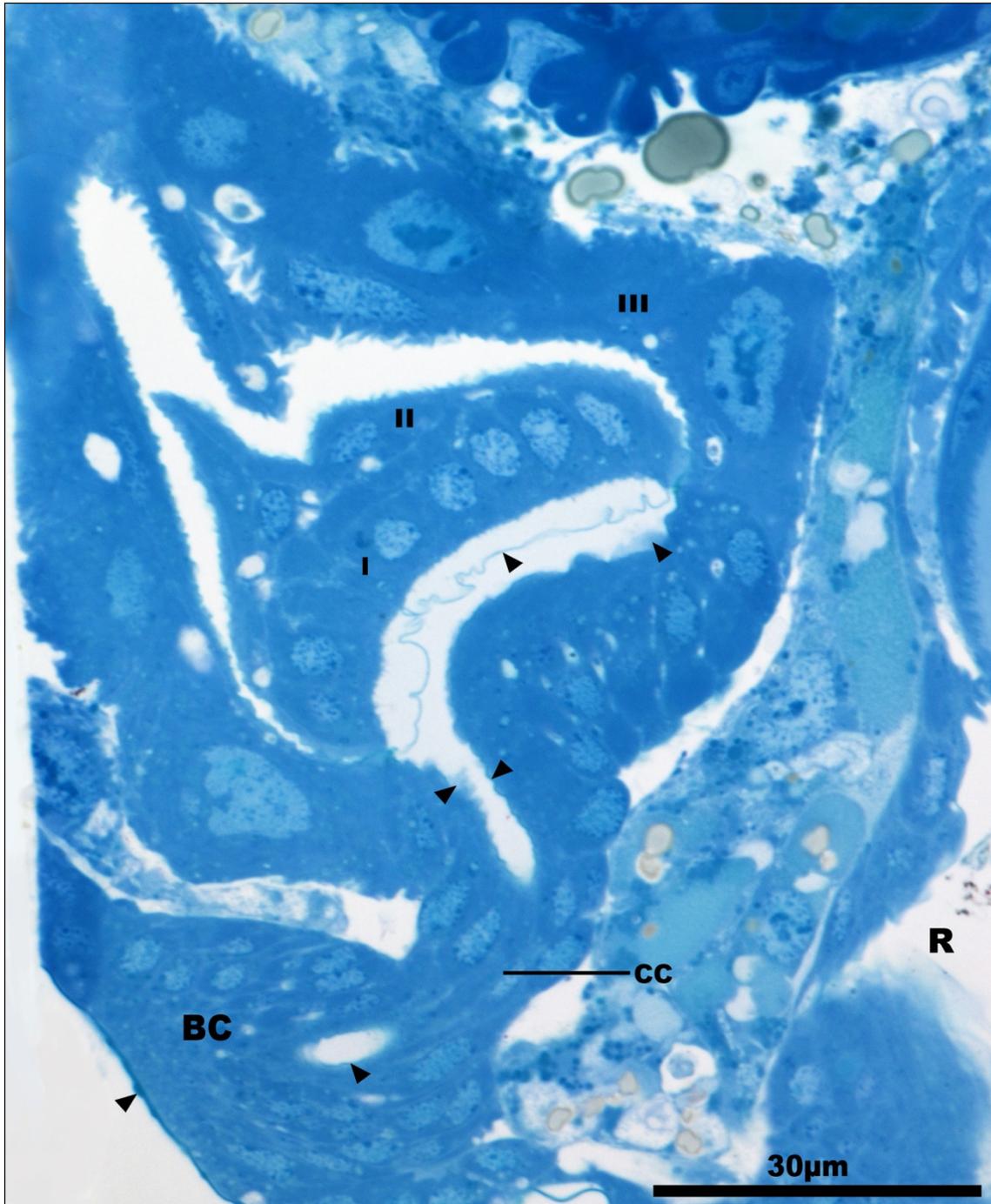


Abb. 3.2.3.1: Receptaculum seminis, Canalis copulator und Anlage der Bursa copulatrix einer pharaten Tritonymphe (8-12h pharat), sagittal, Richardson; BC – Anlage der Bursa copulatrix, CC – Canalis copulator, R – Rektum, I / II / III – innere / mittlere / äußere Zellschicht des Receptaculum seminis, ► Anschnitte von Cuticula

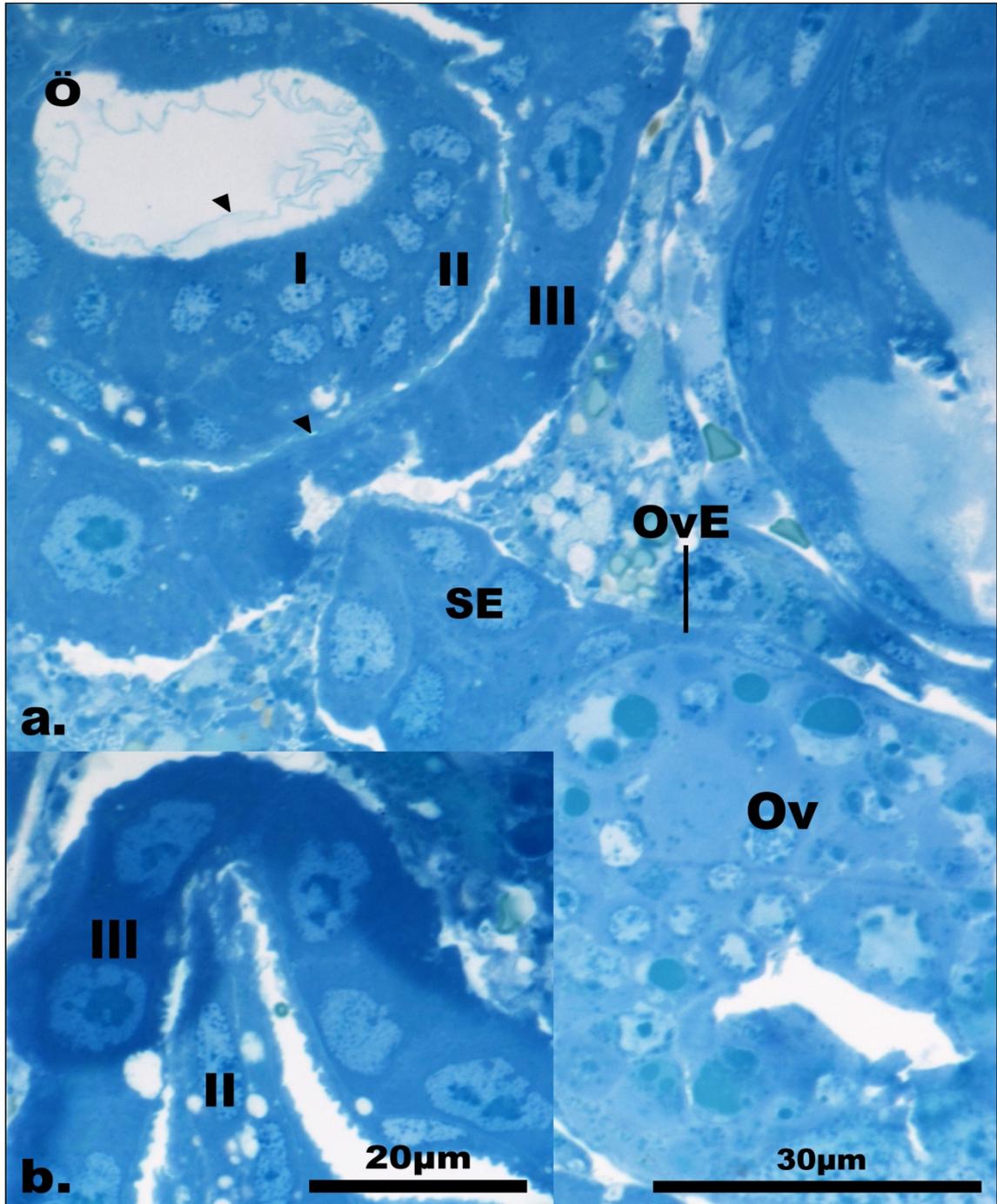


Abb. 3.2.3.2: Receptaculum seminis einer pharaten Tritonymphe (8-12h pharat), sagittal, Richardson; a. Anschnitt der drei Zelllagen des Receptaculum seminis und des vom Ovarialepithel gebildeten Fortsatzes; b. apikaler Pol des Receptaculum seminis - Kontaktstelle von mittlerer und äußerer Zelllage; Ov – Ovar, OvE – Ovarialepithel, Ö – Öffnung in der Cuticula der inneren Zellschicht, SE – Fortsatz des Ovarialepithels, I / II / III – innere / mittlere / äußere Zellschicht des Receptaculum seminis, ► Anschnitte von Cuticula

3.2.4. Pharate weibliche Tritonymphe - Struktur des Ovars

Die Größe der zentralen Nährzelle nimmt während der pharaten Phase nicht zu. Auch eine Größenzunahme der Ovarien ließ sich nicht nachweisen. Gegen Ende der pharaten Phase nimmt allerdings die Zahl der über stark gefärbte Plasmabrücken mit der Nährzelle in Verbindung stehenden Keimzellen zu (10-12 pro Ovar). Auch das Erscheinungsbild ihres Kernes ändert sich nicht (Abb.3.2.4.1a, 3.2.4.1b). Die bei den Adulti beschriebene randständige Lage der Nährzelle lag in keinem der untersuchten Ovarien vor.

In den Ovarien der am längsten in der pharaten Phase befindlichen Individuen erscheint die Mantelzelle immer weniger prominent. Ihr Kern wird flach an den Rand des Ovars gedrückt und erhält im Querschnitt etwa sichelförmiges Aussehen. Ob die Mantelzelle die Keimzellen umschließt kann lichtmikroskopisch nicht eindeutig bestimmt werden (Abb.3.2.4.1.a).

In den untersuchten Tieren waren große Keimzellen stets über die beschriebenen stark angefärbten Plasmabrücken mit der zentralen Nährzelle verbunden (Abb.3.2.4.1a), nie konnte eine Keimzelle in der Wachstumsphase gefunden werden, die nicht oder nicht mehr mit ihr in Verbindung stand.

Insgesamt ähneln die Ovarien pharater Tritonymphen sehr stark jenen der aktiven. Unterschiede bestehen hinsichtlich der Anzahl prävitellogenetischer Oocyten, dem Aussehen der Mantelzelle und dem Ovarialepithel, welches das Ovar nunmehr eindeutig vollständig umgibt und in der mediodorsalen Region einen Fortsatz ausbildet (siehe Kap. 3.2.3).

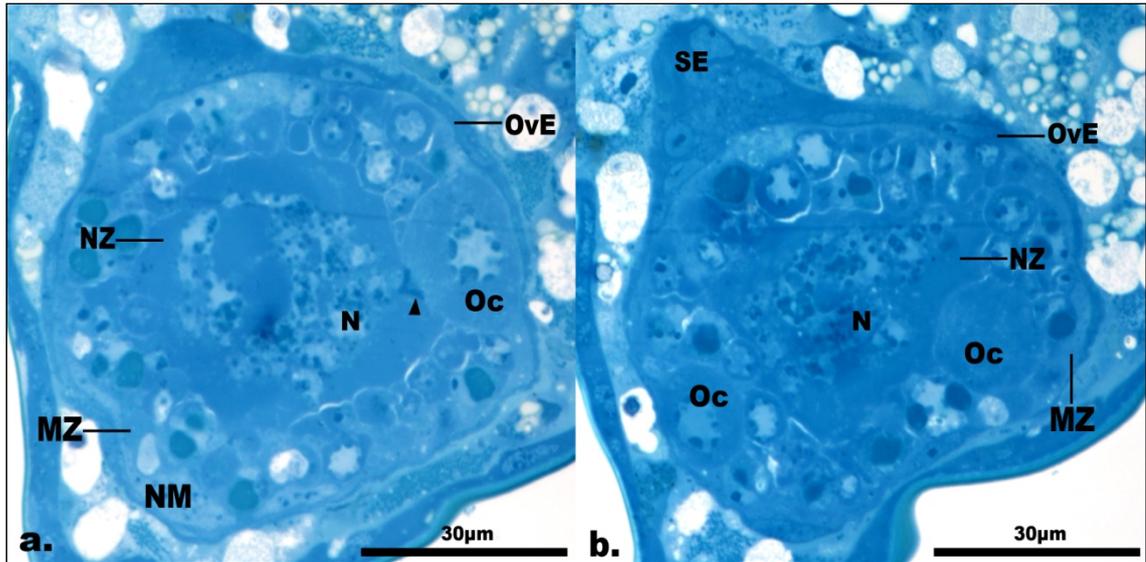


Abb. 3.2.4.1: Querschnitte des Ovars einer pharaten Tritonymphe (18h oder länger pharat), Richardson; a. Schnitt mit Plasmaverbindung zwischen Oocyte und zentraler Nährzelle; b. Ansnchnitt des Ovars mit dem vom Ovarialepithel gebildeten Fortsatz; MZ – Mantelzelle, N – Kern der zentralen Nährzelle, NM – Kern der Mantelzelle, NZ – zentrale Nährzelle, Oc – Oocyte, OvE – Ovarialepithel, SE – Fortsatz des Ovarialepithels, ► Plasmaverbindung

3.3. Der Genitaltrakt der männlichen Tritonymphe

3.3.1. Aktive männliche Tritonymphe - Allgemeiner Aufbau

Bei der aktiven Tritonymphe sind von den inneren Geschlechtsorganen der Adulti bereits sowohl Hoden als auch akzessorische Drüse sowie die Vasa deferentia vorhanden. Der Durchmesser der akzessorischen Drüse ist mit 50–70µm kaum größer als jener der 40-60µm messenden Hoden, die Länge der Hoden beträgt 90–110µm.

Die Hoden liegen laterocaudal des Enddarms und ventral der Caeca, in einer ähnlichen Position wie die Ovarien der weiblichen Tritonymphe. Der ventral der akzessorischen Drüse gelegene linke Hoden befindet sich allerdings weiter caudal und meist näher an der Mediane.

Die Vasa deferentia ziehen von den cranioventralen Polen der Hoden nach cranial. Der linke vereinigt sich etwa zwischen Analspalte und Genitalspalte mit der dorsal von ihm liegenden akzessorischen Drüse (Abb.3.3.1.1a). Der rechte Vas deferens mündet über dem caudalen Ende der Genitalspalte in den cranialen Teil der akzessorischen Drüse ein. Die Vasa deferentia sind zweischichtig, mit einer bis zu 2µm dicken äußeren und einer bis zu 7µm dicken inneren Zellschicht. Ein Lumen ist in ihnen nicht ausgebildet (Abb.3.3.1.1b).

Der Aufbau der akzessorischen Drüse entspricht grundsätzlich dem der Vasa deferentia, die innere Zellschicht ist jedoch besonders im caudalen Teil der Drüse mit bis zu 30µm deutlich mächtiger. In einem Querschnitt sind dort etwa fünf bis acht Zellen mit etwa 10µm großen Kernen erkennbar, die um die Längsachse der Drüse angeordnet sind (Abb.3.3.1.2). Ein Lumen des zentralen Kanals ist nicht vorhanden.

Am caudalen Ende der Genitalspalte bildet die Epidermis eine einschichtige Einstülpung. Ähnlich wie bei der Anlage des Ovipositors beim Weibchen liegt eine nicht cuticularisierte Blase vor, auch hier mit einem im Querschnitt T-förmigem Lumen. Vom caudodorsalen Teil dieser Blase ragt ein kurzer, trichterförmiger Fortsatz mit einer Länge von etwa 10µm in diese Blase hinein -

also vom Körper nach außen (Abb.3.3.1.1a). Dieser Fortsatz stellt die Anlage des Aedeagus dar. In ihm verläuft ein mit einem Durchmesser von 1-2µm sehr enger Kanal nach caudal und bildet nach dem Verlassen der Blase einen aus einer Zellschicht bestehenden Gang, dessen Lumen einen Durchmesser von etwa 4µm aufweist. Dieser Gang, der die Anlage des Ductus ejaculatorius darstellt, strebt zwischen den Vasa deferentia und dem cranialen Teil der akzessorischen Drüse auf die Analspalte zu (Abb.3.3.1.1b). Etwa auf Höhe des cranialen Endes der Analspalte steht er in Kontakt mit der akzessorischen Drüse, wobei sich sein Lumen in dieser Region auf 7-9µm erweitert (Abb.3.3.1.3a, 3.3.1.3b). Eine direkte Verbindung zwischen dem Lumen des Ductus ejaculatorius und dem zentralen Kanal der akzessorischen Drüse besteht nicht.

Von verdickten Abschnitten der Epidermis laterocaudal der Analspalte ziehen Zellstränge, zur dorsalen Epidermis (Abb.3.3.1.2, 3.3.2.1b). Die verdickten Abschnitte der Epidermis stellen die Anlage der adanalen Saugnäpfe dar, die Zellstränge sind allerdings noch nicht zu Muskelzellen differenziert.

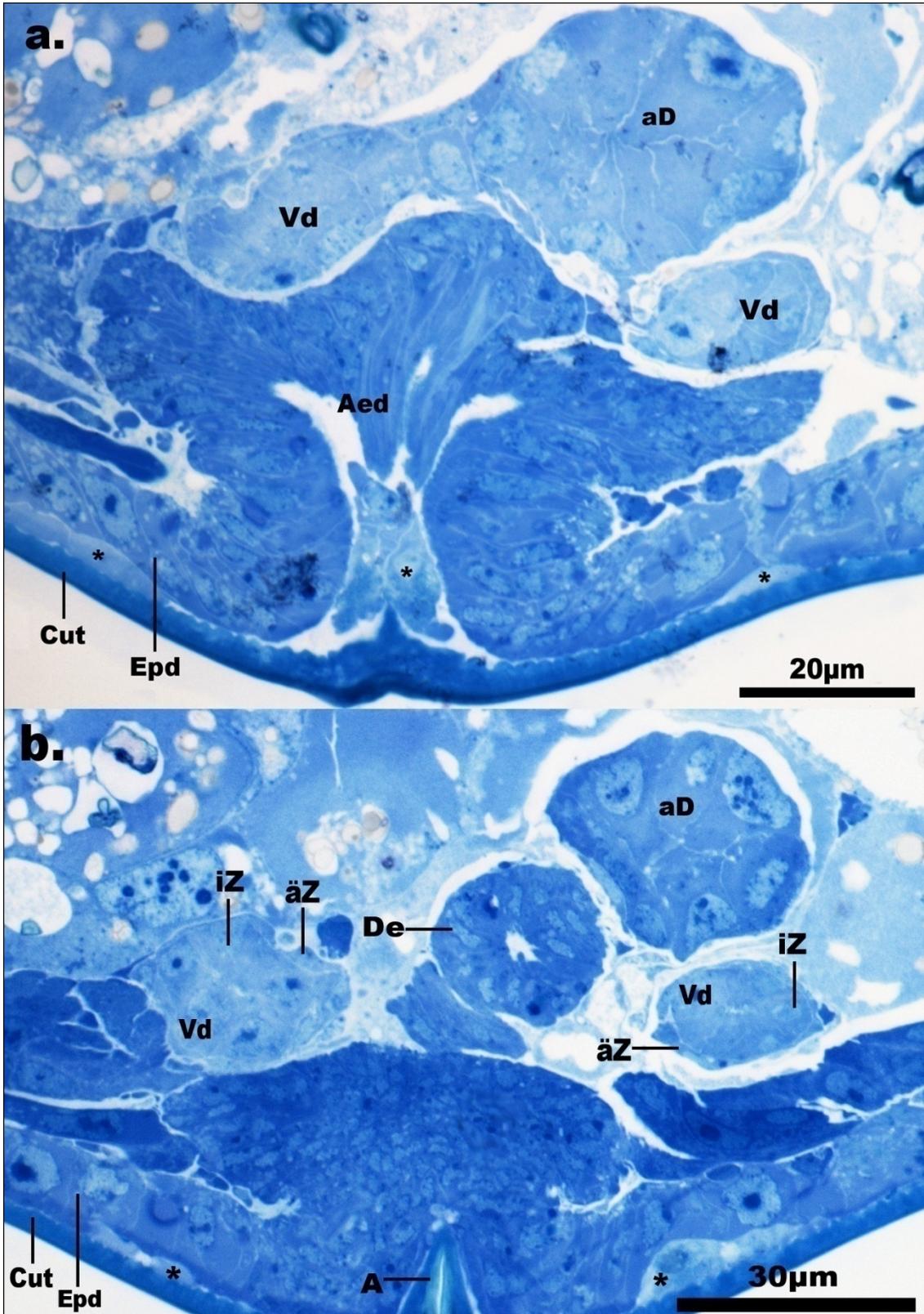


Abb.3.3.1.1: Erläuterung siehe S.31

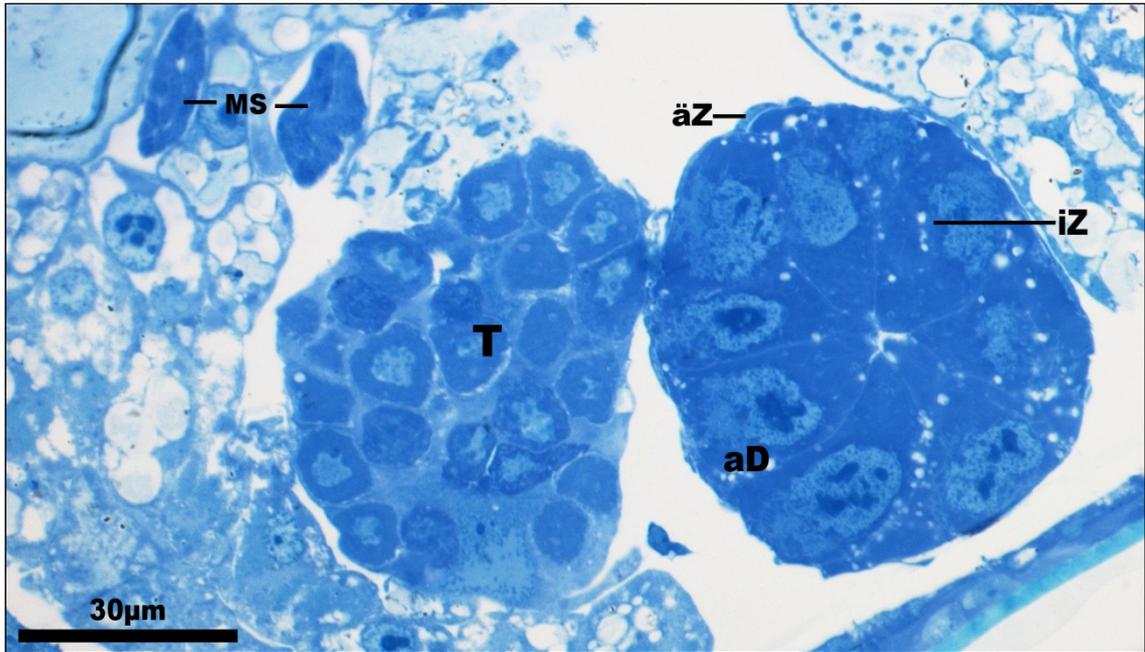


Abb.3.3.1.2: Querschnitt durch Hoden und akz. Drüse einer aktiven Tritonymphe, Richardson; aD – akz. Drüse, T – Hoden, iZ / äZ – innere / äußere Zelllage der akz. Drüse, MS – zu den Anlagen der adanaln Saugnäpfe ziehende dorsoventrale Zellstränge

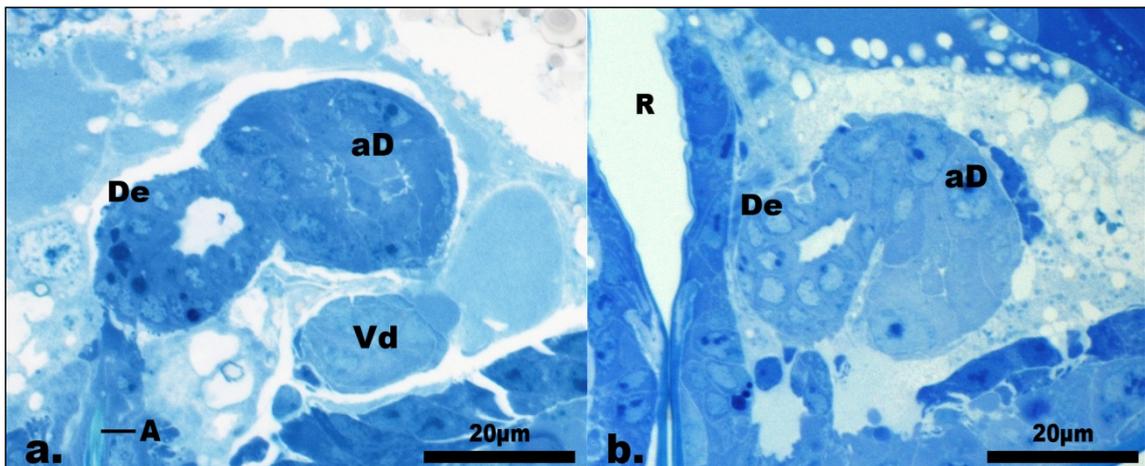


Abb. 3.3.1.3: Querschnitt durch die Verbindung zwischen Ductus ejaculatorius und akz. Drüse aktiver Tritonymphen, Richardson; a. am cranialen Ende der Analspalte; b. lateral des Rektums; A – Analspalte, aD – akz. Drüse, De – Ductus ejaculatorius, Vd – Vas deferens, R – Rektum

Gegenüberliegende Seite: Abb. 3.3.1.1: Querschnitte einer aktiven Tritonymphe, Richardson
 a. Schnitt durch die epidermale Einstülpung caudal der Genitalspalte; b. Anschnitt von Ductus ejaculatorius, akz. Drüse und Vasa deferentia; A – Analklappen, Aed – Aedeagus, aD- akz. Drüse, Cut – Cuticula, De – Ductus ejaculatorius, Epd – Epidermis, Vd – Vas deferens, iZ / äZ – innere / äußere Zelllage der Vasa deferentia, * subcuticuläre Zellen

3.3.2. Aktive männliche Tritonymphe - Struktur der Hoden

Die Hoden aktiver Tritonymphen können in zwei Regionen unterteilt werden. In der basalen, nahe dem Vas deferens gelegenen Region liegen locker angeordnete, runde Keimzellen mit einem Durchmesser von 10-12 μ m, bei denen es sich um reifende Spermatocyten I. Ordnung handelt. Der größere, apikale Anteil besteht aus variabel geformten, dicht gepackten Keimzellen mit stark gefärbtem Plasma und einem Durchmesser von 5-8 μ m - Spermatogonien oder auch kleineren Spermatocyten I. Ordnung (Abb.3.3.2.1a). Es besteht keine scharfe Trennung zwischen den beiden Regionen, es gibt Zellen oder Zellgruppen mittlerer Größe, die im Begriff scheinen, sich vom Rand des Pakets aus kleinen Keimzellen zu lösen. Im apikalen Teil der Hoden befindet sich, umgeben von kleinen Keimzellen, eine im Querschnitt elliptische Zelle mit einem Durchmesser von 30-50 μ m, einem großen Kern und stark gefärbtem Plasma (Abb.3.3.2.1b). Wie die zentrale Nährzelle der weiblichen Tritonymphe verfügt auch sie über einen großen, von Plasmasträngen durchzogenen Kern. Der größte Teil des Hodens wird bei der aktiven Tritonymphe von dieser zentralen Zelle sowie den kleineren Keimzellen gebildet. Die einzelnen, großen Keimzellen sind von einer stark verzweigten, zellulären Masse umgeben beziehungsweise in sie eingebettet, während die kleineren nur fallweise an der Peripherie durch diese voneinander getrennt sind (Abb.3.3.2.1a, 3.2.2.2a, 3.2.2.2b). Innerhalb dieser zellulären Masse, die im Folgenden als Hüllzelle bezeichnet wird, finden sich in einem Hoden immer zwei Zellkerne. Ob es sich hierbei um eine zweikernigen Zelle oder zwei Zellen mit je einem Kern handelt, konnte nicht festgestellt werden. Allerdings scheint die basale Region auf Sagittalschnitten manchmal in zwei Pakete unterteilt zu sein, die jeweils von einer Hüllzelle und den von ihr umschlossenen Keimzellen bestehen (Abb.3.2.2.2a).

In den Kernen der Keimzellen waren Chromatin sowie Nuage-Material am Zellkernrand sichtbar. In den größeren, in die Hüllzelle(n) eingebetteten Keimzellen wurde kein Nucleolus gefunden, nur in kleineren Keimzellen war er fallweise vorhanden. In den Kernen der Hüllzelle(n), ebenso wie in jenem der

zentralen Zelle, sind große Mengen an Chromatin in verschieden großen und dichten Aggregationen vorhanden.

Wie in den Ovarien der weiblichen wurden auch in den Hoden der männlichen aktiven Tritonymphen in Teilung befindliche Keimzellen gefunden (Abb.3.3.2.2a). Ein Hodenepithel war nicht erkennbar.

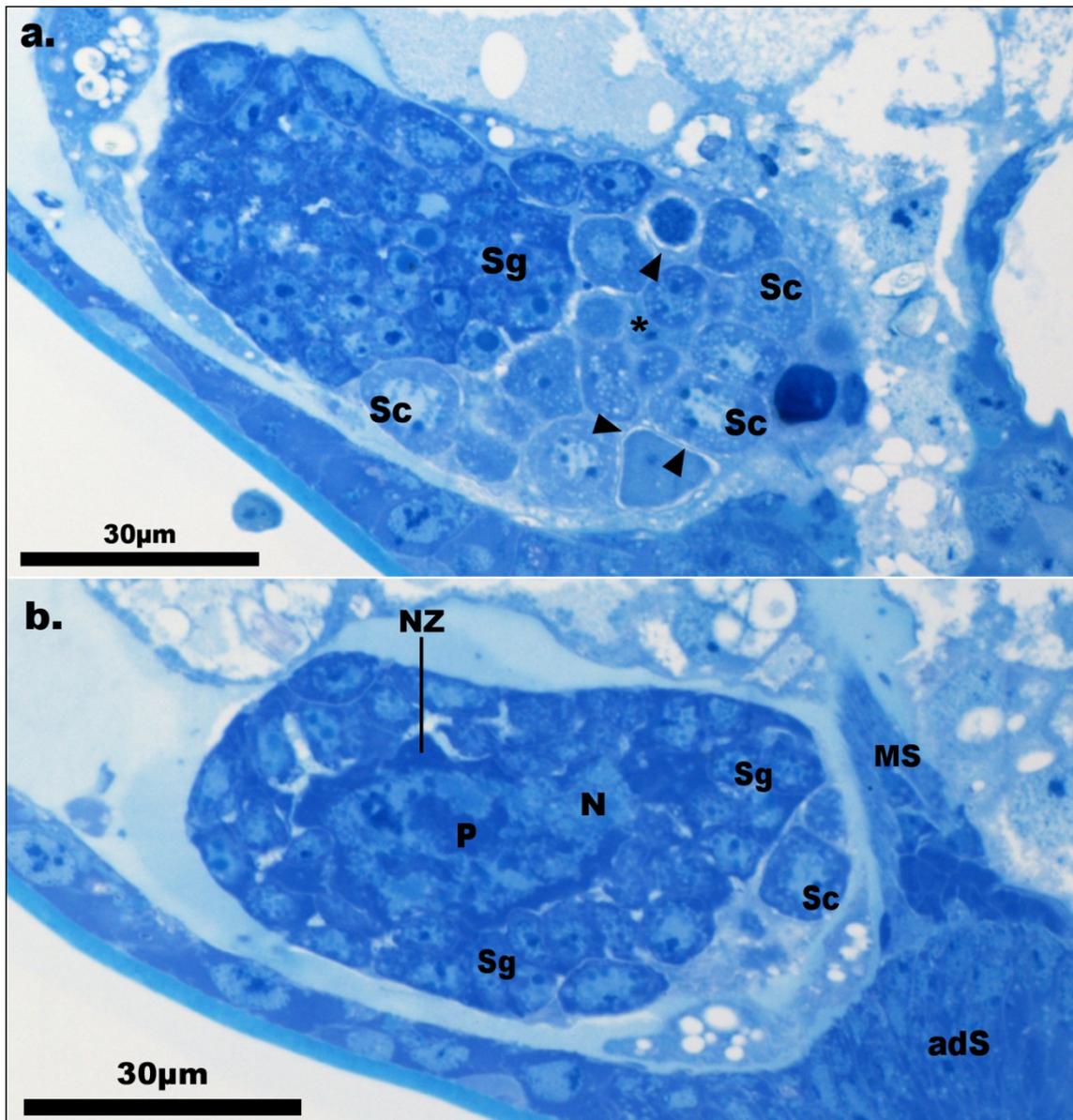


Abb.3.3.2.1: Hoden einer aktiven Tritonymphe, Ø, Richardson; a. Schnitt durch Übergang von basaler zu apikaler Region; b. Schnitt durch die apikale Region; adS – Anlage des adanal Saugnapfes (verdickte Epidermis), MS – zur Anlage des Saugnapfes ziehender dorsoventraler Zellstrang, N – Zellkern der zentralen Zelle, NZ – zentrale Zelle, P – Plasmastrang, Sc – Spermatocyten, Sg – Spermatogonien, ►Anschnitt(e) der Hüllzelle(n), * Kern der Hüllzelle(n)

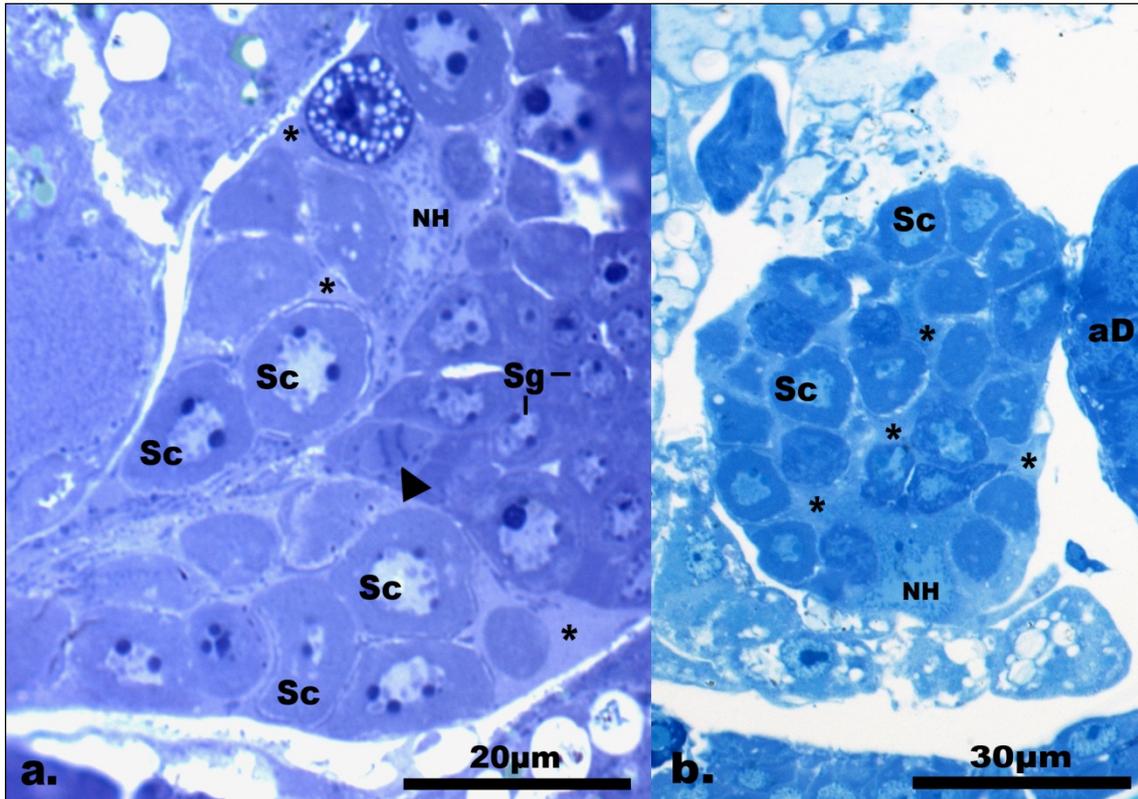


Abb.3.3.2.2: Hoden aktiver Tritonymphen; a. Sagittalschnitt durch die basale Region mit zwei Paketen aus Hüllzellen und Spermatocyten, Toluidinblau; b. Querschnitt durch die basale Region; aD – akz. Drüse, NH – Kern der Hüllzelle, Sc – Spermatocyten, Sg – Spermatogonien, ► Spermatogonie in Anaphase, * Anschnitte der Hüllzelle(n)

3.3.3. Pharate männliche Tritonymphe - Allgemeiner Aufbau

In der pharaten Phase erfolgt die Differenzierung der bereits bei der aktiven Tritonymphe angelegten, somatischen Strukturen wie z.B. der akzessorischen Drüse und dem Ductus ejaculatorius.

Der linke Hoden liegt stets hinter, teilweise auch zwischen den dorsoventral verlaufenden Muskeln der adanal Saugnäpfe. Er liegt außerdem im Vergleich zur aktiven Tritonymphe weiter nach dorsal verschoben, näher an der beim Adultus beschriebenen Position. Der linke Vas deferens zieht dadurch erst nach ventral und verläuft dann unter der Ventralseite der akzessorischen Drüse nach cranial. Die Lage des rechten Hodens und seines Vas deferens entsprechen dem Zustand in der aktiven Tritonymphe. Der zweischichtige Aufbau der Vasa deferentia ist größtenteils nicht erkennbar.

Während der pharaten Phase kommt es zu einer Größenzunahme der Hoden, wobei sich hier vor allem der Durchmesser auf 70-100µm vergrößert, während die Länge relativ konstant bleibt. Die akzessorische Drüse nimmt ebenso an Größe zu, hier insbesondere im caudalen Anteil, dessen Durchmesser bis zu 120µm beträgt. Der zweischichtige Aufbau der Drüse ändert sich im Grunde nicht. Die unauffällige äußere Zelllage stellt ein dünnes, die Drüse abgrenzendes Epithel dar. Die Zellen der inneren Schicht liegen wie bei der aktiven Tritonymphe um eine zentrale Achse – hier befindet sich nun ein Kanal mit einem Durchmesser von etwa 10µm. Besonders im caudalen Teil der akzessorischen Drüse nehmen die Zellen dieser inneren Schicht deutlich an Größe zu. Die Kerne liegen an der Peripherie, nach innen wird von jeder Zelle eine große, zum zentralen Kanal hin offene Zisterne mit einem Durchmesser von bis zu 25µm gebildet (Abb.3.3.3.1).

Der von der Genitalspalte nach caudal, links neben dem Rektum verlaufende Ductus ejaculatorius ist mit einer dünnen Cuticula ausgekleidet (Abb.3.3.3.2a). Sein Lumen ist am caudalen Ende stark erweitert und steht erst bei Tieren, die 18 Stunden oder länger pharat waren, direkt mit dem zentralen Kanal der akzessorischen Drüse in Verbindung (Abb.3.3.2.2b, 3.3.2.3). Es entsteht eine

mit Drüsensekret gefüllte Blase (Abb.3.3.3.2b). Die Einmündungen beider Vasa deferentia liegen cranial dieser Blase.

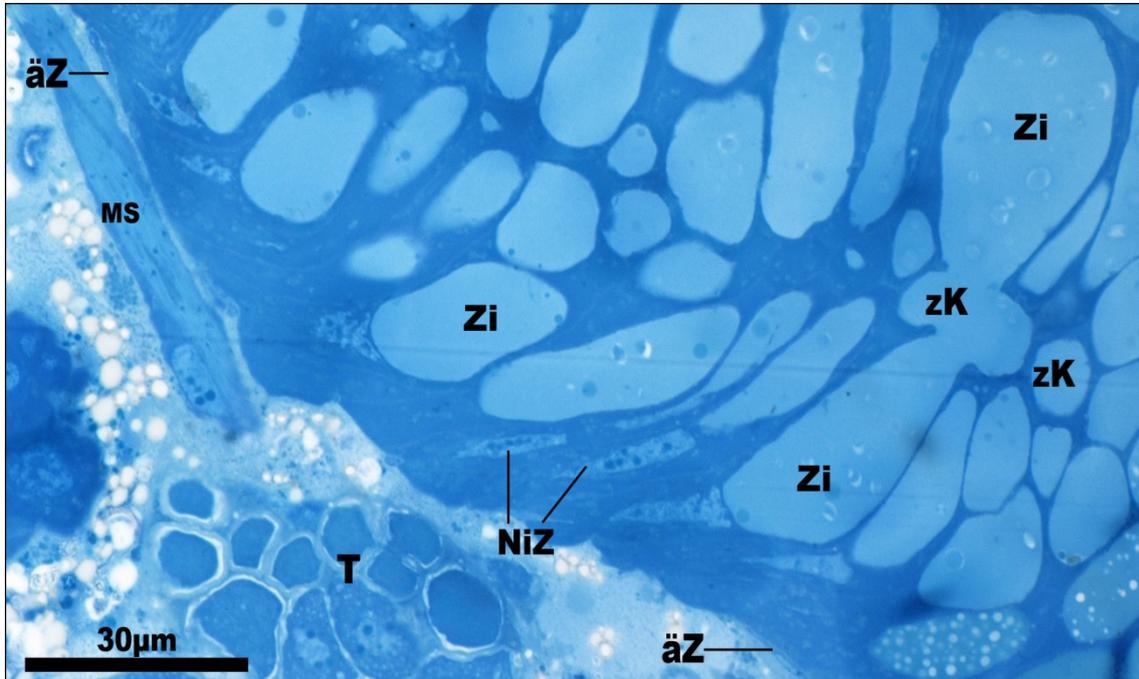


Abb.3.3.3.1: Akzessorische Drüse - Querschnitt durch eine pharate Tritonymphe (18h oder länger pharat), Richardson; Ms – Dorsoventraler Muskelstrang eines adanal Saugnapfes, NiZ- Zellkerne der innern Zelllage der akz. Drüse, T – Hoden, Zi – Zisterne der akz. Drüse, zK – zentraler Kanal der akz. Drüse, äZ – äußere Zelllage der akz. Drüse

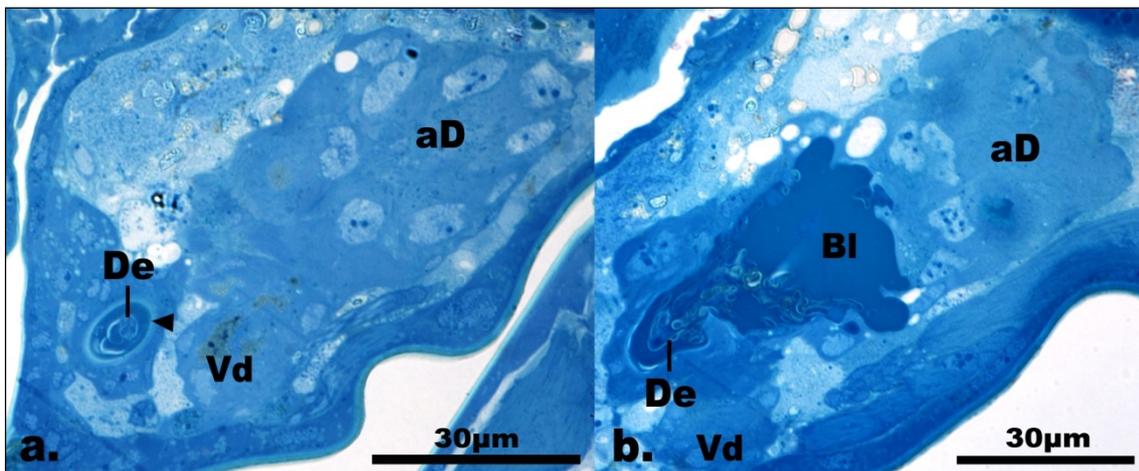


Abb.3.3.3.2: Querschnitt durch den anterioren Anteil der akz. Drüse und Ductus ejaculatorius der pharaten Tritonymphe (18h oder länger pharat), Richardson; a. Anschnitt des Ductus ejaculatorius; b. Sekretgefüllte Blase am Übergang von akz. Drüse zu Ductus ejaculatorius; aD – akessorische Drüse, Bl – sekretgefüllte Blase, De - Ductus ejaculatorius, Vd – Vas deferens, ► Cuticula des Ductus ejaculatorius

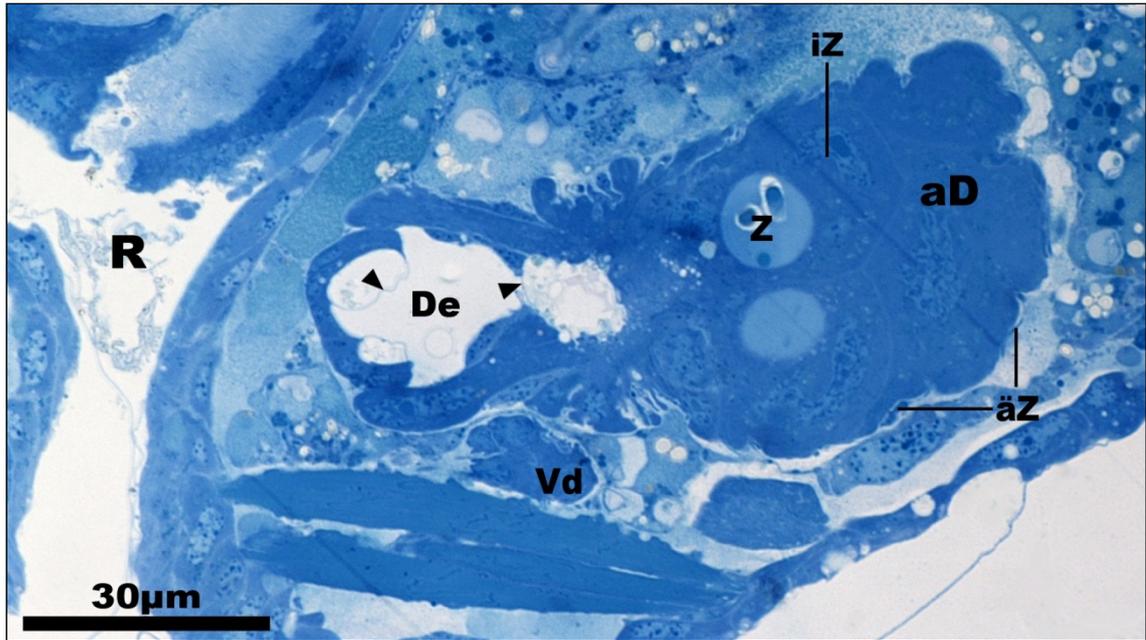


Abb.3.3.3.3: Querschnitt durch den anterioren Anteil der akz. Drüse und Ductus ejaculatorius einer pharaten Tritonymphe (8-12h pharat), Richardson; aD – akessorische Drüse, De - Ductus ejaculatorius, R – Rektum, Vd – Vas deferens, Z – Zisterne des anterioren Anteils der akz. Drüse, iZ / äZ – innere / äußere Zelllage der akz. Drüse, ► Cuticula des Ductus ejaculatorius

3.3.4. Pharate männliche Tritonymphe - Struktur der Hoden

Im Vergleich zur aktiven Tritonymphe nimmt bei der pharaten die Zahl besonders der reifenden Spermatocyten im Hoden zu. Die von kleineren Keimzellen umgebene zentrale Zelle im apikalen Teil des Hodens ist mit 30-40µm etwa gleich groß wie in der aktiven Phase.

Neben den bereits bei der aktiven Tritonymphe beschriebenen großen und kleinen Keimzellen gibt es in der basalen Region der Hoden der pharaten Tritonymphe auch intensiv angefärbte Zellen, die keinen erkennbaren Kern besitzen (Abb.3.3.4.1a, 3.3.4.1b). Sie können alleine vorliegen und sind dann mit 10-12µm etwa so groß wie reife Spermatocyten I. Ordnung, oder kommen in Paaren und Tetraden vor. In den beiden letztgenannten Fällen verfügen sie nur über die halbe beziehungsweise ein Viertel der Größe der größeren Keimzellen und sind teilweise durch Plasmabrücken miteinander verbunden, was der Zellgruppe dann ein jeweils hantel- oder kleeblattförmiges Aussehen verleiht. Die Zellen sind einzeln in die Hüllzelle eingebettet. Bei ihnen handelt es sich um Spermatocyten II. Ordnung.

Des Weiteren gibt es im basalen Teil der Hoden runde Ballen aus jeweils vier variabel geformten Zellen (Abb.3.3.4.1b). In ihnen ist ebenfalls kein klar abgegrenzter Kern erkennbar. In ihrem Plasma ist jedoch gefärbtes Material sichtbar, bei dem es sich um Chromatin handeln könnte. Die Gesamtgröße eines dieser Ballen entspricht wiederum der einer reifen Spermatocyte I. Bei diesen Zellen handelt es sich um Spermatiden. Der Vas deferens bildet am Übergang in den Hoden eine trichter- oder becherförmige Struktur, in welcher sich Ansammlungen dieser Spermatiden befinden (Abb.3.3.4.2, 3.3.4.3). Im Schnitt von apikal nach basal erscheint der Hoden in vier Sektoren unterteilt: ein apikal liegendes Paket aus kleinen Keimzellen und zentraler Zelle, die basal liegende, becherförmige Struktur sowie zwei dazwischen liegende Pakete aus Spermatocyten I. und II. Ordnung sowie Spermatiden (Abb. 3.3.4.3). In diesen beiden Paketen ist zwischen den einzelnen Zellen je ein Kern zu erkennen, welcher der Hüllzelle (bzw. den Hüllzellen) zuzuordnen ist. Je länger die Tiere

in der pharaten Phase sind, desto mehr Spermatocyten I. und II. Ordnung und Spermatischen sind vorhanden.

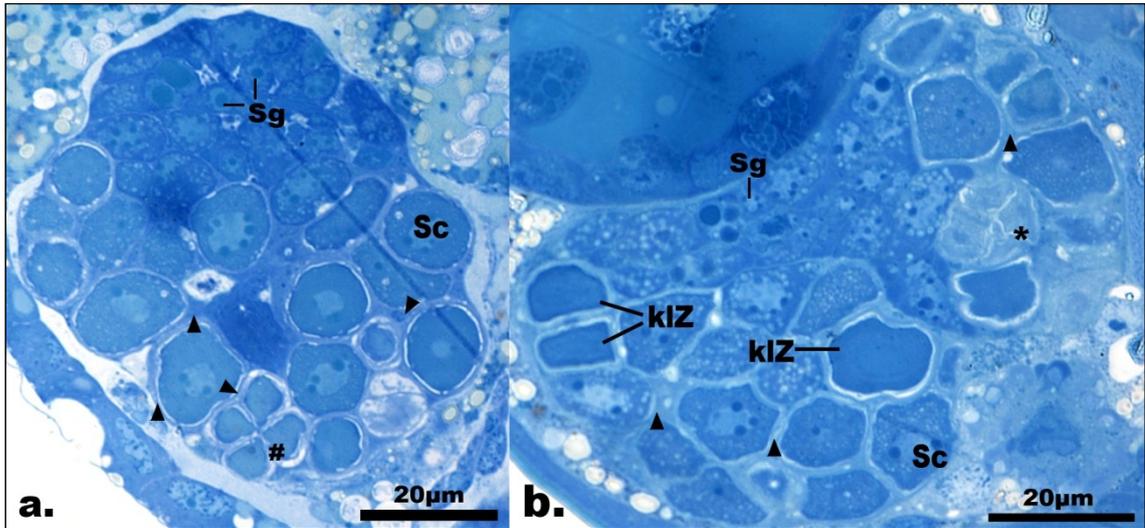


Abb.3.3.4.1: Hoden der pharaten Tritonymphe, Ø, Richardson; a. Tetrade von Spermatocyten II, 8-12h pharat; b. Ballen aus vier Spermatischen, 18h oder länger pharat; Sc – Spermatocyten, Sg – Spermatogonien, klZ – „kernlose“ Zellen, ▶ Anschnitte der Hüllzelle(n), * Ballen aus vier Spermatischen, # Tetrade von Spermatocyten II

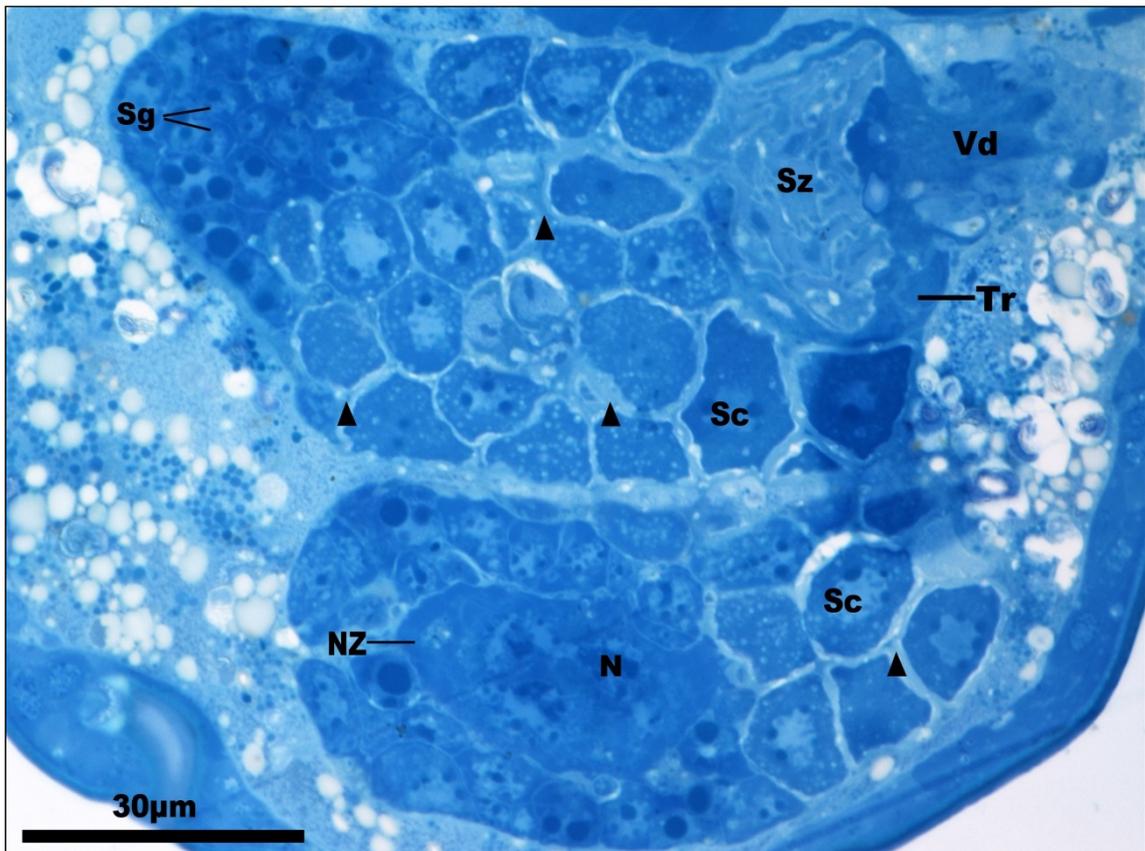


Abb.3.3.4.2: Schnitt durch beide Hoden, pharate Tritonymphe (18h oder länger pharat), Ø, Richardson; N – Kern der zentralen Zelle, NZ – zentrale Zelle, Sc – Spermatocyten, Sg – Spermatogonien, Sz – Spermatischen, Tr – Trichter an der Basis des Hodens, Vd – Vas deferens, ▶ Anschnitte der Hüllzelle(n)

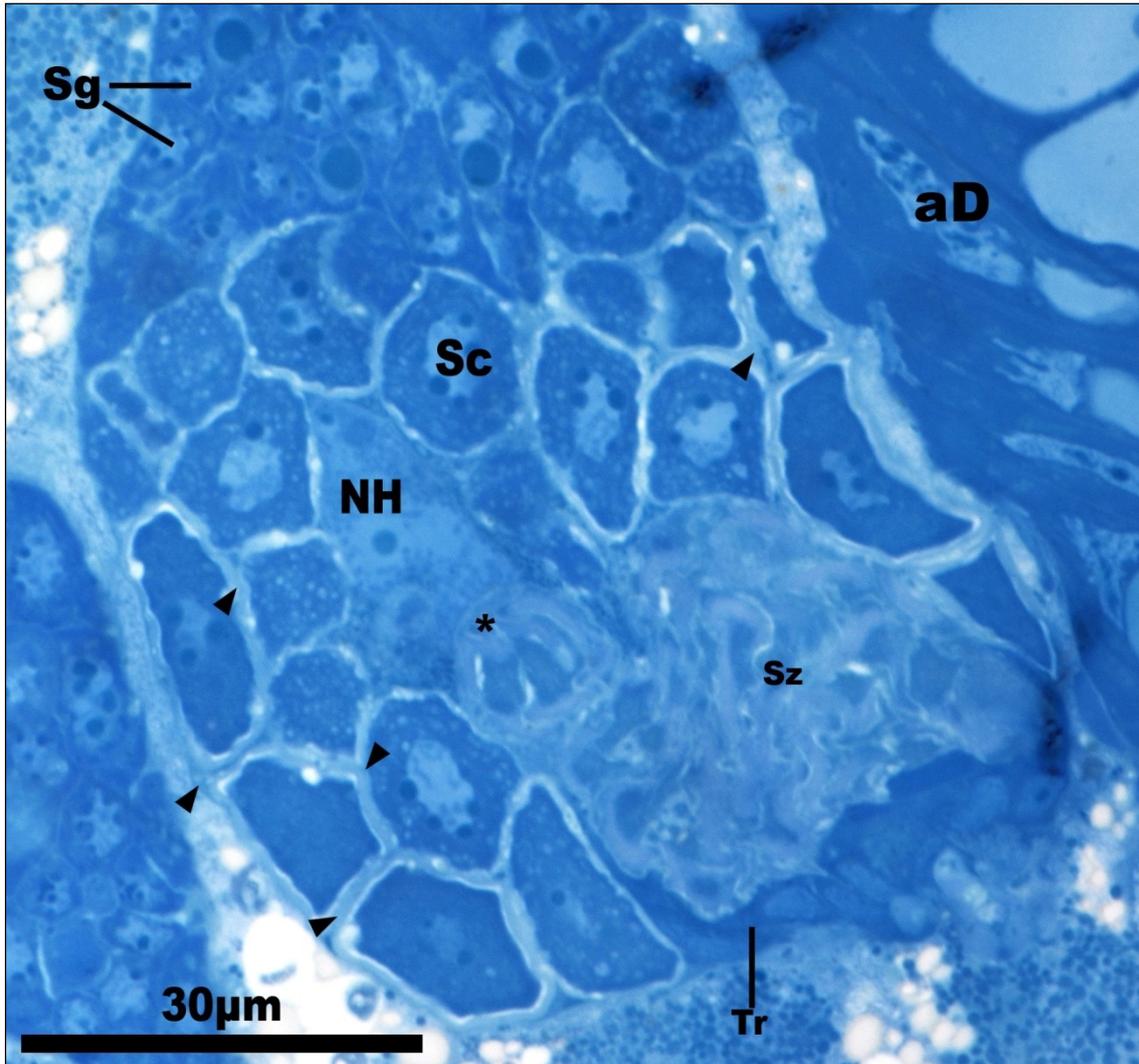


Abb.3.3.4.3: Schnitt durch den Hoden einer pharaten Tritonymphe (18h oder länger pharat), Ø, Richardson; aD – akz. Drüse, NH – Kern der Hüllzelle, Sc – Spermatocyten, Sg – Spermatogonien, Sz – Spermatiden, Tr – Trichter an der Basis des Hodens, Vd – Vas deferens, ► Anschnitte der Hüllzelle(n), * Ballen aus vier Spermatiden

4. DISKUSSION

4.1 Der Genitaltrakt der weiblichen Tritonymphe

Vom Genitaltrakt der Weibchen (Prasse 1968, 1970; Witaliński & Walzl 1995, Klien 2007, Schwaha et al. 2008, Klien & Walzl 2010) sind in aktiven weiblichen Tritonymphen folgende Strukturen ebenfalls ausgebildet bzw. angelegt: der inseminatorische Anteil des Genitaltrakts, die Ovarien sowie die Ovidukte und die präoviporale Kammer, die Strukturen der Genitalspalte mit vier Genitalpapillen sowie die des Ovipositors.

Bei verschiedenen Arten der Acaridida wird im Ovar der Weibchen eine Nährzelle beschrieben (*S. berlessei*: Prasse 1968, 1970; Witaliński & Walzl 1995, Klien 2007, Schwaha et al. 2008; *Acarus siro*: Witalinsky et al. 1990, *Sarcoptes scabiei*: Desch 2001, *Psoroptes spp.*: Lekimme et al. 2005). Die bei *Caloglyphus mycophagus* beschriebene „zentrale Region“ (Heinemann & Hughes 1970) dürfte ebenfalls eine solche Nährzelle darstellen.

Diese Nährzelle ist bei der aktiven Tritonymphe bereits vorhanden und verfügt schon in der aktiven Phase wie bei den Adulti über einen Kern, dessen Form von Schwaha et al. (2008) als verzweigt oder verästelt bezeichnet wird, da er als von Plasmasträngen durchzogene Masse erscheint. Da sie allseits von Keimzellen umgeben ist, kann die Nährzelle als zentral bezeichnet werden - anders als bei den Adulti, wo sie randständig ist (Schwaha et al. 2008). Bereits in der aktiven Tritonymphe treten Oogonien in die Wachstumsphase ein und nehmen über Plasmabrücken Verbindung mit der Nährzelle auf (Prasse 1968, Witaliński & Walzl 1992, Klien 2007, Schwaha et al. 2008, Klien & Walzl 2010). Es kann daher angenommen werden, dass sie ihre von Prasse (1968) beschriebene Nährfunktion schon während der aktiven Phase ausübt.

Die ellitischen Untereinheiten des Kernes der zentralen Zelle, welche auf peripheren Anschnitten zu sehen sind, könnten einen Hinweis auf eine Vereinigung mehrerer Kerne zu einem polyploiden Kern darstellen. Dies

entspräche der Darstellung von Prasse (1968), nach welcher die zentrale Zelle aus einem Zusammenschluss mehrerer einzelner Zellen hervorgeht. Zudem konnten keine Hinweise auf Kernteilungen in der zentralen Zelle nachgewiesen werden, was gegen eine polyenergide Zelle spricht (vgl. Bier 1967) - falls die Vermehrung der Kerne nicht bereits vor der aktiven Phase ihren Abschluss findet.

Es konnten keine reifenden Keimzellen gefunden werden, die sich von der zentralen Nährzelle entfernt oder komplett losgelöst hatten (Prasse 1968, Klien 2007, Klien & Walzl 2010), es konnte auch kein Hinweis auf eine Reduktionsteilung der reifenden Oocyten noch während der pharaten Phase gefunden werden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Prasse (1968) und Schwaha (2007), wonach die Reduktionsteilungen erst nach der Befruchtung in den Ovidukten stattfinden (Nalepa 1885, Helle 1967, Smith & Boudreaux 1972, Klien & Walzl 2010).

Mitotische Zellteilungen konnten in den Ovarien aktiver und pharater Tritonymphen in Oogonien, die noch nicht in die Wachstumsphase eingetreten waren, gefunden werden. Innerhalb der zentralen Zelle wurden, wie beschrieben, keine Hinweise auf Kernteilungen gefunden. Bei rein mitotischer Vermehrung von Keimzellen wäre die zentrale Zelle demnach auch im Tritonymphenstadium nicht als Keimlager anzusprechen (vgl. Prasse 1968, Heinemann & Hughes 1970).

Andererseits wurden in den Ovarien Oogonien gefunden, die mit der Nährzelle über nicht auffällig gefärbte Plasmastege in Verbindung standen. Dies könnte darauf hindeuten, dass Keimzellen von der Nährzelle gebildet werden und sich anschließend mitotisch vermehren. Demzufolge wäre die zentrale Zelle sehr wohl als Keimlager anzusprechen (vgl. Nalepa 1884, Hughes & Hughes 1938, Perepelkina-Christopulo 1940). Die von ihr gebildeten Oogonien würden sich nach ihrer Bildung vor dem Eintritt in die Wachstumsphase aber zusätzlich noch durch Mitose vervielfältigen. Es kann allerdings nicht ausgeschlossen werden, dass es sich bei den genannten Plasmaverbindungen um Artefakte der histologischen Bearbeitung oder Keimzellen am Beginn der Wachstumsphase

handelt, bei denen diese Verbindung zur Nährzelle noch nicht mit stark gefärbtem Material gefüllt ist.

Zusammenfassend kann die mitotische Vermehrung von Keimzellen als erwiesen betrachtet werden, während eindeutige Belege für die Rolle der zentralen Nährzelle als Keimlager nicht vorliegen. Dass die Nährzelle ein Synzytium aus Zellen der Keimbahn darstellt ist wahrscheinlich, wäre aber erst durch Untersuchungen von Protonymphen eindeutig zu klären.

Eine die Keimzellen umgebende Mantelzelle wird in den Ovarien der Weibchen nicht beschrieben (Prasse 1968, Klien 2007, Schwaha 2007, Schwaha et al. 2008, Klien & Walzl 2010). Da sie in den Ovarien älterer pharater Tritonymphen immer weniger prominent erscheint, ist es möglich, dass sie gegen Ende der pharaten Phase oder kurz nach der Adulthäutung so weit zurückgebildet wird, dass sie im adulten Ovar nicht mehr als distinkte Struktur auffällt.

Heinemann & Hughes (1970) erwähnen bei *C. mycophagus*, ebenso wie Desch (2001) bei *S. scabiei*, keine somatischen Zellen im Ovar. Walzl (1992) beschreibt bei *Dermatophagoides farinae* und *D. pteronyssinus* somatische Zellen mit schwach gefärbtem Plasma innerhalb des Ovars, ordnet ihnen jedoch keine Funktion zu. Bei *Psoroptes spp.* werden somatische Geleitzellen innerhalb des Ovars erwähnt, denen eine Rolle bei der Keimzellenreifung und Induktion der Vitellogenese zugesprochen wird (Lekimme et al. 2005).

Da für die Adulti von *S. berlesei* über eine Mantelzelle oder somatische Zellen keine Beschreibungen vorliegen, kann über ihre Funktion im Ovar der Tritonymphe nur spekuliert werden. Ihr großer Zellkern ist reich an Chromatin, somit könnte es sich um eine polyploide Zelle von hoher Aktivität handeln, die, ebenso wie die zentrale Zelle, Nährfunktion ausübt (vgl. Prasse 1968, Walzl 1992). Es muss jedoch erwähnt werden, dass anders als bei der zentralen Zelle keine Zellverbindungen zwischen Mantel- und Keimzellen gefunden wurden. Eine Funktion in der Keimzellenreifung und Vitellogenese (Lekimme et al. 2005) ist aufgrund des Fehlens einer Mantelzelle in den Ovarien der Adulti unwahrscheinlich. Zudem findet die Vitellogenese bei *S. berlesei* nach der Befruchtung im Ovidukt statt (Schwaha 2007).

Das Ovarialepithel ist bei aktiven Tritonymphen lichtmikroskopisch nicht vollständig nachweisbar. Es scheint, als würde sich die innere Zellschicht des Ovidukts von jener Region, wo dieser in Kontakt mit dem Ovar steht – vom anterioventralen Pol nach posteriodorsal – als Ovarialepithel über die Oberfläche der Mantelzelle ausbreiten. Möglich wäre allerdings auch, dass das Epithel in der posteriodorsalen Region so dünn ist, dass es lichtmikroskopisch nicht nachweisbar ist. Eine Funktion der Mantelzelle bei der Differenzierung des Ovarialepithels kann nicht ausgeschlossen werden.

In der pharaten Phase bildet der mediodorsale Anteil des Ovarialepithels einen Fortsatz, welcher allem Anschein nach die Anlage des Ductus conjunctivus darstellt. Die Entstehung desselben aus dem Ovarialepithel entspricht den Beschreibungen von Prasse (1970) und Klien (2007), wonach das Ovarialepithel direkt in die Ducti conjunctivi übergeht. Von Prasse (1970) und Klien & Walzl (2009) wurde eine cuticuläre Auskleidung eines Teils der Ducti conjunctivi beschrieben. Demnach müssten die Ducti conjunctivi zumindest zum Teil aus dem Receptaculum hervorgehen. Demensprechende Strukturen konnten jedoch nicht gefunden werden. Da allerdings die endgültige Verbindung von Receptaculum und Ducti conjunctivi in den untersuchten pharaten Tritonymphen ebenfalls nicht gefunden wurde – nach Hughes & Hughes (1938) entsteht sie erst während oder nach der Adulthäutung – kann eine solche Bildung nicht ausgeschlossen werden. Diese würde wiederum die Sicht von Witalińsky & Walzl (1992) und Perepelkina-Christopulo (1940) erklären, wonach die Ducti conjunctivi aus der Basis des Receptaculum seminis hervorgehen.

Die Ovidukte ziehen von der cranioventralen Region der Ovarien nach craniad und bilden dabei eine S-förmige Schleife. Sie vereinigen sich über der Genitalspalte zur Ovidukttasche, der späteren präoviporalen Kammer, und stehen mit der ectodermal gebildeten, bläschenförmigen Anlage des Ovipositors in Verbindung. Die Bildung der Ovidukte, der Kammer sowie dieser Anlage muss bereits vor dem aktiven Tritonymphenstadium erfolgen (Hughes & Hughes 1938).

Prasse (1970) beschreibt die Ovidukte als einschichtig und von einer Muscularis umgeben und gibt an, dass das Ovarialepithel direkt in das Epithel der Ovidukte übergeht. Dies entspricht den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Die äußere, dünnere Zellschicht entspricht der Muscularis und endet am Übergang zum Ovar, während die innere Zellschicht in das Ovarialepithel übergeht.

Abgesehen von den Ducti conjunctivi, welche, wie beschrieben, zumindest zum Teil aus dem Ovarialepithel hervorgehen, entsteht der gesamte inseminatorische Anteil des weiblichen Genitaltrakts aus einer postanal epidermalen Invagination und ist somit ectodermalen Ursprungs (Hughes & Hughes 1938). Nach Klien (2007) sowie Klien & Walzl (2010) besteht das Receptaculum aus einer äußeren zellulären sowie zwei azellulären inneren Hüllen. Prasse (1970) hingegen beschreibt drei „feine Hüllen“ innerhalb einer epitheliären Blase, wobei die äußerste als „abgelöste Intima des Epithels“ gedeutet wird (Abb. 4.1) – womöglich eine Erklärung, warum Klien & Walzl (2010) nur von zwei azellulären Hüllen sprechen. Bei genauer Betrachtung der entsprechenden Abbildung kann in der Arbeit von Klien & Walzl (2010) an der zellulären Hülle auch eine Cuticula ausgemacht werden.

Während des mittleren Abschnitts der pharaten Phase des Tritonymphenstadiums besteht das Receptaculum aus drei ineinander übergehenden Zellschichten, von denen die innerste einen von einer Cuticula ausgekleideten Hohlraum bildet. Dies wird folgendermaßen interpretiert:

Die beschriebene postanale ectodermale Invagination bildet an ihrer Basis einen Stiel aus, wodurch die bläschenförmige Anlage des Receptaculum seminis nach dorsal geschoben wird. Dieser Stiel wird zum Canalis copulator.

Von der apikalen Spitze des Receptaculum seminis senkt sich ein fingerförmiger Fortsatz in das Lumen desselben ab. Da sich zwischen den beiden inneren Zellschichten kein Lumen mit einer Öffnung zum Körperinneren nachweisen lässt, ist nicht davon auszugehen, dass es sich um eine Invagination handelt. Eine Ingression von Zellen in das Lumen des Receptaculum seminis scheint ebenso unwahrscheinlich, da epidermale Zellen

vom Körper „nach außen“ abgegeben werden müssten. Es kann sich demnach um eine Delamination oder Involution handeln.

Von der Spitze des auf den Canalis copulator weisenden fingerförmigen Fortsatzes wird nun wiederum in Richtung der apikalen Spitze des Receptaculum seminis eine Einstülpung gebildet (Abb. 4.2).

Bei der gesamten dreischichtigen Struktur handelt es sich um ectodermales Epithel, somit kann von der Innenseite der innersten Zellschicht sowie zwischen der äußeren und der mittleren Zellschicht grundsätzlich Cuticula gebildet werden. Im Hohlraum der innersten Schicht, dem Innenraum bei Prasse (1970), liegt tatsächlich eine Cuticula vor. Die Bildung von insgesamt zwei solcher Schichten zwischen den beiden äußeren Zellschichten ist möglich, wenngleich sie nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte. Somit kann angenommen werden, dass es sich bei den drei im adulten Receptaculum beschriebenen azellulären Hüllen tatsächlich um, zum Teil in Falten gelegte, Cuticula handelt, welche bei Prasse (1970) als innere, mittlere und äußere Cuticula bezeichnet wird. Die beiden inneren Zellschichten müssten demnach gegen Ende der pharaten Phase aufgelöst oder reduziert werden. Ein solcher Zustand würde diese Hypothese untermauern, konnte jedoch im vorliegenden Material nicht gefunden werden.

Die dargelegte Hypothese erklärt die von Prasse (1970) beschriebene Verbindung der äußeren mit der mittleren Hülle am apikalen, dorsal gelegenen Pol des Receptaculum seminis (Abb. 4.1) und bietet eine Erklärung, wie Spermien aus dem Innenraum in die Ducti conjunctivi gelangen können: die innere und mittlere Hülle gehen direkt ineinander über und liegen der Receptaculumbasis eng an, ohne jedoch fest mit ihr verbunden zu sein. Dadurch bleibt ein für die Passage von Spermien geeigneter Spalt offen. Da in der apikalen Spitze der inneren Hülle laut Prasse (1970) eine kleine Öffnung besteht, die auch im vorliegenden Material gefunden wurde, lässt sich durch die angeführte Hypothese außerdem erklären, wie Ejakulat zwischen die innere und mittlere azelluläre Hülle, in den von Prasse (1970) beschriebenen Mittelraum, gelangen kann.

Ein Transfer der Spermien aus dem Innenraum in die Ducti conjunctivi entspricht außerdem den Ergebnissen von Radwan (1991), nach welchen die Spermien des jeweils letzten verpaarten Männchens mehrheitlich zur Befruchtung gelangen – die Spermien aus den vorangegangenen Paarungen würden in den apikalen Teil des Innenraums und durch die schmale Öffnung auch in den Mittelraum verdrängt.

Nach Prasse (1970) und Witalinsky et al. (1990) sind die azellulären Hüllen im Receptaculum seminis cuticulärer Natur. Dies entspricht den Ergebnissen dieser Arbeit, wobei über ihre Entstehung, über die Prasse (1970) nur Vermutungen anstellen konnte, nunmehr genauere Angaben möglich sind. Die postanale Invagination, welche die Anlage des inseminatorischen Anteils des Geschlechtstraktes darstellt, besitzt während der aktiven Phase keine Cuticula. Einzelne Komponenten wie beispielsweise der Canalis copulator sind nicht ausgebildet. Somit kann es sich bei den azellulären Hüllen im Receptaculum nicht um die von Prasse 1970 beschriebenen Reste der Häutung von der Proto- zur Tritonymphe handeln. Alle drei azellulären Hüllen entstehen erst bei der pharaten Tritonymphe.

Da das Receptaculum seminis, der Canalis copulator und auch die Bursa copulatrix aus der bei der aktiven Tritonymphe beschriebenen Anlage hervorgehen, ist in Frage zu stellen, ob sie als Receptaculum seminis bezeichnet werden kann (vgl. Perepelkina-Christopulo 1940, Vitzhum 1947). Es scheint daher angebracht, sie einfach „postanale Invagination“ zu nennen.

Der Canalis copulator wird nach Prasse (1970) und Desch (2001) während der pharaten Phase zu einem cuticulär ausgekleideten, epithelialen Rohr. Hinweise darauf, dass es sich bei diesem Epithel um ein Synzytium handelt, konnten nicht gefunden werden (Prasse 1970).

Während der Anfertigung der Schnittserien ergab sich das Problem, dass das Hinterende des bearbeiteten Tieres als Ganzes aus dem Harzblock ausbrach. Dadurch konnte die Ausbildung der Bursa copulatrix nicht untersucht werden.

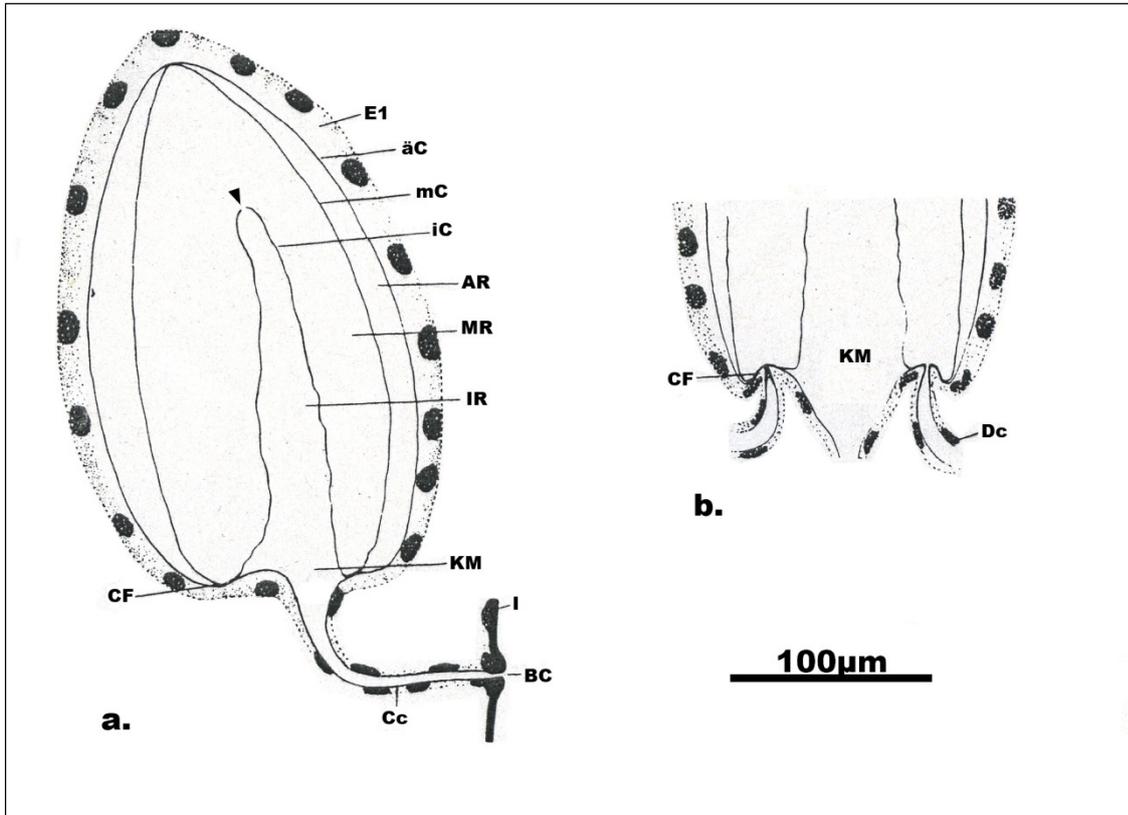


Abb.4.1: Schema des Receptaculum seminis, verändert nach Prasse (1970); a.: Medianschnitt, b.: Transversalschnitt durch die Basis des Rec. sem.; E1 - Epithel des Rec. sem., äC / mC / iC – äußere / mittlere / innere Cuticula, AR / MR / IR – Außen- / Mittel- / Innenraum, CF – Chitinfeld, KM – Kopulationskanalmündung, Cc – Canalis copulator, Dc – Ductus conjunctivus, ► Öffnung in der inneren Cuticula

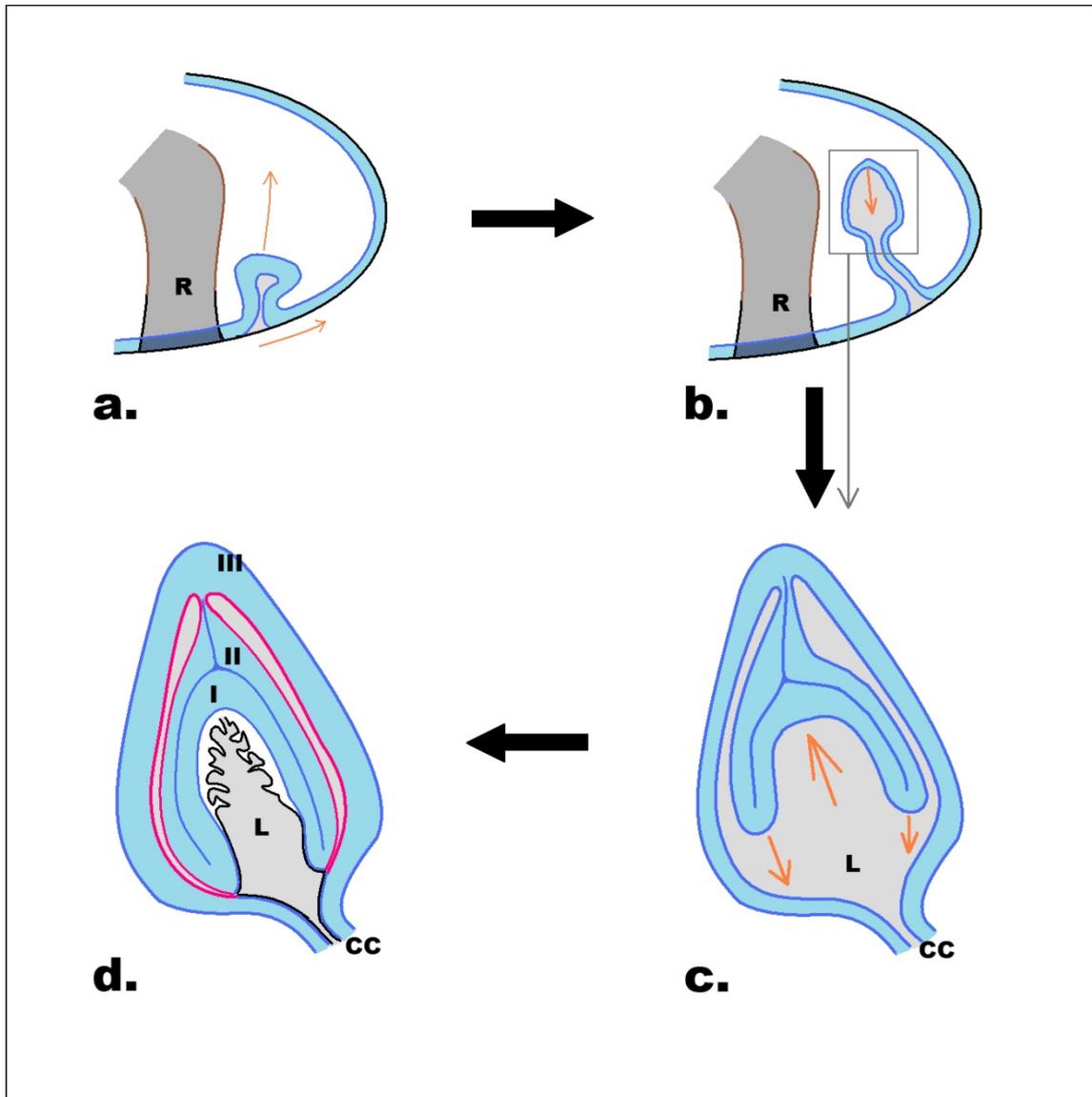


Abb. 4.2: Schematische Darstellung der (hypothetischen) Differenzierung des Receptaculum seminis bei der pharaten Tritonymphe; a.: Lage der postanalen Invagination am Beginn der pharaten Phase, b.: Ausbildung des Stiels (Canalis copulator) nach Beginn der pharaten Phase, c.: Bildung der mittleren Zelllage vom apikalen Pol in das Lumen des Rec. sem. und Abfaltung der inneren Zelllage, d.: Sekretion von Cuticula an der Oberfläche der Epidermis nach etwa der Hälfte der pharaten Phase; I / II / III – innere / mittlere / äußere Zelllage, R - Rektum, L - Lumen des Rec. sem., CC – Canalis copulator; schwarz – Cuticula, blau – Epidermis, pink – zur Bildung von Cuticula befähigte Region des Epithels (mögliche Bildung der äußeren und mittleren Cuticula), orangene Pfeile: Richtung der Differenzierung zur jeweils nächsten Abbildung

4.2. Der Genitaltrakt der männlichen Tritonymphe

Vom Genitaltrakt der Männchen (Prasse 1968, 1970; Witaliński & Walzl 1995) sind in aktiven männlichen Tritonymphen folgende Strukturen ebenfalls ausgebildet bzw. angelegt: die akzessorische Drüse, die Hoden sowie die Vasa deferentia, die Genitalspalte mit vier Genitalpapillen sowie der Aedeagus und der Ductus ejaculatorius. Die Differenzierung dieser Strukturen ist nicht allein auf die pharate Phase beschränkt.

Die topographische Lage der inneren Geschlechtsorgane entspricht nur zum Teil den von Witaliński & Walzl (1995) beschriebenen Verhältnissen der Adulti. Der linke Hoden liegt noch ventral der akzessorischen Drüse, welche noch nicht ihre endgültige Größe erreicht hat und somit nicht den gesamten Hinterleib caudal der adanalen Saugnäpfe ausfüllt. Es muss daher angenommen werden, dass die Hoden erst im Verlauf der pharaten Phase ihre endgültige Lage im Hinterleib einnehmen.

Wie die Hoden der Männchen verfügen auch jene der männlichen Tritonymphe in ihrer apikalen Region über eine zentrale Zelle, die von kleinen Keimzellen umgeben ist. Diese Keimzellen stellen laut Prasse (1968) das Keimlager dar, welches Oogonien und Spermatocyten I. Ordnung beinhaltet. Distinkte Zellgrenzen zwischen der zentralen Zelle und einzelnen Keimzellen sind teilweise nur schwer zu erkennen. Für die von Prasse (1968) beschriebenen Zellverbindungen, die er im Zusammenhang mit einer Nährfunktion der zentralen Zelle sieht, finden sich allerdings keine klaren Hinweise (Witaliński et al. 1990).

Das Aussehen des Kerns der zentralen Zelle der Hoden entspricht dem des Nährzellkerns weiblicher Tritonymphen, allerdings sind in peripheren Anschnitten keine elliptischen Untereinheiten erkennbar.

Neben zentraler Zelle und Keimzellen findet man in jedem Hoden Anschnitte von einer oder mehreren Hüllzellen. Innerhalb dieser Zelle(n) liegen in jedem Hoden zwei Kerne – es ist daher wahrscheinlich, dass es sich um zwei einzelne

Zellen handelt, eine genaue Bestimmung war allerdings lichtmikroskopisch nicht möglich.

Zwischen Zellfortsätze der Hüllzellen eingebettet liegen größere Keimzellen – bei ihnen handelt es sich um Spermatocyten I. und II. Ordnung, welche laut Prasse (1968) frei im Hodenlumen liegen. Dieser Sicht kann, zumindest was die Hoden der Tritonymphe betrifft, nicht zugestimmt werden: jede Keimzelle ist zur Gänze von den Hüllzellen umschlossen und grenzt in der Regel nicht direkt an andere Keimzellen. Dies widerspricht ebenfalls den Angaben von Alberti & Coons (1999), die besagen, dass die Keimzellen in den Hoden der Acaridida nicht eng von somatischen Zellen umschlossen sind. Eine mögliche Erklärung wäre, dass bei den Adulti größere Mengen reifender Keimzellen vorliegen als bei den Tritonymphen und diese daher nicht mehr einzeln von den Hüllzellen umschlossen werden können.

Die beschriebenen Ansammlungen stark färbenden Materials in Einbuchtungen des Zellkernrandes (Nuage-Material) sind charakteristisch für reifende Spermatocyten (Alberti 1980, Walzl 1992). Mit zunehmendem Alter der Tritonymphen nimmt die Zahl reifender Spermatocyten zu. Die in der pharaten Phase gefundenen Zellen ohne klar abgrenzbaren Kern, die einzeln, in Dubletten oder Tetraden auftreten, sind Spermatocyten II. Ordnung in unterschiedlichen Stadien der Reifeteilung. Bei den variabel geformten, ebenfalls „kernlosen“ Zellen, die in runden Ballen zu je vier Stück auftreten, handelt es sich um Spermatiden. Diese Ballen entsprechen auch der Beschreibung von Alberti (1980) bei *Acarus siro*, wonach die „Spermatiden nicht durch die somatischen Zellen voneinander isoliert“ sind. Ansammlungen von Spermatiden treten ebenfalls in dem vom Vas deferens am Übergang in den Hoden gebildeten Trichter auf. Ob es sich dabei allein um Spermatiden oder bereits um die für die Acaridida und somit auch *S. berlesei* beschriebenen polygonalen, aflagellaten Spermatozoen handelt, konnte nicht bestimmt werden (Prasse 1968, Alberti 1980, Liana & Witaliński 2005, Klien 2007, Klien & Walzl 2010).

Die Darstellungen von Klien (2007) und Klien & Walzl (2009), wonach Spermatogonien im Zentrum und Spermatocyten in der Peripherie der Hoden

auftreten und eine Nährzelle nicht ausgebildet ist, entsprechen nicht den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit. Mit dieser Arbeit übereinstimmend sind die Beschreibungen von Prasse (1968), Alberti (1980), Witaliński et al. (1990), Walzl (1992), Lekimme et al. (2005), Liana & Witaliński (2005) und Florek & Witaliński (2010), nach welchen die Reifung der Spermien bei den Acaridida von der apikalen zur basalen Region der Hoden stattfindet, weswegen im apikalen Teil vorwiegend Spermatogonien, im mittleren Teil Spermatocyten und am Übergang zum Vas deferens Spermatozoen anzutreffen sind.

Zu den Hoden der aktiven Tritonymphe führen Klien (2007) sowie Klien & Walzl (2010) an, dass nur Spermatogonien und Spermatocyten, nicht aber Spermatozoen auftreten, was mit den Ergebnissen dieser Arbeit übereinstimmt. Die Keimzellenreifung setzt am Beginn der aktiven Phase ein (Hughes & Hughes 1938), Reduktionsteilungen und Spermatiden bzw. Spermatozoen sind jedoch erst in der pharaten Phase anzutreffen.

Hüllzellen oder ähnliche Strukturen werden in den Arbeiten von Prasse (1968), Klien (2007) und Klien & Walzl (2010) nicht erwähnt. Sie entsprechen in ihrer Erscheinung den von Alberti (1980) beschriebenen somatischen Zellen in den Hoden der Acaridida, deren Aufgabe darin besteht, cytoplasmatische Bestandteile, die von Spermatiden während der Spermiohistogenese abgegeben werden, zu phagocytieren [sic!]. Witaliński et al. (1990) erwähnen somatische Zellen innerhalb der Hoden von *Acarus siro*. Florek & Witaliński (2010) beschreiben bei *Carpoglyphus lactis* somatische Zellen, die miteinander in enger Verbindung stehen und die Keimzellen umhüllen.

Walzl (1992) beschreibt bei *Dermatophagoides pteronyssinus* und *Dermatophagoides farinae* ein „peripheres Synzytium“, das, abgesehen von einer Mehrzahl von Kernen, in seiner Beschaffenheit und Lokalisierung im Hoden den Hüllzellen entspricht. Von Witaliński & Walzl (1995) wird eben dieses von Walzl (1992) beschriebene periphere Synzytium als zentrale Nährzelle mit mehreren Kernen angeführt, obwohl eine solche in der genannten Arbeit nicht erwähnt wird. Es ist wahrscheinlich, dass es sich hierbei um eine Verwechslung handelt. Das von Walzl (1992) beschriebene Synzytium muss somit als ein somatisches Synzytium wie bei Alberti (1980) interpretiert werden

und entspricht damit den Hüllzellen. Die Existenz einer zentralen Nährzelle bei *Dermatophagoides spp.* ist somit fraglich, bei *Carpoglyphus lactis* ist eine solche nicht vorhanden (Florek & Witaliński 2010).

Laut Prasse (1968) sind die Hoden von *S. berlesei* von einer Basalmembran umgeben (siehe auch Vitzhum 1947), ein Hodenepithel wird, wie in den Beschreibungen von Heinemann & Hughes (1970) für *Caloglyphus mycophagus* und Witaliński et al. (1990) für *Acarus siro*, nicht erwähnt. Dagegen beschreibt Prasse (1970) den Hoden von *S. berlesei* als „von einer Schicht stark abgeflachter Zellen umgeben“. Von Klien (2007) wird für *S. berlesei* ebenso wie von Vijayambika & John (1975) für *Lardoglyphus konoii* ein Hodenepithel beschrieben. Alberti (1980) beschreibt bei den Actinotrichida allgemein ein Hodenepithel sowie ein Drüsenepithel innerhalb der Hoden.

In der vorliegenden Arbeit wurde weder ein Drüsen- noch ein Hodenepithel gefunden. Die von Walzl (1992) bei *Dermatophagoides spp.* beschriebenen, den Hoden umgebenden Muskelzellen sind bei der Tritonymphe von *S. berlesei* ebenfalls nicht vorhanden. Lekimme et al. (2005) beschreiben bei *Psoroptes spp.* ein synzytiales Hodenepithel, das Fortsätze ins Innere des Hodens besitzt, zwischen denen die reifenden Keimzellen liegen. Zwar liegen bei *S. berlesei* ebenfalls reifende Keimzellen zwischen den Fortsätzen der Hüllzelle(n), diese bilden allerdings wie beschrieben kein den Hoden umgebendes Epithel.

Da somatische Zellen in den Hoden der Acaridida grundsätzlich vorhanden sind (Alberti 1980, Alberti & Coons 1999), wenngleich sie widersprüchlich beschrieben werden, ist davon auszugehen, dass die beschriebenen Hüllzellen eben solche somatische Zellen darstellen. Es kann außerdem angenommen werden, dass sie auch bei den Adulti vorliegen, wenngleich sie in den genannten Arbeiten nicht beschrieben wurden. Die Frage nach der Ausbildung eines Hodenepithels kann nicht eindeutig beantwortet werden, in dieser Arbeit wurde keines gefunden.

Eine zentrale Zelle im Hoden wurde, wie bereits dargelegt, bei einigen Arten der Acaridida wie zum Beispiel *Acarus siro* beschrieben, bei anderen wie zum

Beispiel *Carpoglyphus lactis* ist eine solche nicht vorhanden oder wurde, wie bei *Dermatophagoides pteronyssinus* und *Dermatophagoides farinae*, nicht beschrieben.

Die von Prasse (1968) für *S. berlesei* beschriebene zentrale Zelle wurde auch in dieser Arbeit gefunden, wenngleich Klien & Walzl (2010) schreiben, der Hoden sei dadurch charakterisiert, dass keine solche Struktur vorliege.

An der Basis der Hoden wurde eine dem Vas deferens zuzuordnende, trichterförmige Struktur gefunden, in welcher größere Mengen von Spermatiden oder Spermatozoen vorliegen. Dieser Trichter wurde in keiner der bereits genannten Arbeiten über die Hoden der Adulti beschrieben. Witaliński et al. (1990) ordnen dem proximalen Teil des Vas deferens Transportfunktion für die Spermien zu. Da der Trichter ein Teil dieses proximalen Anteils des Vas deferens ist, kann als seine Funktion die Übertragung von Spermien aus dem Hoden in den Vas deferens angenommen werden.

Die Vasa deferentia sind in der aktiven Tritonymphe zweischichtig aufgebaut, in der pharate Tritonymphe kann diese Zweischichtigkeit jedoch nicht nachgewiesen werden. Prasse (1970) und Lekimme et al. (2005) beschreiben die Vasa deferentia der Adulti, ähnlich den Ovidukten der Weibchen, als Gänge aus einem von einer Muscularis umgebenen Epithel. Da die Vasa deferentia also sowohl bei den aktiven Tritonymphen als auch bei den Adulti zweischichtig sind, ist davon auszugehen, dass beide Schichten erhalten bleiben, selbst wenn sie für die pharate Phase in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden konnten.

Wie die Vasa deferentia ist auch die akzessorische Drüse (Prasse 1970, Walzl 1992, Witaliński & Walzl 1995, Lekimme et al. 2005) zweischichtig - mit einer hohen inneren und einer dünnen äußeren Zelllage. Die Entstehung der Drüse aus der Vereinigung der beiden Vasa deferentia wurde bei Nalepa (1885) beschrieben, allerdings findet ihre Bildung vor der aktiven Phase des Tritonymphenstadiums statt (Perepelkina-Christopulo 1940) und kann somit in dieser Arbeit nicht bestätigt werden, da nur Tritonymphen untersucht wurden.

In der akzessorischen Drüse sind zwei Zellschichten auch in der pharaten Phase erkennbar. Die äußere Lage bildet ein dünnes Epithel, während die Zellen der inneren Schicht, wie von Prasse (1970) beschrieben, sekretorischen Charakter erlangen: jede der inneren Zellen bildet eine zum zentralen Kanal hinweisende Zisterne, in welche das Drüsensekret abgegeben wird. Dies entspricht nicht der Beschreibung von Witaliński et al. (1990), wonach bei *Acarus siro* zwischen den Drüsenzellen Vakuolen liegen, die das Drüsensekret enthalten. Das in den Zisternen gebildete Sekret wird über den zentralen Kanal ausgeleitet.

In der akzessorischen Drüse können zwei Abschnitte unterschieden werden, in denen diese Zisternen vorhanden sind: einer im mächtigen, caudalen Teil der akzessorischen Drüse und der andere zwischen dem Ductus ejaculatorius und der Einmündung der Vasa deferentia im cranialen Anteil der Drüse. Der vordere Anteil entspricht in seiner Lage der von Prasse (1970) und Witaliński & Walzl (1995) beschriebenen Samenblase (siehe auch Kuo & Nesbitt 1970) – aus dem Vorhandensein von Zisternen kann auf eine sekretorische Aktivität dieser Region geschlossen werden, weswegen die Samenblase nicht ausschließlich ein Speicherorgan darstellt.

In jener Region, wo der Ductus ejaculatorius (Prasse 1970, Witaliński & Walzl 1995) mit der Drüse Kontakt aufnimmt, sind die beschriebenen Zisternen nicht anzutreffen. Eine Verbindung des Ductus ejaculatorius mit dem zentralen Kanal der akzessorischen Drüse ist erst gegen Ende der pharaten Phase nachweisbar.

Die Differenzierung des Kopulationsapparats wurde nicht eingehend untersucht. Der Aedeagus ist in der aktiven Phase als sehr kurzer, kegelförmiger Auswuchs in der über dem caudalen Ende der Genitalspalte gelegenen, epidermalen Blase ausgebildet.

4.3. Zusammenfassung

Zwischen weiblichen und männlichen Tritonymphen besteht kein signifikanter Längenunterschied. Radwan (2002) gibt an, dass Tritonymphen pleomorpher Männchen bei gleicher Körpergröße wie bimorphe Männchen über eine größere Masse verfügen. Ein Massenunterschied zwischen männlichen und weiblichen Tritonymphen bei gleicher Körperlänge wäre ebenso denkbar, wurde in dieser Arbeit jedoch nicht untersucht.

Der grundlegende Aufbau des Genitaltraktes bei männlichen und weiblichen Tritonymphen ist relativ ähnlich (Nalepa 1884). Eine epidermale Invagination über dem caudalen Ende der Genitalspalte steht mit der Vereinigung von paarigen, primär zweischichtigen Gonodukten in Verbindung. Diese ziehen nach caudal zu den paarigen Gonaden. Geschlechtsspezifische Bildungen wie beispielsweise der inseminatorische Anteil des weiblichen oder die akzessorische Drüse des männlichen Geschlechtstraktes sind bei der aktiven Tritonymphe angelegt (Abb.4.3).

Auch die männlichen und weiblichen Gonaden der Tritonymphe sind prinzipiell ähnlich aufgebaut: eine zentrale Zelle mit verästeltem Kern ist von Keimzellen sowie somatischen Zellen, welche diese umschließen, umgeben.

Da die Zahl reifender Keimzellen von der aktiven zur pharaten Phase, sowie im weiteren Verlauf der pharaten Phase eindeutig zunimmt, ist davon auszugehen, dass sich die Gonaden während des gesamten Tritonymphenstadiums in einem kontinuierlichen Prozess der Zellvermehrung und Differenzierung befinden. Das Einsetzen der Keimzellenreifung erfolgt bei *S. berlessei* bereits am Beginn des Tritonymphenstadiums, eventuell auch schon am Ende des Protonymphenstadiums (Hughes & Hughes 1938, Heinemann & Hughes 1970).

Bei *Tetranychus urticae* (Actinedida) werden reifende Keimzellen ebenfalls erstmals im letzten Nymphenstadium, das dort als Deutonymphe bezeichnet wird, beschrieben (Feiertag-Koppen & Pijnacker 1982). Bei *Archezogetes longisetosus* (Oribatida) setzt die Eizellenreifung erst während der pharaten Phase des Tritonymphenstadiums ein (Bergmann et al. 2008). Vijayambika & John (1976) geben an, dass die Gonaden beim letzten Nymphenstadium von

Lardoglyphus konoj (Acaridida), das dort wieder als Deutonymphe bezeichnet wird, angelegt aber noch nicht differenziert sind - folglich ist davon auszugehen, dass die Keimzellen noch nicht zu reifen beginnen. Das Einsetzen der Keimzellenreifung erfolgt diesen Arbeiten zufolge anscheinend weder innerhalb der Actinotrichida noch innerhalb der Acaridida nach einem einheitlichen Muster. Bei beiden Geschlechtern findet im Tritonymphenstadium eine mitotische Vermehrung von Spermato- bzw. Oogonien statt.

Die zentrale Zelle des Ovars hat mit großer Wahrscheinlichkeit nicht die Funktion eines Keimlagers (so beschrieben bei Nalepa 1884, Hughes & Hughes 1938, Perepelkina-Christopulo 1940). Das Fehlen von somatischen Zellen im adulten Ovar von *S. berlesei* und anderen Acaridida (Prasse 1968, Heinemann & Hughes 1970, Desch 2001, Lekimme et al. 2005) oder auch Actinedida (Mauß-Erdmann 2004) kann so gedeutet werden, dass der zentralen Zelle eine

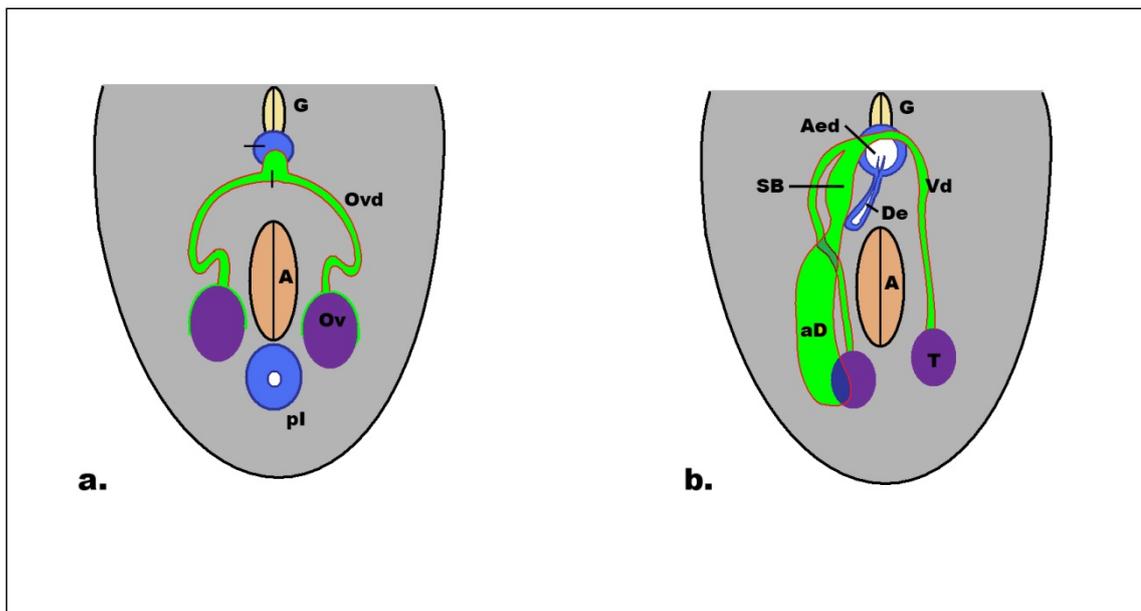


Abb.4.3: Schematische Darstellung des Geschlechtstraktes, Sicht von dorsal, a.: aktive weibliche Tritonymphe, b.: aktive männliche Tritonymphe; A – Analspalte, G – Genitalspalte; AOp – Anlage d. Ovipositors, Ov – Ovar, Ovd – Ovidukt, pl – postanale Invagination, poK – Ovidukttasche / präoviporale Kammer; Aed – Anlage des Aedeagus, aD – akzessorische Drüse (caudaler Anteil), De – Ductus ejaculatorius, SB – Samenblase (cranialer Anteil d. akz. Drüse), T – Testis, Vd – Vas deferens, rot/grün: äußere/innere Zellschicht der Gonodukte

Nährfunktion zukommt, welche beispielsweise bei *Varroa jacobsoni* (Gamasida) von somatischen Zellen des Lyratischen Organs ausgeübt wird (Alberti & Zeck-Kapp 1986, Alberti 1989). Das gleichzeitige Auftreten von zentraler Nährzelle und somatischen Zellen bei *Dermatophagoides spp.* (Walzl 1992) und *Psoroptes spp.* (Lekimme et al. 2005) kann dadurch allerdings nicht erklärt werden.

In den Hoden der Acaridida wird das Auftreten somatischer Zellen widersprüchlich beschrieben (siehe Kap.4.2), grundsätzlich sind sie allerdings nicht nur innerhalb dieser Gruppe vorhanden (z.B. Alberti 1980, Alberti & Hänel 1986, Alberti & Coons 1999, Alberti & Meyer-Rochow 2002). Eine zentrale Zelle kommt dagegen im Hoden nicht regelmäßig vor (Walzl 1992, Florek & Witaliński 2010). Ob die zentrale Zelle bei denjenigen Arten, wo sie vorhanden ist, als Keimlager fungiert, ist demnach fraglich, eine Nährfunktion ist dagegen wahrscheinlicher.

Im Gegensatz zu den Gonaden scheinen sich die übrigen Strukturen des Genitaltraktes in der aktiven Tritonymphe kaum zu verändern. Wachstum und Differenzierung der akzessorischen Drüse der männlichen Tritonymphe erfolgen vor allem in der pharaten Phase, auch der Zusammenschluss des Ductus ejaculatorius mit der akzessorischen Drüse erfolgt erst kurz vor der Adulthäutung. Die Anlage des inseminatorischen Anteils des Genitaltraktes der weiblichen Tritonymphe verändert sich während der aktiven Phase nicht merklich, es ist wahrscheinlich, dass sie schon während der pharaten Phase der Deutonymphe gebildet wird und dann während der aktiven Phase der Tritonymphe keiner weiteren Differenzierung unterworfen ist. Allein das Ovarialepithel differenziert sich im Verlauf der aktiven Phase – es scheint sich über das Ovar auszubreiten, um es erst am Beginn der pharaten Phase vollständig zu umschließen (siehe Kap.4.1).

Eine Differenzierung der ectodermalen Bestandteile des Genitaltraktes wie Ductus ejaculatorius, Ovipositor und Receptaculum seminis, sowie jene Teile, die mit diesen in Verbindung stehen – die präoviporale Kammer und der Mittelteil der akzessorischen Drüse – findet nur während der pharaten Phase statt. Da Epidermis und Cuticula miteinander verbunden sind und eine

Ablösung erst mit Eintritt in die pharate Phase erfolgt (Evans 1992), ist es wahrscheinlich, dass die ectodermalen Invaginationen, welche die Anlagen von Ovipositor, Receptaculum seminis und Aedeagus darstellen, bereits während der pharaten Phase der Deutonymphe - vor der Häutung zur Tritonymphe - gebildet werden.

Zwischen der Cuticula und der Epidermis des Hysterosomas aktiver Tritonymphen beider Geschlechter wurden schwach gefärbte Zellen mit granulärem Plasma gefunden, die in der vorliegenden Arbeit als subcuticuläre Zellen bezeichnet werden. Aufgrund ihrer Lage kann zwar geschlossen werden, dass die subcuticulären Zellen ectodermalen Ursprungs sind, allerdings sind sie nicht Bestandteil des epidermalen Epithels. Auch an der Basis der verschiedenen beschriebenen epidermalen Invaginationen lagen diese Zellen vor - insgesamt konnte allerdings kein spezifisches Verteilungsmuster festgestellt werden. Bei der Differenzierung des Genitaltraktes scheinen die subcuticulären Zellen keine Rolle zu spielen, ihre Funktion wurde daher nicht untersucht. Da beim Übergang in die pharate Phase die Epidermis von der Cuticula abgelöst wird, ist eine Funktion der subcuticulären Zellen in diesem Zusammenhang denkbar.

5. LITERATUR

- Alberti G. (1980):** Zur Feinstruktur der Spermien und Spermiocyto-genese der Milben (Acari). II. Actinotrichida). Zool. Jb. Anat., 104: 144-203
- Alberti G. (1989):** Genital system of Gamasida and its bearing on phylogeny. Progress in Acarology, 1: 197-204
- Alberti G., H. Hänel (1986):** Fine structure of the genital system in the bee parasite, *Varroa jacobsoni* (Gamasida: Dermanyssina) with remarks on spermiogenesis, spermatozoa and capacitation. Exp. Appl. Acarol., 2: 63-104
- Alberti G., L.B. Coons (1999):** Acari: Mites. In: Harrison, F.W. & R. Foelix (eds.): Microscopic anatomy of invertebrates, Volume 8C: Chelicerate arthropoda. New York: John Wiley & Sons Inc., 515-1265
- Alberti G., N.A. Fernandez, Y. Coineau (2007):** Fine structure of spermiogenesis, spermatozoa and spermatophore of *Saxidromus delamarei* Coineau, 1974 (Saxidromidae, Actinotrichida, Acari). Arthropod Structure & Development, 36: 221-231
- Alberti G., V.B. Meyer-Rochow (2002):** Ultrastructural investigations of testes and spermiogenesis in two species of halacarid mites (Halacaridae, Actinedida, Actinotrichida): *Thalassarachna basteri* from the Baltic Sea and *Halacarellus thomasi* from McMurdo Sound (Antarctica). Arthropod Structure & Development, 30: 315-328
- Alberti G., G. Zeck-Kapp (1986):** The nutritory egg development of the mite, *Varroa jacobsoni* (Acari, Arachnida), an ectoparasite of honey bees. Acta Zoologica, 67: 11-25
- Baker G.T., G.W. Krantz (1985):** Structure of the male and female reproductive and digestive systems of *Rhizoglyphus robini* Claparède (Acari, Acaridae). Acarologia, 26: 55-65
- Bergmann P., M. Laumann, P. Cloetens, M. Heethoff (2008):** Morphology of the internal reproductive organs of *Archezogetes longisetosus* Aoki (Acari, Oribatida). Soil Organisms, 80: 171-195
- Bier K. (1967):** Oogenese, das Wachstum von Riesenzellen. Naturwissenschaften, 54: 189-195
- Desch C.E. (2001):** Anatomy and ultrastructure of the female reproductive system of *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae). In: Halliday R.B., D.E. Walter, H.C. Proctor, R.A. Norton & M.J. Colloff (eds): Acarology: proceedings of the 10th International Congress. CSIRO Publishing, Melbourne, 203-212

- Evans G.O. (1992):** Principles of acarology. University Press, Cambridge, pp.563
- Feiertag-Koppen C.C.M., L.P. Pijnacker (1982):** Development of the female germ cells and process of internal fertilization in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* KOCH (Acariformes: Tetranychidae). *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.*, 11: 271-284
- Florek M., W. Witaliński (2010):** Spermatogenesis and sperm structure in *Carpoglyphus lactis* (L.) (Acari: Astigmata). *Arthropod Structure & Development*, 39: 41-51
- Glauert A.M., P.R. Lewis (1998):** Biological specimen preparation for transmission electron microscopy. (Practical methods in electron microscopy, vol. 17). Portland Press, London, 1-36
- Hayat M.A. (1986):** Basic Techniques for Transmission Electron Microscopy. Academic Press, Orlando (FL), pp.411
- Heethoff M., M. Laumann, P. Bergmann (2007):** Adding to the reproductive biology of the parthenogenetic mite, *Archezogetes longisetosus* (Acari, Oribatida, Trhypochthoniidae). *Turk. J. Zool.*, 31: 151-159
- Heinemann R.L., R.D. Hughes (1970):** Reproduction, reproductive Oorgans, and meiosis in the bisexual non-parthenogenetic mite *Caloglyphus mycophagus*, with reference to oocyte degeneration in virgins (Sarcoptiformes: Acaridae). *J. Morph.*, 130: 93-102
- Helle W (1967):** Fertilization in the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*: Acari). *Ent. exp. & appl.*, 10: 103-110
- Hughes T.E., A.M. Hughes (1938):** The internal anatomy and post-embryonic development of *Glyciphagus domesticus* (de Geer). *Proceedings of the Royal Society of London*, 108: 715-733
- Klien K. (2007):** Zur Embryonalentwicklung der Milbe *Sancassania berlesei*. Diplomarbeit, Formal- u. Naturwiss. Fak. Univ. Wien, pp.66
- Klien K., M.G. Walzl (2010):** ‚Private parts‘ of *Sancassania berlesei* (Acaridida, Acaridae): testes, receptaculum seminis, ovary and the location of sperm. *Trends in Acarology*, 85-89
- Krantz G.W., J.G. Wernz (1979):** Sperm transfer in *Glyphtholaspis americana*. *Recent Advances in Acarology*, 2: 441-446
- Kuo J.S., H.H.J. Nesbitt (1970):** The internal morphology and histology of adult *Caloglyphus mycophagus* (Mégnin) (Acarina: Acaridae). *Can. J. Zool.*, 48: 505-518

- Lekimme M., M. Leclercq-Smekens, C. Devignon, T. Leclipteux, Y. Poumay, B. Losson (2005):** Ultrastructural morphology of the male and female genital tract of *Psoroptes spp.* (Acari: Astigmata: Psoroptidae). *Exp. Appl. Acarol.*, 36: 305-324
- Liana M., W. Witaliński (2005):** Sperm structure and phylogeny of Astigmata. *J. Morphol.*, 265: 318-324
- Mauß-Erdmann U. (2004):** Functional anatomy of the female genital system in *Acalitus essigi* (Hassan) (Acari: Eriophyoidea). *Phytophaga*, 14: 113-122
- Nalepa A. (1884):** Die Anatomie der Tyroglyphen. I. Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Wien, 90: 197-228
- Nalepa A. (1885):** Die Anatomie der Tyroglyphen. II. Sitzungsberichte der Kaiserlichen Akademie der Wissenschaften, Wien, 92: 116-167
- Oberrauch W. (1994):** Entwicklungsbiologie von *Tyrophagus longior* (Gervais, 1844) (Acarina: Acaridae) in Abhängigkeit von Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit. Diplomarbeit, Formal- u. Naturwiss. Fak. Univ. Wien, pp.83
- Perepelkina-Christopulo E.A. (1940):** Anatomisch-histologischer Bau der Geschlechtsdrüsen von *Tyroglyphus farinae* L. *Ucenyje zapiski Moskovskij Gosudarstvennyj Universitet*, 42: 129-139 [russisch]
- Prasse J. (1968):** Untersuchungen über Oogenese, Befruchtung, Eifurchung und Spermatogenese bei *Caloglyphus berlesei* Michael 1903 und *C. michaeli* (Oudemans 1924) (Acari, Acarididae). *Biol. Zentralblatt*, 87: 757-775
- Prasse J. (1970):** Zur Anatomie und Histologie der Acaridae mit besonderer Berücksichtigung von *Caloglyphus berlesei* Michael 1903 und *C. michaeli* (Oudemans 1924) (Acari, Acarididae). IV – Das Genitalsystem. *Wiss. Zeitschr. Univ. Halle*, 19: 93-113
- Radwan J. (1991):** Sperm competition in the mite *Caloglyphus berlesei*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 29: 291-296
- Radwan J. (1993):** The adaptive significance of male polymorphism in the acarid mite *Caloglyphus berlesei*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 33: 201-208
- Radwan J. (1995):** Male morph determination in two species of acarid mites. *Heredity*, 74: 669-673
- Radwan J., J. Unrug, J.L. Tomkins (2002):** Status-dependence and morphological trade-offs in the expression of a sexually selected character in the mite, *Sancassania berlesei*. *J. Evol. Biol.*, 15: 744-752

- Richardson K.C., L. Jarett, E.H. Finke (1960):** Embedding in epoxy resin for ultrathin sectioning in electron microscopy. *Stain Tech.*, 35: 313-325
- Schwaha T. (2007):** Zur Embryonalentwicklung der Milbe *Sancassania berlesei*. Diplomarbeit, Formal- u. Naturwiss. Fak. Univ. Wien, pp.63
- Schwaha T., R. Gith, M.G. Walzl (2008):** The nutritive region in the ovary of astigmatic mites (Acari: Acaridida). *Soil Organisms*, 80: 249-259
- Smith J.W., H.B. Boudreaux (1972):** An autoradiographic search for the site of fertilization in spider mites. *Annals of the Entomological Society of America*, 65: 69-74
- Timms S., D.N. Ferro, R.M. Emberson (1981a):** General biology and nomenclature of *Sancassania berlesei* (Michael). *Acarologia*, 22: 385-390
- Timms S., D.N. Ferro, R.M. Emberson (1981b):** Andropolymorphism and its heritability in *Sancassania berlesei* (Michael) (Acari: Acaridae). *Acarologia*, 22: 391-398
- Türk E., F. Türk (1957):** Beiträge zur Systematik und Ökologie der Tyroglyphiden Mitteleuropas. In: Stammer, H.J. (eds.) Beiträge zur Systematik und Ökologie mitteleuropäischer acarina. Band I Tyroglyphidae und Tarsonemini, Teil 1. Akademische Verlagsgesellschaft Geest und Portig K.-G., Leipzig, 3-226
- Vijayambika V., P.A. John (1975):** Internal morphology and histology of the fish mite *Lardoglyphus konoii* (Sasa and Asanuma) (Acarina: Acarididae). *Acarologia*, 17: 106-113
- Vijayambika V., P.A. John (1976):** Internal morphology and histology of the post embryonic stages of the fish mite *Lardoglyphus konoii* (Sasa and Asanuma) (Acarina: Acarididae) 3. Deutonymph. *Acarologia*, 18: 138-142
- Vitzhum H. (1947):** Acarina. In: Bronn H.G. (ed). Klassen und Ordnungen des Tierreichs, Vol. 5,4,5 Akademische Verlagsgesellschaft Becker & Erler Kom. Ges., Leipzig, 441-447
- Walzl M.G. (1992):** Ultrastructure of the reproductive system of the house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *D. pteryssinus* (Acari, Pyroglyphidae) with remarks on spermatogenesis and oogenesis. *Exp. Appl. Acarol.*, 16: 85-116
- Witaliński W. (1975):** Spermatogenesis in free living mite, *Pergamasus viator* Halaš (Parasitidae, Mesostigmata) I. Fine Structure of Spermatozoa. *Z. Mikrosk.-anat. Forsch.* 89, Leipzig, 1-17

Witaliński W. (1978): Topographical relations between oocytes and other ovarian cells in three mite species (Acari). *Acarologia*, 28: 297-306

Witaliński W., E. Szlendak, J. Boczek (1990): Anatomy and ultrastructure of the reproductive systems of *Acarus siro* (Acari: Acaridae). *Exp. Appl. Acarol.*, 10: 1-31

Witaliński W., M.G. Walzl (1995): Reproductive systems in selected acaridid mites (Acaridida). In: D. Kropczyńska, J. Boczek, A. Tomczyk (1995): *The Acari: Physiological and Ecological Aspects of Acari-Host Relationships*. Oficyna DABOR, Warschau, 109-116

6. ABSTRACT

Der Genitaltrakt von *Sancassania berlesei* (Michael, 1903) wurde bereits in mehreren Arbeiten untersucht (Prasse 1968, 1970; Radwan 1991, Klien 2007, Schwaha 2007, Schwaha et al. 2008, Klien & Walzl 2010). Um seinen Aufbau und seine Funktionsweise besser verstehen zu können, wurden aktive und pharate Tritonymphen histologisch untersucht. Dazu wurden gefärbte Schnittserien (1µm) hergestellt, um die Anlagen der Genitaltrakte darstellen und ihre Differenzierung nachvollziehen zu können.

Hoden, Vasa deferentia, akzessorische Drüse und Ductus ejaculatorius sind bei der männlichen aktiven Tritonymphe angelegt. Die Differenzierung der akzessorischen Drüse erfolgt während der pharaten Phase, die Verbindung zum Ductus ejaculatorius entsteht erst kurz vor der Adulthäutung. Reifende Spermatozyten wurden in den Hoden aktiver, Reifeteilungen und Spermatozoen in jenen pharater Tritonymphen gefunden. Reifende Keimzellen waren stets von einer oder zwei somatischen Hüllzellen umgeben, die in Untersuchungen der Adulti bis dato keine Erwähnung fanden.

Ovarien, Ovidukte, die präoviporale Kammer sowie der Ovipositor sind bei der weiblichen aktiven Tritonymphe angelegt. In den Ovarien liegt eine Mantelzelle vor, welche die zentrale Nährzelle, Oogonien und prävitellogenetische Oocyten umgibt und sie vom Ovarialepithel trennt. Eine während der aktiven Phase vorhandene postanale epidermale Invagination differenziert sich in der pharaten Phase zu Bursa copulatrix, Canalis copulator und dem Receptaculum seminis. Drei während der pharaten Phase vorliegende, miteinander verbundenen Zelllagen sowie die von ihnen gebildeten cuticulären Schichten innerhalb des Receptaculum seminis geben Hinweise auf eine mögliche Funktionsweise dieses Organs bei adulten Tieren.

Eine Voruntersuchung, die durchgeführt wurde, um herauszufinden, ob zwischen männlichen und weiblichen Tritonymphen ein Größenunterschied wie bei den Adulti festzustellen sei, zeigte, dass ein solcher nicht vorliegt.

The genital tract of *Sancassania berlesei* (Michael, 1903) has been the subject of several studies (Prasse 1968, 1970; Radwan 1991, Klien 2007, Schwaha 2007, Schwaha et al. 2008, Klien & Walzl 2010). Still, the origin and function of its parts have not yet been completely understood. To shed more light on the subject, stained serial sections (1µm) of both active and pharate specimens of the last juvenile or tritonymphal stage of the said species were obtained and analyzed in this study.

In the male active tritonymph, anlagen of testes, vasa deferentia, the accessory gland and the ejaculatory duct were found. Further differentiation of the accessory gland takes place during the pharate phase, the connection between it and the ejaculatory duct is formed shortly before the moult. Spermatogonia and maturing spermatocytes were found in the testes of active nymphs. Meiosis occurs only after the beginning of the pharate phase, hence spermatids were only found in pharate specimens. In both phases, maturing germ cells were embedded in or surrounded by somatic cells (Hüllzellen), the presence of which has not been described in males of this species thus far.

In the female active tritonymph, anlagen of ovaries, oviducts, the preoviporal chamber and the ovipositor were found. The central nutritive cell, oogonia and previtellogenetic oocytes are all surrounded by a large somatic cell (Mantelzelle) that separates the cells of the ovary from the ovarian epithelium. A post-anal epidermal invagination which is also present in the active phase differentiates into the bursa copulatrix, the copulatory canal and the receptaculum seminis during the pharate phase. Inside the receptaculum, three interconnected layers of cells and their cuticular lining which were found in pharate tritonymphs hint towards a possible mode of operation for the adult.

A preliminary study that was conducted to determine whether the difference in size between sexes that is typical for the adults of *S. berlesei* can also be found in pharate tritonymphs did not yield a statistically significant result.

7. ANHANG

Fixiermedium (Karnovsky):

50 ml CaCo-Puffer 0,2M
10 ml 25% Glutaraldehyd
20ml 10% Paraformaldehyd
20ml A. bidest
+ 4% Sucrose

Low Viscosity Resin (LVR für Arthropoden):

LV Resin: 48g
VH 1 Hardener: 8g
VH2 Hardener: 44g
Accelerator: 2,5g

Fixierung / Einbettung:

- Sektion & Fixierung (Karnovsky): mindestens 90min
- Spülen (CaCo-Puffer 0,1M): 3 x 30min
- Nachfixierung (OsO₄): mindestens 2h
- Spülen (A.bidest.): 3 x 15min
- Überführung / Lagerung in EtOH 70%: 14 h
- Entwässern durch EtOH 80%, 90%, 96%, 100%, 100%, 100%: je 30min
- Intermedium (Aceton 100%): 3 x 15min
- Überführung in Gemisch aus LVR/Intermedium
- Abdampfen v. Intermedium
- Polymerisierung bei 60°C: 16h

Vermessung der Tritonymphen:

	Körpergröße (µm)	
	weibliche Tritonymphe	männliche Tritonymphe
1	644,35	664,17
2	733,56	703,82
3	733,56	703,82
4	674,08	664,17
5	693,91	594,78
6	703,82	693,91
7	733,56	674,08
8	723,65	664,17
9	654,26	565,04
10	644,35	644,35
11	674,08	594,78
12	644,35	604,69
13	634,43	634,43
14	614,61	604,69
15	684,00	594,78
16	624,52	634,43
17	644,35	693,91
18	674,08	644,35
19	614,61	733,56
20	664,17	703,82
21	703,82	684,00
22	674,08	743,48
23	693,91	723,65
24	703,82	693,91
25	753,39	
26	693,91	
27	753,39	
MW	681,06	660,87
S.D.	40,86	49,41
Median	674,08	664,17

8. LEBENS LAUF

geboren am 17.09.1983 in Wien

1993-2001	Gymnasium GRG 13 Wenzgasse (naturwissenschaftlicher Zweig)
06/2001	Matura
11/2001-06/2002	Bundesheer
09/2002-03/2003	Studium Anglistik an der Universität Wien
03/2003-06/2005	Studium Biologie an der Universität Wien
Seit 05/2005	Studium Biologie (Spezialisierung Zoologie)
WS 2007	Histologisches Projektpaktikum
SS 2008	Embryologisches Spezialpraktikum
Seit 02/2007	Angestellter bei Europay Austria / Paylife Bank GmbH.