

Licht- und Elektronenmikroskopische Untersuchungen
an Larvalstadien einheimischer
Unionacea
(*Bivalvia*; *Eulamellibranchiata*)

Vom Fachbereich Biologie
der Universität Hannover

zur Erlangung des Grades
Doktor der Naturwissenschaften
- Dr. rer. nat. -

genehmigte Dissertation

von
Gisela Scharsack
geboren am 17.07.1941
in Zwickau

1994

Referent: Prof. Dr. Klaus Wächtler

Koreferent: Prof. Dr. Gerhard Bauer

Tag der Promotion : 8.6.1994

"Täglich erwirbt sich die Wissenschaft, die sich mit den vom großen Haufen verabscheuten Schnecken und Muscheln beschäftigt, neue Anhänger, und mehr und mehr verwandelt sich der Ekel, mit dem man sie bisher ansah, in Wohlgefallen und in die Ekel und Abscheu nicht kennende Vertraulichkeit, mit der jeder Naturforscher jeden, auch den sonst abscheulichen Naturkörper, umfaßt."

ROßMÄBLER 1837

Inhaltsverzeichnis:	Seite	
<u>1.</u>	<u>Einleitung</u>	1
1.1.	Zur systematischen Stellung der <i>Unionacea</i>	3
1.2.	Zur Fortpflanzungsbiologie der <i>Unionacea</i>	4
1.3.	Ziel der Arbeit	5
<u>2.</u>	<u>Material und Methoden</u>	6
2.1.	Trächtige Muscheln und deren Laborhaltung	6
2.2.	Gewinnung und Bearbeitung der Glochidien	8
2.2.1.	Glochidiengewinnung	8
2.2.2.	Überprüfung der Glochidien auf ihre Reife und Isolierung	8
2.2.3.	Betäubung und Anfixieren der Glochidien	9
2.2.4.	Bearbeitung zur Licht- und Elektronenmikroskopie	9
2.2.5.	Trocknung für die Rasterelektronenmikroskopie	12
2.2.6.	Aufkleben, Besputtern und Elektronenmikroskopie	13
2.3.	Untersuchungen zur Larvalentwicklung der Flußperlmuschel (<i>Margaritifera margaritifera</i>)	14
2.3.1.	Laborinfektionen	14
2.3.1.1.	Betäubung der Fische	15
2.3.1.2.	Fixierung der Infektionsstadien auf der Bachforellenkieme	15
2.3.1.3.	Fixierung der Infektionsstadien auf der Regenbogenforellekieme	16
2.3.2.	Herstellen von Proben für lichtmikroskopische Untersuchungen	16
2.3.2.1.	Färbungen	16
2.3.3.	Verfahren für Glochidien und Cysten	17
2.3.3.1.	Präparation zur Transmissionselektronenmikroskopie	18
2.3.3.2.	Ultradünnschnitte	18
2.3.3.3.	Kontrastierung und Elektronenmikroskopie	19
<u>3.</u>	<u>Ergebnisse</u>	20
3.0.1.	Fixierte Glochidien im Größenvergleich	20
3.0.2.	Übersicht über die wichtigsten Strukturen der <i>Unionacea</i> -Glochidien	21
3.1.	Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Glochidien der Familie <i>Unionidae</i>	22
3.1.1.	REM von Glochidien der Gattung <i>Unio</i>	22

3.1.1.1.	Das Glochidium von <i>Unio crassus</i> : Zusammenfassung	35
3.1.1.2.	Das Glochidium von <i>Unio pictorum</i> : Zusammenfassung	36
3.1.1.3.	Das Glochidium von <i>Unio tumidus</i> : Zusammenfassung	37
3.1.2.	REM von Glochidien der Gattung <i>Anodonta</i>	38
3.1.2.1.	Das Glochidium von <i>Anodonta cygnea</i> : Zusammenfassung	48
3.1.2.2.	Das Glochidium von <i>Anodonta anatina</i> : Zusammenfassung	49
3.1.3.	REM von Glochidien der Gattung <i>Pseudanodonta</i>	50
3.1.3.1.	Glochidium von <i>Pseudanodonta complanata</i>	50
3.1.3.2.	Das Glochidium von <i>Pseudanodonta complanata</i> : Zusammenfassung	55
3.1.4.	REM von Glochidien der Familie <i>Margaritiferidae</i>	56
3.1.4.1.	Glochidium von <i>Margaritifera margaritifera</i>	56
3.1.4.2.	Das Glochidium von <i>Margaritifera margaritifera</i> : Zusammenfassung	62
3.1.5.	Zusammenfassung der morphologischen Unterschiede von Glochidien der untersuchten Arten	63
3.1.6.	Ergänzende Beobachtungen zu den Strukturen des Weichkörpers durch Transmissionselektronenmikroskopie von <i>Anodonta cygnea</i> und <i>Margaritifera margaritifera</i>	65
3.1.6.1.	TEM der Glochidie von <i>Anodonta cygnea</i>	65
3.1.6.2.	TEM der Glochidie von <i>Margaritifera margaritifera</i>	72
3.2.	Encystierung von Glochidien der Flußperlmuschel (<i>Margaritifera margaritifera</i>) auf der Bachforelle (<i>Salmo trutta</i>) und der Regenbogenforelle (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) als Wirtsfischen	76
3.2.1.	Encystierung der Perlmuschellarven auf der Bachforelle als Wirtsfisch	76
3.2.1.1.	Encystierungsprozeß nach einer Stunde	76
3.2.1.2.	Encystierungsprozeß nach drei Stunden	78
3.2.1.3.	Encystierungsprozeß nach sechs Stunden	79
3.2.1.4.	Encystierungsprozeß nach vierundzwanzig Stunden	80

3.2.1.5.	Encystierungsprozeß nach achtundvierzig Stunden	81
3.2.1.6.	Überwinterungscysten	82
3.2.2.	Encystierung der Perlmuschellarven auf der Regenbogenforelle als Wirtsfisch	84
3.2.2.1.	Encystierungsprozeß nach einer Stunde	84
3.2.2.2.	Encystierungsprozeß nach drei Stunden	85
3.2.2.3.	Encystierungsprozeß nach sechs Stunden	86
3.2.2.4.	Encystierungsprozeß nach vierundzwanzig Stunden	87
3.3.	Larvalentwicklung der Flußperlmuschel (<i>Margaritifera margaritifera</i>) auf der Bachforelle (<i>Salmo trutta</i>) als Wirtsfisch	89
3.3.1.	Frisch encystierte Flußperlmuschellarven	89
3.3.2.	Entwicklung des Mantels	91
3.3.2.1.	Larvaler Mantel und Entstehen des definitiven Mantels	91
3.3.2.2.	Beginnende Auflösung des larvalen Mantels und Entstehen des Cilienbandes am definitiven Mantel	94
3.3.2.3.	Definitiver Mantel	97
3.3.2.4.	Zusammenfassung zur Entwicklung des Mantels	97
3.3.3.	Entwicklung des Magen-Darmkanals	100
3.3.3.1.	Das Darmrohr und die Anlage der Mitteldarmdrüse	100
3.3.3.2.	Darmanlagen während der Wintermonate	103
3.3.3.3.	Weiterentwicklung des Verdauungstrakts bis zum Jungmuschelstadium	104
3.3.3.4.	Zusammenfassung zur Entwicklung des Verdauungstrakts	104
3.3.4.	Herz, Pericard und Niere	110
3.3.5.	Entwicklung des Fußes	110
3.3.5.1.	Entstehen des Fußwulstes	110
3.3.5.2.	Definitiver Fuß	115
3.3.5.3.	Zusammenfassung der Fußentwicklung	115
3.3.6.	Entwicklung der Kiemen	119
3.3.6.1.	Das erste Paar Kiemenpapillen	119

3.3.6.2.	Entstehen weiterer Kiemenpapillen	122
3.3.6.3.	Entstehen der Jungmuschelkiemen	125
3.3.6.4	Zusammenfassung zur Kiemenentwicklung	125
3.3.7.	Vorderer und hinterer Schließmuskel, Schalenrandregion	128
3.3.7.1.	Vorderer und hinterer Schließmuskel	128
3.3.7.2.	Homogenes Material zwischen den beiden Schalenrändern	128
3.3.7.3.	Partikelabschnürung vom Schalenrand	129
3.3.8.	Reaktionen des Wirtsgewebes	131
3.3.8.1.	Granulozyten in der Nähe der <i>Margaritifera</i> -Larven	131
3.3.8.2.	Aufreißen der Cyste und deren Rest am Ende der parasitären Phase	133
3.3.9.	Zusammenfassung der Larvalentwicklung von <i>Margaritifera margaritifera</i>	135
3.3.9.1.	Differenzierungsstadium I	135
3.3.9.2.	Differenzierungsstadium II	136
3.3.9.3.	Differenzierungsstadium III	137
3.3.9.4	Differenzierungsstadium IV	138
3.3.9.5.	Jungmuschelstadium	139
4.	<u>Diskussion</u>	140
5.	<u>Literaturverzeichnis</u>	154
6.	Anhang	167

Großmuscheln (Unionacea = Najaden) entwickeln sich über ektoparasitische Larven (Glochidien). Die Glochidienstruktur der sieben einheimischen Arten wird beschrieben. Am Beispiel der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*) wurden zusätzlich im Kiemengewebe Encystierungsvorgang und Entwicklungsverlauf beobachtet.

Die zweischaligen Glochidien sind je nach Art 60-350µm lang. Nach Verlassen des mütterlichen Organismus heften sie sich an einem Wirtsfisch fest. Als Haftorgane dienen Larvalfaden und mit Zähnen besetzte Schalenhaken. Die Struktur der Haken zeigt artspezifische Besonderheiten. Die Glochidien der Flußperlmuschel haben keine Haken aber einen nach innen umgebogenen Schalenrand. Sie entwickeln sich ausschließlich am Kiemengewebe.

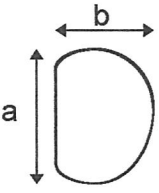
Die Oberfläche des Weichkörpers aller Glochidien ist mit Mikrovilli besetzt. Am Hinterende der Larven sitzen die seitlichen Gruben. Sie sind unterschiedlich tief eingesenkt und werden durch ein Wimperband miteinander verbunden, dessen Cilien je nach Art unterschiedlich dicht stehen und unterschiedlich lang sind. Bis auf die Perlmuschellarve besitzen alle Glochidien vier Sinnesborstenpaare, die an der Basis von einem Schaft umgeben sind. Drei kleinere Sinnesborsten befinden sich jeweils in Hakennähe und ein größeres mehr zur Mitte jeder Halbschale. Die medianen Haarzellen variieren von Art zu Art erheblich in ihrer Gestalt und ihrer Lage. Die Perlmuschel-Glochidie besitzt zwei paarige Cilienbüschel ohne Schaft.

Ein Larvalfaden ist typisch für die Arten stehender Gewässer. Bei *Unio pictorum* und *Unio tumidus* sitzt er am Vorderende der Larve, bei *Anodonta anatina* und *Anodonta cygnea* inseriert er in der Mitte. Er fehlt bei den drei Fließgewässerarten *Unio crassus*, *Pseudanodonta complanata* und *Margaritifera margaritifera*.

Die hakenlosen Perlmuschellarven haften sich am untersuchten Standort ausschließlich an Kiemen der Bachforelle an. Die Larvalentwicklung der Flußperlmuschel dauert 9-10 Monate. Fünf Differenzierungsstadien, die nicht bei allen Glochidien zeitgleich ablaufen, konnten unterschieden werden. Zuerst wird der larvale Mantel ausgebildet, dessen Zellen Nährfunktion zu besitzen scheinen. Er löst sich während des Parasitierens nach etwa 6 Monaten auf, zu diesem Zeitpunkt ist ein funktionsfähiger Verdauungstrakt vorhanden. Bis zur winterlichen Verlangsamung der Entwicklung erreichen die Perlmuschellarven das Differenzierungsstadium III mit paariger Kiemenpapille, Fußwulst und aus dem Darmrohr ausgestülpter Mitteldarmdrüse, in der bereits im November eingelagerte Nährstoffkonglomerate nachzuweisen sind. Im Mai / Juni verläßt die Perlmuschel ihren Wirtsfisch mit der für *Unionacea* typischen Grundausstattung, einem Kriechfuß mit Statocysten, drei bis vier Paar Kiemenpapillen, Mantel, Mundlappen, Magen-Darmtrakt und in der Mitteldarmdrüse reichlich eingelagerten Nährstoffen.

1. Einleitung

Sieben Muschelarten der Überfamilie *Unionacea* kommen in der einheimischen Süßwasserfauna vor (s. Tab. 1, 2). Ihre Larve ist das Glochidium, das sich als Ektoparasit an Fischen entwickelt. Sein Aufbau unterscheidet sich von der bei Muscheln und Schnecken verbreiteten planktischen Veligerlarve, einer abgewandelten Trochophora. AREY (1923), KORSCHOLT und HEIDER (1936) und PFLUGFELDER (1970) bezeichnen das Glochidium deshalb auch als Sekundärlarve. Glochidien werden von weiblichen Muscheln in großer Zahl in den zu Bruttaschen umgewandelten Außenkiemen gebildet und zu für die einzelnen Arten mehr oder weniger festgelegten Terminen im Frühjahr und Sommer ins Wasser abgegeben. Die Abgabe der Glochidien kann in Zeiträumen zwischen ca. 1-3 Wochen (Flußperlmuschel) und mehreren Monaten erfolgen. Glochidienproduktion in Intervallen und damit mehrere aufeinanderfolgende Abgaben wurden ebenfalls beobachtet. Die vorliegenden Daten zu Abgabezeitraum, Glochidiengröße und Dauer der parasitären Phase für die heimischen Arten sind in Tabelle 1 und 3 angegeben.

Art	Abgabezeitraum	Anzahl der Glochidien	Dauer der parasitären Phase	Größe in μm 	Autoren
<i>Margaritifera margaritifera</i>	August-September	3-4 Millionen	10 Monate	a 60 b 80	BAUER 1989, YOUNG 1984a, DETTMER 1982, BUDDENSIEK 1991
<i>Unio tumidus</i>	Mai-Juli Mehrfachträchtigkeit	ca. 200.000	12-35 Tage	a 210 b 200	FLEISCHAUER - RÖSSING 1990, MAAß 1987
<i>Unio pictorum</i>	Mai-Juli Mehrfachträchtigkeit	ca. 200.000	12 - 35 Tage	a 210 b 200	FLEISCHAUER - RÖSSING 1990, MAAß 1987
<i>Unio crassus</i>	April-Aug. Mehrfachträchtigkeit	9000--16000 U.c.c. *) 81000-100000 U. c.f. m. **)	20 - 30 Tage	a 220 b 195	BEDNARCZUK, 1986 ENGEL 1990, HOCHWALD 1988
<i>Anodonta cygnea</i>	März-April	310.000-370.000	12 - 26 Tage	a 310 b 310	CLAES 1987, NIEMEYER 1993
<i>Anodonta anatina</i>	März-April		12 - 26 Tage	a 340 b 360	
<i>Pseudanodonta complanata</i>	Januar-April	8.000-16.000	10 - 30 Tage	a 340 b 290	HÜBY 1988

Tab. 1: Übersicht über Abgabezeitraum, Anzahl und Größe der Glochidien und Dauer der parasitären Phase.

*) **) von *Unio crassus* werden die Formen *crassus crassus* (c. c.) und *crassus forma maximus* (f. m.) beschrieben (ENGEL und WÄCHTLER 1989)

Leider gehören die Zeiten, in der "die trägen [...]Mollusken in der Regel leicht und in großer Menge zu finden sind" (ROSSMÄßLER 1838), der Vergangenheit an. Die Population der meisten Arten wird seit Jahren geringer. Die Flußperlmuschel *Margaritifera margaritifera* und die Bachmuschel *Unio crassus* gehören zu den besonders gefährdeten Arten. Um die Wirkung gefährdender Faktoren besser zu verstehen, wird die Biologie der Süßwassermuscheln in zwei Arbeitsgruppen genauer untersucht. An der Universität Bayreuth (Prof. Dr. G. BAUER) und an der Tierärztlichen Hochschule Hannover (Prof. Dr. K. WÄCHTLER) wird versucht, die gewonnenen Einsichten in Zusammenarbeit mit Behörden und Verbänden (Regierung Oberfranken und Niedersächsisches Landesamt für Ökologie) in die Naturschutzpraxis umzusetzen (BAUER 1980, 1986, BAUER U. ZWÖLFER 1987, WÄCHTLER 1988A, WÄCHTLER 1989). Neben Fragen zu den allgemeinen ökologischen Ansprüchen wurden vor allem die parasitäre und postparasitäre Phase sowie das Wirtsfischspektrum ausführlich untersucht (BAUER 1987A, B, BAUER U. VOGEL 1987, BAUER 1989, BEDNARCZUK 1986, BUDDENSIEK 1990, DETTMER 1982, ENGEL 1990, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990, HÜBY 1988, MAAß 1987, NIEMEYER 1992). Aus beiden Gruppen wurde Material für die licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

1.1. Zur systematischen Stellung der *Unionacea*

In der Überfamilie *Unionacea* werden *Unionidae* und *Margaritiferidae* zusammengefaßt (s. Tab. 2). Häufig werden sie auch als Najaden oder Großmuscheln den kleinen einheimischen Arten der Familie *Sphaeriidae* gegenübergestellt.

Klasse	Bivalvia	
Ordnung	Eulamellibranchiata	
Unterordnung	Schizodonta	
Überfamilie	Unionacea ("Najaden")	
Familie	Unionidae	Margaritiferidae
Gattung	Unio Anodonta Pseudanodonta	Margaritifera
Art	<i>Unio crassus</i> <i>Unio pictorum</i> <i>Unio tumidus</i> <i>Anodonta anatina</i> <i>Anodonta cygnea</i> <i>Pseudanodonta complanata</i>	<i>Margaritifera margaritifera</i>

Tab. 2 : Systematische Stellung der einheimischen Unionacea

1.2. Zur Fortpflanzungsbiologie der *Unionacea*

Alle einheimischen Najaden sind zweigeschlechtlich, die männlichen Tiere geben die Spermien ins Wasser ab, die weiblichen Tiere nehmen diese über das Atemwasser auf. Die befruchteten Eier nisten sich bei allen beschriebenen Arten in Bruttaschen der Außenkiemen, den Marsupien, ein; bei der Flußperlmuschel kann sich ebenfalls das innere Kiemenpaar zu dieser Form umbilden. Dort reifen sie zu zweiklappigen infektiösen Larven, den Glochidien heran, die ins Wasser abgegeben werden. Als obligate Ektoparasiten müssen sie einen Wirtsfisch finden, an dem sie sich festsetzen und encystieren können. Die Arten der Fließgewässer (*Margaritifera margaritifera* und *Unio crassus*) gelangen über das Atemwasser an die Fischkiemen

und entwickeln sich dort zu Jungmuscheln. Andere Unioniden können sich zusätzlich an Flossen oder Außenhaut encystieren. Brutzeit, Wirtsfischspektrum und Dauer der Umwandlung vom Glochidium zur Jungmuschel sind bei den einzelnen Arten unterschiedlich (s. Tab.1, 3).

1.3. Ziel der Arbeit

Bislang wurden die Glochidien der einheimischen Najaden bei unterschiedlichster Zielsetzung mit lichtmikroskopischer Technik untersucht (CLAES 1987, HARMS 1909, HERBERS 1914, ISRAEL 1913, KUHFUß 1993, MAAß 1987, WOOD 1974) und ihre Schalen rasterelektronenmikroskopisch dargestellt (GIUSTI 1973, NAGEL 1988). Da Muschellarven auf chemische Veränderungen des Hälterungswassers und somit auch auf Fixiermedien sehr schnell mit Schalenschluß reagieren, konnte ihre Anatomie bisher nur ungenau beschrieben werden.

Der Encystierungsvorgang am Wirtsfisch wurde mit Lupe, stereomikroskopisch und histologisch untersucht (AREY 1921/1932a, FAUSSEK 1895, HARMS 1909, SCHIERHOLZ 1888, WELLMANN 1943) und von den einzelnen Autoren uneinheitlich nach vier Stunden bis zu zwei Tagen als abgeschlossen beschrieben.

Zur Larvalentwicklung der Najaden liegen zahlreiche lichtmikroskopische Beobachtungen vor (SCHIERHOLZ 1888, HERBERS 1914, KORSCHOLT UND HEIDER 1936). HARMS (1907/1909) bezog die der Flußperlmuschel in seine "Postembryonale Entwicklungsgeschichte der Unioniden" mit ein und betont, daß eine genaue Untersuchung wegen "..... der Kleinheit des Objekts unmöglich" sei.

Ziel der Arbeit ist es daher, mit der Technik der Rasterelektronenmikroskopie den Bau des glochidialen Weichkörpers und die Variabilität der beobachteten Strukturen einheimischer Najaden vergleichend darzustellen, am Beispiel der Flußperlmuschel den Encystierungsverlauf und die Larvalentwicklung bis zur Jungmuschel licht- und elektronenmikroskopisch zu verfolgen.

Um geöffnete Glochidien untersuchen zu können, mußte zunächst ein geeignetes Betäubungsmittel für den Schließmuskel gefunden werden. Zu ihrer weiteren Präparation, zur Untersuchung der Encystierung und der Larvalentwicklung von Perlmuschellarven mußten Fixierrezepturen, Entwässerungs- und Trocknungsmethoden so abgeändert werden, daß sie sich für empfindliches larvales Gewebe eigneten.

2. Material und Methoden

Die hier vorgelegten Untersuchungen waren nur möglich, weil mir aus verschiedenen laufenden Freilandarbeiten oder entsprechenden Laborhälterungen reife Glochidien oder andere definierbare Entwicklungsstadien zur Verfügung gestellt wurden (s. Danksagung).

2.1. Trächtige Muscheln und deren Laborhälterung

Die Zeiten der Verfügbarkeit der untersuchten Stadien sind in Tabelle 3 (nächste Seite) zusammengestellt.

Um möglichst saubere Glochidien zu gewinnen, mußten im Labor die trächtigen Muscheln vorsichtig gereinigt und die Fütterung eingestellt werden. Die Hälterung erfolgte in filtriertem Standortwasser in belüfteten Standardaquarien bei 14°-17°C.

Art	Vorliegende Beobachtungen zur Trächtigkeit		Abgabezeitraum	Autor
	Entwicklungstyp	sichtbar trüchtige Muscheln ab:		
<i>Margaritifera margaritifera</i> , LINNAEUS	Kurzzeitbrüter	Juni	Ende Juli bis Mitte September	BAUER 1989, DETTMER 1982, BUDDENSIEK 1991
<i>Unio tumidus</i> , PHILIPSSON	Kurzzeitbrüter	April *)	Ende April bis Mitte Juli	FLEISCHAUER-RÖSSING 1990, MAAß 1987, WILMS 1991
<i>Unio pictorum</i> , LINNAEUS	Kurzzeitbrüter	April *)	Ende April bis Mitte Juli	FLEISCHAUER-RÖSSING 1990, MAAß 1987, WILMS 1991
<i>Unio crassus</i> , PHILIPSSON	Kurzzeitbrüter	März	April bis August	BEDNARCZUK 1986, ENGEL 1990, HOCHWALD 1988
<i>Anodonta cygnea</i> , LINNAEUS	Langzeitbrüter	August **)	Anfang März bis Ende April	CLAES 1987, NIEMEYER 1993
<i>Anodonta anatina</i> , LINNAEUS	Langzeitbrüter	August **)	Anfang März bis Ende April	NIEMEYER 1992
<i>Pseudanodonta complanata</i> ROßMÄßLER	Langzeitbrüter	August bis Februar ***)	Mitte Januar bis Ende April	HÜBY 1988

Tab. 3: Übersicht über Trüchtigkeitsperiode und maximalem Abgabezeitraum von Glochidien.

Bemerkung: Bei Kurzzeitbrütern reifen die Glochidien in den Kiemenbruttaschen der Weibchen innerhalb von einigen Wochen, bei Langzeitbrütern innerhalb mehrerer Monate, sie bleiben über Winter in den Marsupien.

*) nach FLEISCHAUER-RÖSSING (1990) Brutphase des mütterlichen Individuums beider Arten 4 bis mehr als 6 Wochen

***) nach NIEMEYER (1992) ab Oktober vollständig entwickelte Glochidien

****) nach HÜBY (1988) ab September reife Glochidien

2.2. Gewinnung und Bearbeitung der Glochidien

2.2.1. Glochidiengewinnung

Nachdem sich herausgestellt hatte, daß bei Punktion des Marsupiums der Altmuschel (NIEMEYER 1992) die Larven häufig zu viele Auflagerungen organischen Materials zeigten und dadurch für die Rasterelektronenmikroskopie unbrauchbar waren, wurde diese Methode verworfen und der natürliche Glochidienausstoß abgewartet. Zur Brutzeit wurden die Aquarien täglich zweimal kontrolliert, um möglichst frisches Material zu erhalten, da die Larven ohne Anheftung an einen Wirtsfisch nur wenige Tage überlebensfähig sind (MAAß, 1987, ENGEL 1990). Abgegebene Glochidien bilden ein milchiges Sediment, das man gut absaugen kann. In einigen Fällen ließ sich zögernder Glochidienausstoß durch das Einsetzen von ein bis zwei Fischen pro Aquarium (HÜBY 1988) auslösen.

2.2.2. Überprüfung der Glochidien auf ihre Reife und Isolierung

Zunächst mußte eine kleine Menge der Glochidien in eine Petrischale abgefüllt und unter dem Stereomikroskop auf ihre Reife überprüft werden. Voll entwickelte Glochidien sind nicht mehr von Eihüllen umgeben und reagieren auf Zugabe von Kochsalzkristallen mit Schnappbewegungen und letztendlich mit Schalenschluß (LEFÈVRE und CURTIS 1910, MAAß 1987, ENGEL 1990, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990, NIEMEYER 1993). Hatte die Mehrzahl der Larven dieser ersten Entnahme so reagiert, stand zwar fest, daß sie reif waren, mußten aber dennoch wegen der geschlossenen Schale verworfen werden, weil der Weichkörper untersucht werden sollte. Im nächsten Arbeitsgang wurden die restlichen Glochidien in mehreren Raten in Petrischalen gefüllt und unter dem Auflichtmikroskop betrachtet. Da die Gelege außer reifen Larven auch Eipakete enthalten, mußten einzelne Glochidien abpipettiert werden. Bei der sehr kleinen *Margaritifera margaritifera* ist eine solche Unterscheidung schwerer, ihre Glochidien wurden nach der Osmierung von Detritus und unreifen Larven getrennt (s. u.).

2.2.3. Betäubung und Anfixieren der Glochidien

Um ein Schließen der Schalen zu verhindern wurde bis zum eigentlichen Fixationsvorgang ausschließlich filtriertes Standortwasser (*Margaritifera margaritifera*) oder Hälterungswasser (bei den anderen Arten) verwendet. Die isolierten Glochidien wurden in 20 ml Wasser auf 7°C gebracht. Nach 30 Min. wurde 1 Tropfen gesättigtes MgCl₂ hinzugegeben, nach weiteren 30 Min. Inkubierung ein zusätzlicher. War unter dem Auflichtmikroskop kein Schalenklappen zu beobachten, kamen in der Regel weitere 4 Tropfen hinzu. Jede 1/2 h wurden wenige Glochidien abpipettiert, um an ihnen mit dem NaCl-Test (s. 2.2.2.) zu überprüfen inwieweit der Schließmuskel betäubt war. Zeigten die Glochidien keine Schnappbewegungen mehr, so wurden 10ml des Hälterungswassers langsam durch 2% Glutaraldehyd, ungepuffert, ersetzt..

2.2.4. Bearbeitung zur Licht- und Elektronenmikroskopie

Für die Untersuchungen an Glochidien wurden ausschließlich die beiden elektronenmikroskopischen Techniken angewandt. Die in Tabelle 4 (umseitig) zusammengefaßten Bearbeitungsschritte für die Licht- und Elektronenmikroskopie gelten sowohl für die Präparationen der Glochidien als auch für die der Encystierung und Larvalentwicklung der Flußperlmuschel, die ab Kapitel 2.3. beschrieben werden.

Arbeitsvorgang	Lichtmikroskopie	Elektronenmikroskopie	
	Histologie:	Transmission:	Raster:
Aldehydfixierung	2% Glutaraldehyd, mit 20mM Na-Cacodylat gepuffert	1% Glutaraldehyd, mit 20mM Na-Cacodylat gepuffert	1% Glutaraldehyd, ungepuffert
Fixierzeit und Temperatur	48 h, 7°C	24 h, 7°C	48 h, 7°C
Wässern	5 mal für 10 Min. mit A. bidest	5 mal für 10 Min. mit A. bidest.,	5 mal für 10 Min. mit A. bidest.
Oberflächenfixierung			1% Propylenphenoxetol 24h
Fettfixierung		2% OsO ₄ Abzug, 4h	2% OsO ₄ , Abzug, 16h
Wässern	s.o.	5 mal für 10 Min mit A. bildest.	5 mal für 10 Min. mit A. bidest.
Nachreinigung			bei Glochidien, Abb.1
Entwässerung	im Gradientenmischer über Isopropanol (RWL) oder Aceton (Technovit) s. Abb.2	im Gradientenmischer über Aceton s. Abb. 2	im Gradientenmischer über Aceton, s. Abb. 2
Einbettung	RWL (RWL-Histotechnologie), Technovit (Fa. Kulzer)	Durcupan ACM (Fluka)	
Weiterverarbeitung	Semidünnschnitte, Färbungen	Ultradünnschnitte, Kontrastierung	Trocknung, Besputtern mit Gold

Tabelle 4: Bearbeiten des untersuchten Materials im Überblick für alle drei angewandten Techniken.

Anmerkung: Besondere, von der Tabelle abweichende Maßnahmen werden im Text beschrieben.

Das Osmieren der Glochidien hat neben der Nachfixierung den Vorteil, daß die kleinen geschwärzten und durch das eingelagerte Osmium auch schwerer gewordenen Objekte für die Weiterverarbeitung besser hantierbar waren.

Die jetzt gut erkennbaren Glochidien wurden für die Rasterelektronenmikroskopie in Petrischalen mit A. bidest. überführt und durch rotierende Bewegung von locker anhaftenden Partikeln,- den im Scanner außerordentlich störenden Auflagerungen-, befreit. Bei den Perlmuschellarven wurden mit dieser Methode Eipakete und unreife Glochidien abpipettiert.

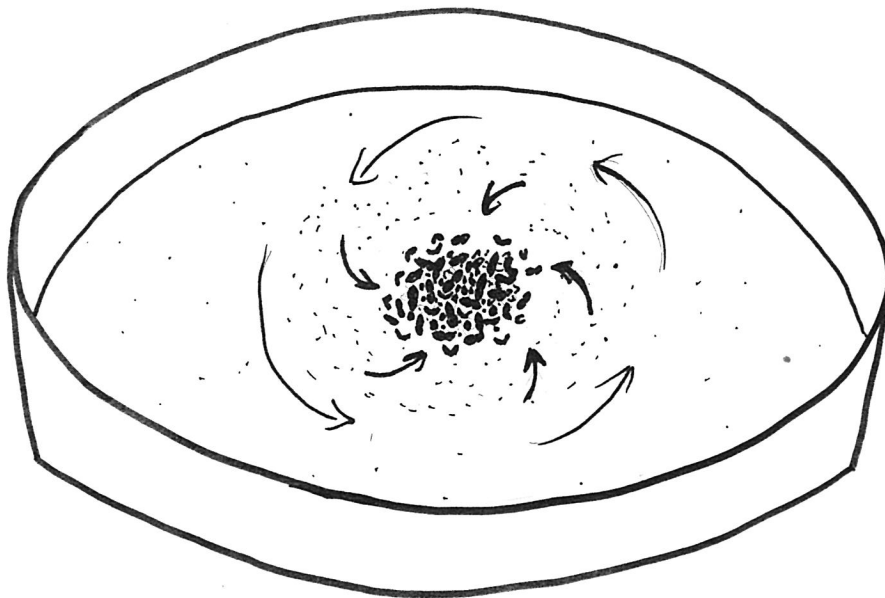
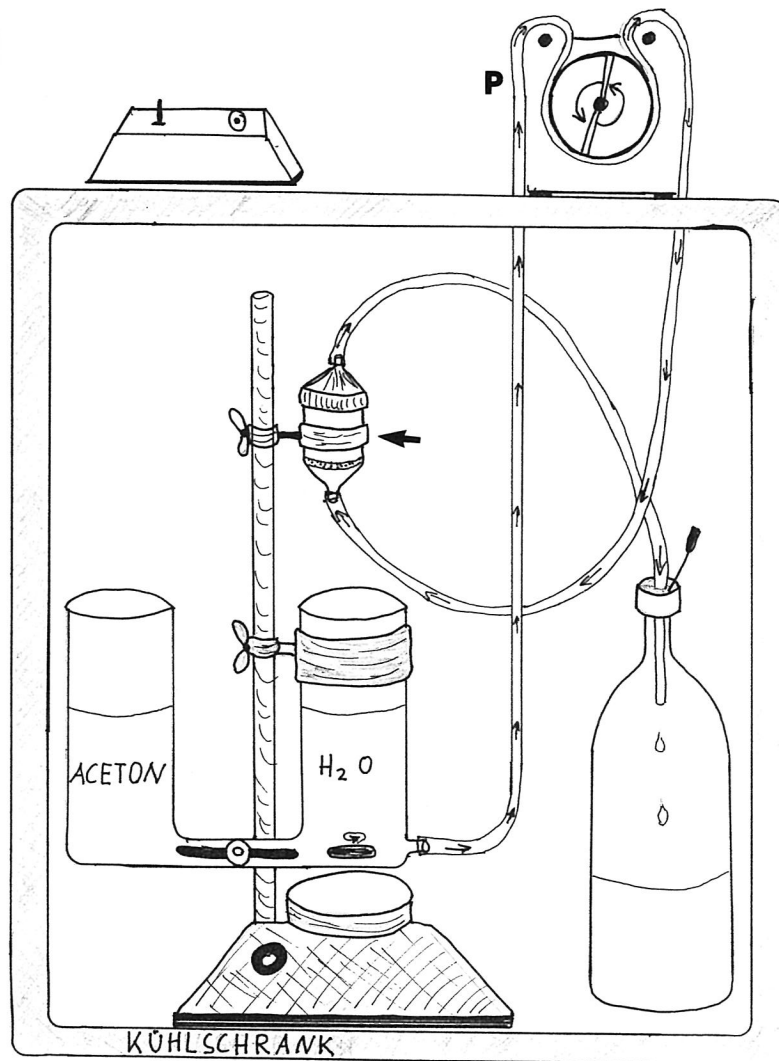


Abb. 1: Petrischale mit an der Drehachse abgelagerten Glochidien, Außenpfeile = Drehbewegung, Innenpfeile = Bewegungsrichtung der aufgewirbelten Larven

Anschließend kamen alle Präparate in geeigneten Gaze- oder Linsenpapierbeuteln (letzteres für Perlmuschellarven) in den Entwässerungsapparat (s. Abb. 2).

Die Entwässerung erfolgte mit Aceton im Gradientenmischer im Kühlschrank bei 7°C über Nacht. Diese Anlage funktioniert nach dem Prinzip der kommunizierenden Röhren. Die Mischung mit steigender Acetonkonzentration wird zunächst von der



Schlauchpumpe Masterflex (Quick Load M.Nr. 521.30) angesaugt und dann von unten durch das Probengefäß gepumpt (s. Abb. 2, kleine Pfeile in den Schläuchen). Wegen der unterschiedlichen Dichte von Wasser und Aceton mußten die beiden Lösungen abgewogen werden. Zur Restentwässerung wurden die Probenbeutel fünf Mal je 10 Min. in getrocknetem Aceton inkubiert. Als TrocknungsmEDIUM eigneten sich Kupfer-Molekularsiebe am besten, weil sie als einzige keine Niederschläge auf dem Gewebe zeigten.

Abb. 2: Gradientenmischer zur Entwässerung, Probengefäß = Pfeilspitze, P = Pumpe,

2.2.5. Trocknung für die Rasterelektronenmikroskopie

Anschließend wurden sowohl Muschellarven als auch Kiemenpräparate in den Überdruckapparat (Polaron Waterfood) zur Trocknung über den kritischen Punkt von Kohlendioxyd, 32°C und 60 bar, überführt. Dort tauscht man Aceton unter Druck

gegen flüssiges CO₂. Zum besseren Durchdringen der Gaze- und Linsenpapierbeutel mit diesem Gas wurden diese Präparate für 1 Std. unter 60 bar Druck dort belassen und das flüssige Kohlendioxyd anschließend weitere 2mal gewechselt. Im nächsten Schritt wurde das Gerät zum kritischen Punkt von CO₂ auf 32°C aufgeheizt und die Glochidien getrocknet. Wegen der Empfindlichkeit des Gewebes mußte das jetzt gasförmige Kohlendioxyd sehr langsam - im Verlauf einer Stunde - abgelassen werden, andernfalls gab es Artefakte. Um Rekondensation zu verhindern empfahl es sich zum Abdampfen den Druckbehälter auf 37°C aufzuheizen.

2.2.6. Aufkleben, Besputtern und Elektronenmikroskopie

Die Objektträgerteller wurden mit Doppelseitkleber bestückt. Er sollte möglichst dünn sein, um Vibrationen im Elektronenstrahl zu vermeiden. Unter dem Stereomikroskop wurden nun die Glochidien einzeln aufgeklebt, indem mit einer Wimpernspitze unter einen Schalenhaken "gefaßt" und die Larve vom Papierbeutel zum Objektträgerteller gehoben wurde. Dieser Vorgang nimmt Zeit in Anspruch und über den kritischen Punkt getrocknete Gewebe sind hygroskopisch. Wegen dieser beiden Tatsachen mußten die jeweils nicht bearbeiteten Präparate im Exsickator mit Trocknungsmedium (Kupfersulfat oder Calciumchlorid) und unter Vakuum aufbewahrt werden, um sie trocken zu halten.

Die bestückten Rasterteller wurden in das Sputtergerät Hummer V Techniks eingesetzt und dort mit einer Schicht von ca. 10 nm Gold besputtert.

Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen erfolgten sowohl am ETEC Autoscan als auch am Zeiß Microscope DSM 940. Als Photomaterial dienten die Filme Agfa Pan APX 100/120 und Ilfospeed RC (Fa. Ilford).

2.3. Untersuchungen zur Encystierung und Larvalentwicklung der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*)

Margaritifera margaritifera kann man als ausschließlichen Kiemenparasiten bezeichnen. Die Muschellarven werden von den Fischen mit dem Atemwasser aufgenommen und können sich so an deren Kiemenblättchen anhaften.

Seit in einheimischen Gewässern keine Lachse mehr vorkommen, dient der Flußperlmuschel die Bachforelle *Salmo trutta* vor allem als Wirtsfisch.

Nach Beobachtungen von Dettmer (unveröffentlicht 1990) lassen sich Regenbogenforellen mit einheimischen Perlmuschellarven über eine kurzfristige Anheftung, für drei bis vier Tage, nicht erfolgreich infizieren. Dieser Abstoßungsvorgang sollte daher parallel zur erfolgreichen Encystierung untersucht werden.

2.3.1. Laborinfektionen

Um den Encystierungsprozeß der Flußperlmuschellarven rasterelektronenmikroskopisch zu erfassen, wurden Fische infiziert. Die angewandte Technik ist weitgehend standardisiert und wurde über viele Jahre mit Erfolg bei allen einheimischen Najaden angewandt (HARMS 1909, DETTMER 1982, ENGEL 1990, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990, HÜBY 1988, NIEMEYER 1992).

Im Rahmen dieser Arbeit lief die Infektion wie folgt ab. In zwei 20l Standardwannen wurde Bachwasser des Muschelstandorts eingefüllt. Dieses Wasser wurde benutzt, weil sich bei den Betäubungsversuchen (s.o.) herausgestellt hatte, daß die *Margaritifera*-Glochidien äußerst empfindlich und meistens mit Schalenschluß auf chemische Veränderungen des sie umgebenden Mediums reagieren, auch auf Aqua bidest. In die eine Wanne wurden, 10 Bachforellen (*Salmo trutta*) eingesetzt, an diesen Wirtsfischen sollte die erfolgreiche Encystierung der Larven festgehalten werden, in die andere 10 Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*), um den Abstoßvorgang zu beobachten. Junge Bachforellen (sogenannte Fingerlinge) eignen sich am besten, ältere Fische können sich durch Mehrfachinfektionen immunisieren (BAUER 1987). Die frisch abgegebenen Glochidien einer Flußperlmuschel (jeweils 3-4 Millionen) wurden nach Überprüfung ihrer Infektionsfähigkeit (NaCl-Test) in zwei Bechergläser aufgeteilt und in jeweils eine der Infektionswannen zu den beiden Forellenarten gegeben. Mit Hilfe von zwei großen Sprudelsteinen wurden die Becken durchlüftet und die Glochidien zur Verbesserung der Infektionsrate in der Schwebe gehalten. Nach einer Infektionsdauer von 30 Min. wurden die Fische zu jeweils fünf Exemplaren einer Art in Standardaquarien umgesetzt.

2.3.1.1. Betäubung der Fische

Von beiden Arten wurden in bestimmten Zeitabständen (s.u.) zwei Fische betäubt, um den Erfolg und anfänglichen Verlauf der Infektion zu überprüfen. Als Betäubungsmittel diente eine Ethylenglykolmonophenylether-Lösung (0,5ml auf 2l Hälterungswasser, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990 und dort HETZEL mdl.)

In flachen Plastikschaalen wurden unter dem Stereomikroskop die Kiemen der sedierten Fische auf Glochidienbesatz untersucht und der dichter besetzte Fisch abgetötet. Der andere konnte nach 30 Min. Zwischenhälterung ins Aquarium zurückgesetzt werden, da das angewandte Betäubungsmedium schonend wirkt.

2.3.1.2. Fixierung der Infektionsstadien auf der Bachforellenkieme

Nach der Infektion wurden in folgendem Zeitverlauf Proben entnommen: 1, 3, 6, 24 und 48 Stunden. Die mit Glochidien besetzten Kiemen der nach Betäubung abgetöteten Fische wurden herauspräpariert und sofort in ungepuffertes 2% Glutaraldehyd überführt. Diese Fixierung hatte sich in Vorversuchen als am günstigsten für die Raster-Elektronenmikroskopie der Infektionsstadien erwiesen, weil keine Schrumpfungartefakte auftraten. Die eben genannte Technik wurde zur Beobachtung der Encystierung bis 48 Stunden nach der Infektion ausschließlich angewandt.

Nach der Osmierung wurde zusätzlich in 1% Propylenphenoxetol für 24 Std. inkubiert. Diese Fixierung verfestigt die Oberfläche, macht die Proben aber für die Histologie untauglich (HETZEL 1991 mdl.).

Spätere Stadien für die histologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen (REM, TEM) zur Larvalentwicklung der Flußperlmuschel wurden aus monatlichen Kontrollen bis zum Ende der parasitären Phase (ca. 10 Monate) von Herrn Dettmer aus laufenden Infektionsversuchen zur Verfügung gestellt. Diese Proben wurden zerteilt und für die jeweils angewandte Technik wie in Tabelle 4 beschrieben bearbeitet. Bei den Untersuchungen an diesen Präparaten kamen sowohl histologische als auch elektronenmikroskopische Techniken zur Anwendung.

2.3.1.3. Fixierung der Infektionsstadien auf der Regenbogenforellekieme

Bei diesem Versuch wurde nur nach 1, 3, 6 und 24 Stunden Kiemengewebe fixiert. Da nach 24 Stunden die Kiemen wieder weitgehend glochidienfrei waren wurde auf eine Fixierung nach 48 Stunden verzichtet. Die Untersuchungen erfolgten ausschließlich rasterelektronenmikroskopisch.

2.3.2. Herstellen von Proben für lichtmikroskopische Untersuchungen

Histologisch wurde ausschließlich die Larvalentwicklung der Flußperlmuschel untersucht, die Bearbeitung des Materials erfolgte wie in Tab. 4 angegeben.

Die ausgehärteten Präparate wurden mit dem Technovit-Kunststoffkleber auf Holz- oder Kunststoffblöckchen befestigt und mit dem Autocut (Fa. Jung, Mod. 1140) 2-4 µm dünn geschnitten. Die benutzten Metallmesser waren LKB, Kulzer, Superlap.

Bis zu drei Monaten nach der Enzystierung der Perlmuschellarven wurde die Semidünnschnitttechnik benutzt wie unter 2.3.3.5. beschrieben. Weil dafür einzelne Larven aus dem Kunststoff in einer kleinen Pyramide herausgearbeitet werden, ist das Justieren der Schnittebene möglich.

2.3.2.1. Färbungen

1. Übersichtsfärbungen:

- a) Hämatoxylin-Eosin mit Hämalaun (n. DELAFIELD, BURCK 1988)
- b) Halmi (ROMEIS 1989)
- c) Methylenblau-Azur-Eosin, (Semidünnschnitte), (Böck 1984)
- d) Methylenblau-Azur II, (Semidünnschnitte), (Burck 1988)
- e) Tuloidinblau-Fuchsin, (Semidünnschnitte), (Böck 1984)
- f) Tuloidinblau, (Semidünnschnitte), (Böck 1984)
- g) Ziehl-Neelsen (ROMEIS 1989)

2. Bindegewebsfärbungen:

- a) Giemsa (ROMEIS 1889)
- b) Panoptische Färbung nach Pappenheim (BURCK 1988)

3. Nachweisfärbungen:

Die beiden Nachfolgenden wurden ausschließlich bei Schnitten von *Margaritifera* - Jungmuscheln angewandt. Da es sich um Fettnachweise handelt, wurde über das Infiltrationsmedium des Kunststoffes entwässert, das anders als Aceton o.ä. Fett nicht auswäscht.

- a) Sudanschwarz B (LISON 1960), Fett
- b) Nilblau A (ROMEIS 1988), Fett
- c) Alcianblau-PAS (ROMEIS 1989) Mucopolysaccharide

4. Versilberung

- a) Gömörrie (ROMEIS 1989)

Alle Färberezepte mußten für das Muschelgewebe modifiziert werden. Eine Auflistung befindet sich im Anhang.

2.3.3. Verfahren für Glochidien und Cysten

Bei frisch fixiertem Material bleibt das Kiemenepithel noch durchsichtig und man kann unter dem Stereomikroskop in den Zysten die beiden Schalenhälften der Glochidien erkennen. In Vorversuchen wurden Instrumente aus der Augen Chirurgie ausprobiert, um die Larven zu öffnen. Da sich diese Hilfsmittel aber immer noch als zu grob herausstellten, wurden später ausschließlich frisch gebrochene Glasmesser der Ultradünnschnitt-Technik benutzt. Mit dieser Methode wurden die beiden Schalenhälften samt Zyste mit einem Längsschnitt voneinander getrennt, was zu etwa 20 % bei 3 Monate alten Glochidien gelang. Jüngere Larven waren zu klein. Frontalschnitte gelangen nur zu etwa 5 %. Das Material wurde bearbeitet wie in Tab. 4 und unter 2.2.5 und 2.2.6 angegeben. Bemerkenswert muß, daß nach der Fixierung mit Propylenphenoxetol zwar die Oberflächen sehr gut erhalten sind, das Gewebe jedoch eine gummiartige Konsistenz erhält. Bei relativ großen Kiemenpräparaten kann dadurch der Nachteil entstehen, daß bei aufprallendem Elektronenstrahl das Präparat in Schwingungen gerät, was die Bildqualität erheblich vermindert.

Da bei diesem Arbeitsprozeß bei dicht mit Glochidien besetzter Kieme stets Cysten unverletzt blieben, konnten auch sie sozusagen nebenher mitgerastert werden.

2.3.3.1 Präparation zur Transmissionslektronenmikroskopie

Um ein Aufblähen oder schrumpfen der Zellorganellen zu vermeiden (ROBINSON et al. 1985), sollten hier die Fixiermedien möglichst isoton zum Material sein.

Die Ionenkonzentration ohne Protein einheimischer Süßwassermuscheln liegt bei 37 mM. (Anodonta nach PROSSER, 1973, 37,49 mM und nach POTT, 1954, 37,057 mM) In Anlehnung an diese Werte wurden die Proben in Fixiermedien von 4 verschiedenen Osmolaritäten inkubiert.

Angewandt wurde 1 % Glutaraldehyd, abgepuffert mit Na-Cacodylat mit den Konzentrationen 40 mM, 30 mM, 20 mM und 10 mM, eingestellt auf pH 7,4. Bei 20 mM zeigte sich bei Transmissionsaufnahmen die beste Gewebserhaltung. Verfahren wurde wie in Tab. 4 beschrieben.

Zur Einbettung kam das Gewebe in einem Gemisch aus Durcupan ACM (Fluka) und Aceton 1 : 1 in den Rotor, um eine gute Durchtränkung der Präparate mit dem auf diese Weise flüssig gehaltenen Kunstharz zu gewährleisten. Die Probenröhrchen blieben für 4h geschlossen, um ein Entweichen des Acetons zu verhindern. Es verdunstete bei abgeschraubten Deckeln über Nacht, unter dem Abzug und bei ständigem Rotieren.

Am nächsten Tag wurden die Präparate in Gelatine kapseln 0,5 cm (Fa. Pohl-Boskamp) überführt und mit frisch angesetztem Durcupan ACM eingegossen. Der Kunststoff wurde anpolymerisiert im Trockenschrank für 24 h bei 40° C, - hier bleiben die Proben justierbar - , und anschließend auspolymerisiert bei 60° C, 48 Stunden lang.

2.3.3.2. Ultradünnschnitte

Nach Aushärten des Durcupans (ca. 1 Woche, LICKFELD 1979) erfolgte das Zuschneiden der Blöcke und die Orientierung an Semidünnschnitten (Färbung m. 1% Tuloidinblau, gelöst in 2,5 % Na₂CO₃, Böck 1984).

Die Glasmesser für Semidünnschnitte wurden im Knife Maker (LKB 7801 B, Stockholm) hergestellt, die Ultradünnschnitte mit einem Diamantmesser der Fa. Du Pont, U.S.A., und beide Schnittarten auf dem Ultramikrotom (Reichert, Austria Nr. 318 444 E) gefertigt. Aufgezogen wurden die Schnittbänder auf Kupfergrids mit 3,05 mm Durchmesser, deren Aussparung mit Pioloform 0,55 % befilmt war.

2.3.3.3. Kontrastierung und Elektronenmikroskopie

Die Schnittkontrastierung erfolgte mit frisch zentrifugiertem 2% (g/100ml) Uranylacetat 8 min. lang und frisch angesetztem Bleicitrat nach Reynolds (1963) für 6 min. in der Färbevorrichtung (Fa. BaLzer). Photographiert wurden die Schnitte unter dem Transmissionselektronenmikroskop (EM 10 A, Zeiss) bei 80 kV. Als Photomaterial diente Ilfospeed RC (Fa. Ilford).

3. Ergebnisse

3.0.1. Fixierte Glochidien im Größenvergleich

Die Größen der Glochidien schwanken geringfügig nicht nur innerhalb einer Art sondern auch innerhalb eines Geleges. Sie wurden bereits von verschiedenen Autoren stereomikroskopisch vermessen und die Durchschnittswerte ermittelt. Angaben zu den Maßen wurden in Tabelle 1 mit Nennung der Autoren zusammengefaßt.

Um die Größenunterschiede zu verdeutlichen, wurden fixierte Glochidien verschiedener Gattungen abgebildet (s. Abb. 3).

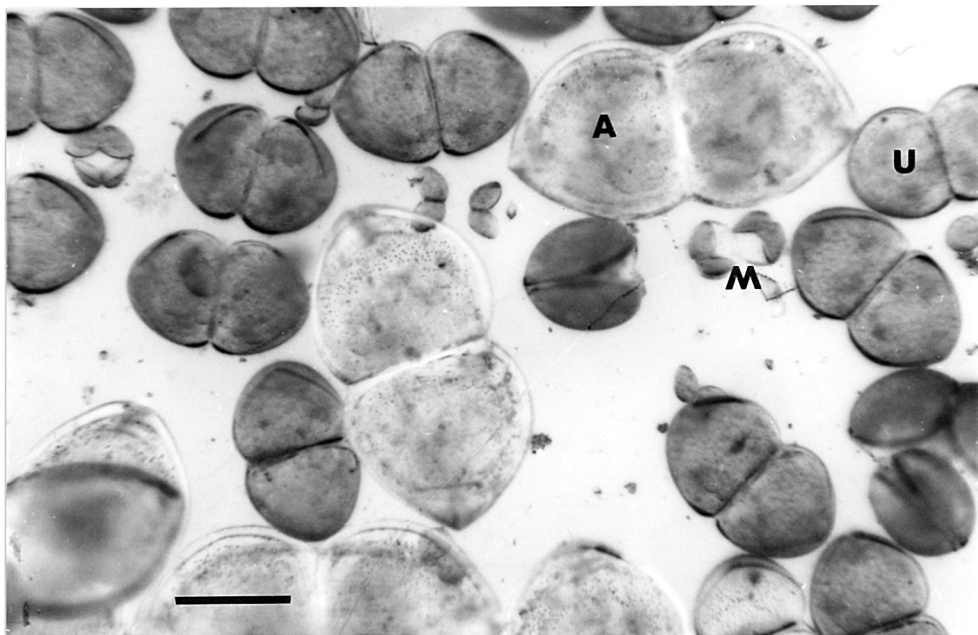


Abb. 3: Glochidien von 3 Gattungen zum Größenvergleich, A = *Anodonta*, U = *Unio*, M = *Margaritifera margaritifera*, (Maße s. Tab. 1), Maßstab 200µm

3.0.2. Übersicht über die wichtigsten Strukturen der *Unionacea*-Glochidien

Den Einzelbeschreibungen der untersuchten Glochidien wird eine schematisierte Zeichnung vorangestellt, in die außer Längen- und Höhenmaß die auffallendsten Strukturen eingetragen sind, die in Lagebeziehung und Ausprägung deutlich variieren können. Die in der Beschreibung benutzte Nomenklatur bezieht sich auf HARMS (1909), HERBERS (1914) und KAESTNER (1965). In Übereinstimmung mit den Maßen adulter Muscheln wird, wie aus Abb. 4 hervorgeht als "Länge" die Strecke a, (von einigen Autoren auch als Breite bezeichnet, z.B. HÜBY 1988) und als "Höhe" die Strecke b angesehen (s. auch MAAß 1987, ENGEL 1990, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990, NIEMEYER 1993).

Gemeinsame Baumerkmale der Glochidien sind: a) Maße, b) Schalenform, c) Schalenhaken, d) Oberfläche des Weichkörpers, e) Larvalfaden, f) seitliche Gruben, g) Sinnesborsten. Zeichnungen vom Glochidium der einzelnen Arten sind in Abb. 63a zusammengefaßt.

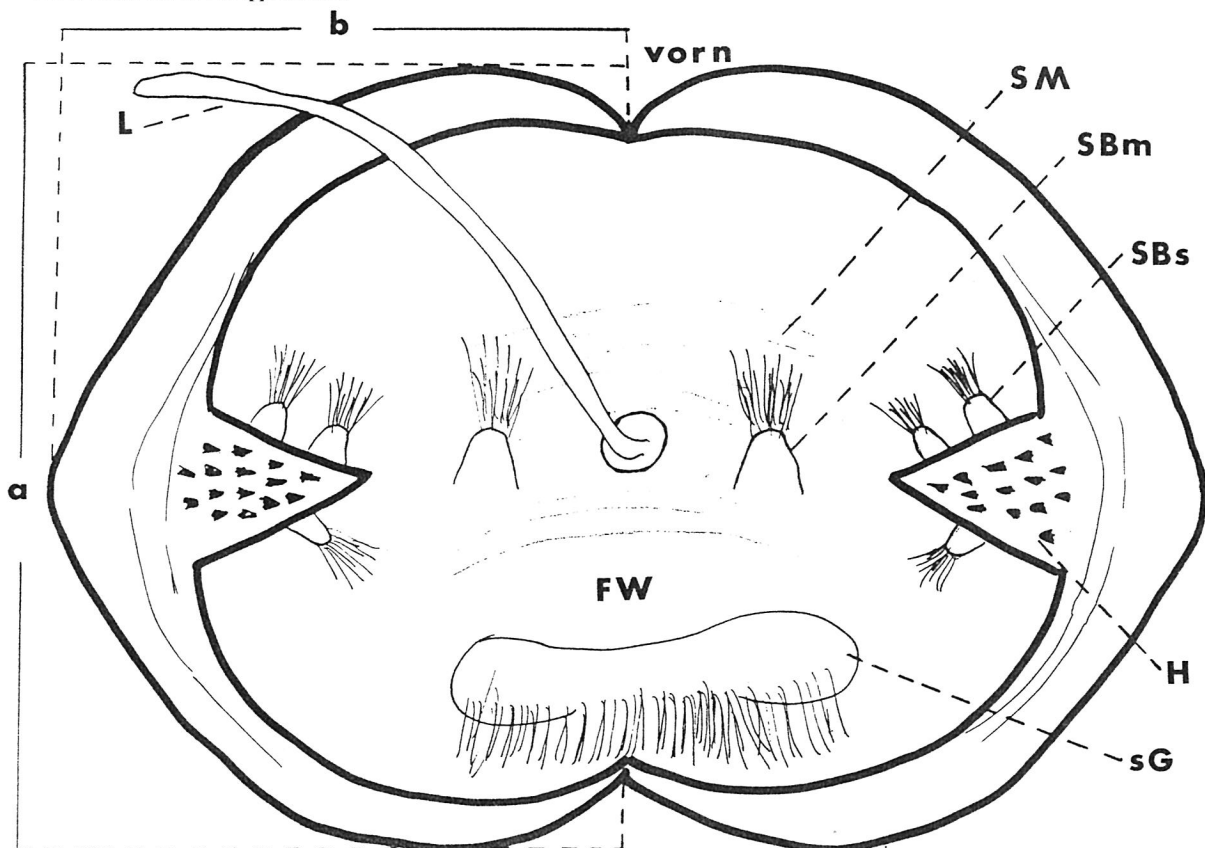


Abb. 4: Schemazeichnung einer Glochidie, FW = Fußwulst, H = Schalenhaken, L = Larvalfaden, sG = seitliche Grube, Sbm = Sinnesborsten median, Sbs = seitliche Sinnesborsten (beim Schalenhaken), SM = Schließmuskel, a = Länge, b = Höhe

3.1. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Glochidien der Familie *Unionidae*

3.1.1. REM von Glochidien der Gattung *Unio*

a) Maße

Mit ihrer Durchschnittsgröße von 210 µm Länge und 200 µm Höhe liegen die Unio-glochidien zwischen den größeren der Anodonten (*A. cygnea* 310µm und *A. anatina* 340 µm, s. Tab. 3) und den sehr viel kleineren von Margaritifera (60 µm, s. Tab. 3).

b) Schalenform

Alle drei einheimischen Arten der Gattung *Unio* zeigen Larven, die lichtmikroskopisch in der Außenaufsicht wie abgerundete Dreiecke, in etwa herzförmig wirken und alle etwas länger sind als hoch (s. Abb. 5, 6, 7).

In der Frontalaufsicht zeigen sie im REM eine fast halbkugeligen Schale, die für die einheimischen Arten dieser Gattung typisch ist. Die Larven wirken dadurch mehr oder weniger kompakt (s. Abb. 11, 24). Schalenporen sind allein bei *Unio crassus* deutlich zu erkennen (s. Abb. 5).

c) Schalenhaken

Unio-Glochidien tragen am unteren Schalenrand je einen kurzen Haken mit breiter Basis. Parallel zum Schalenrand verlaufen 3-5 Furchen, die vermutlich als elastisches Widerlager dienen, da sie bei Schalenschluß flacher werden. Bei *Unio crassus* und *Unio tumidus* mündet der Haken im rechten Winkel, bei *Unio pictorum* läuft er spitzer, in 70°, aus. Auch in Bezug auf den Zahnbesatz unterscheiden sich die Glochidien der Malermuschel von denen der beiden anderen Arten. Bei diesen Larven sind die Zähne lang und spitz geformt, bei denen der großen und der kleinen Flußmuschel kürzer und die Spitzen wirken abgerundet (s. Abb.8, 9, 9a, 10).

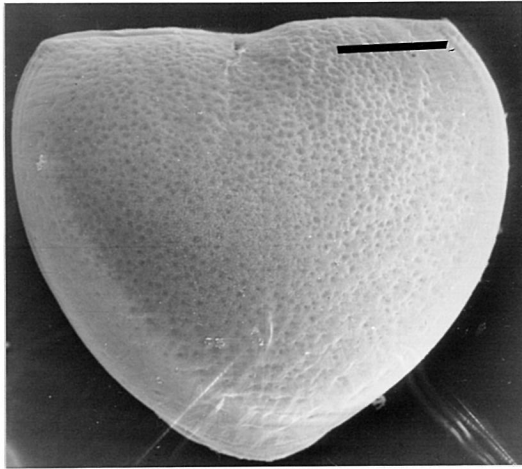


Abb. 5: Glochidie von *Unio crassus*, Schalenaufricht mit sichtbaren Schalenporen, Maßstab 50µm,

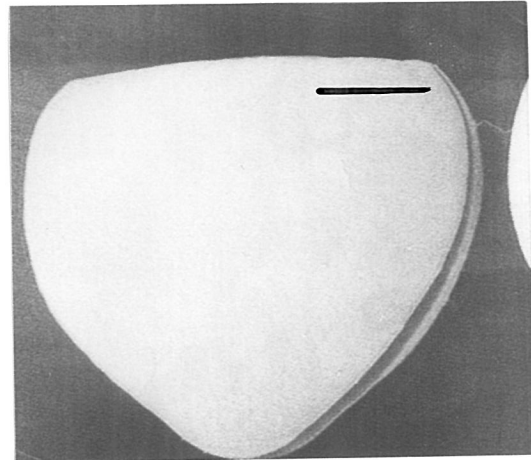


Abb. 6: Aufsicht auf die Larvenschale von *Unio pictorum*, Maßstab 50µm,

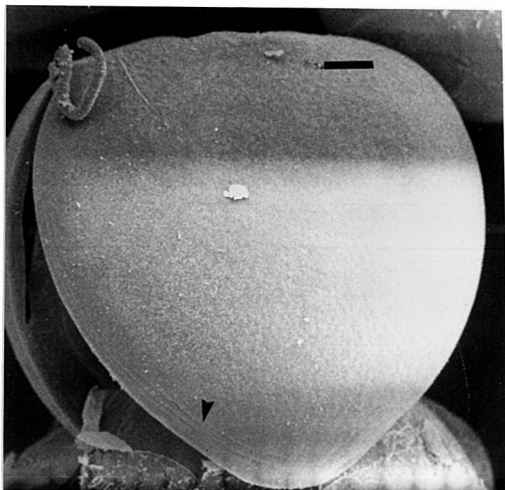


Abb. 7: Glochidie von *Unio tumidus*, Schalenaufricht, Larvalfaden Pfeil, Rillen des Schalenrands >, Maßstab 20µm

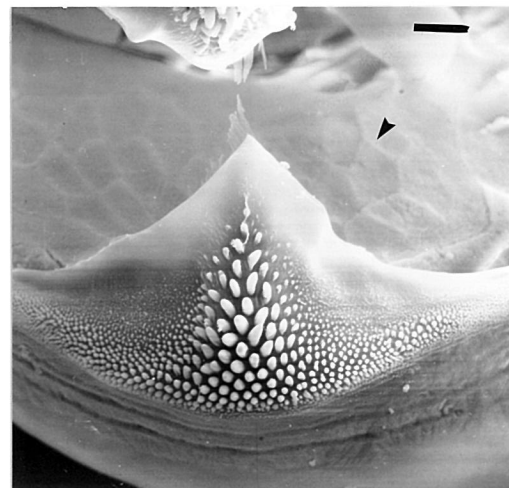


Abb. 8: *Unio crassus*, linker Schalenhaken, Zellgrenzen sichtbar >, Maßstab 20µm,

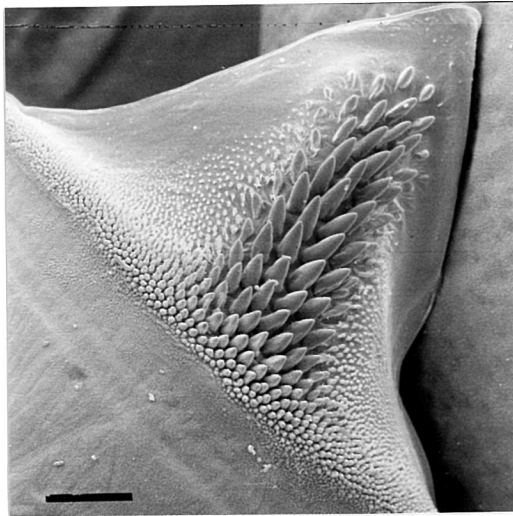


Abb. 9: Schalenhaken von *Unio pictorum*, Maßstab 10µm

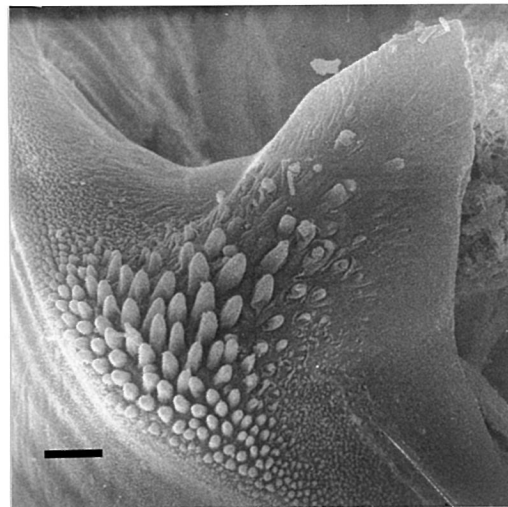


Abb. 9a : Schalenhaken von *Unio tumidus*, Maßstab 5µm

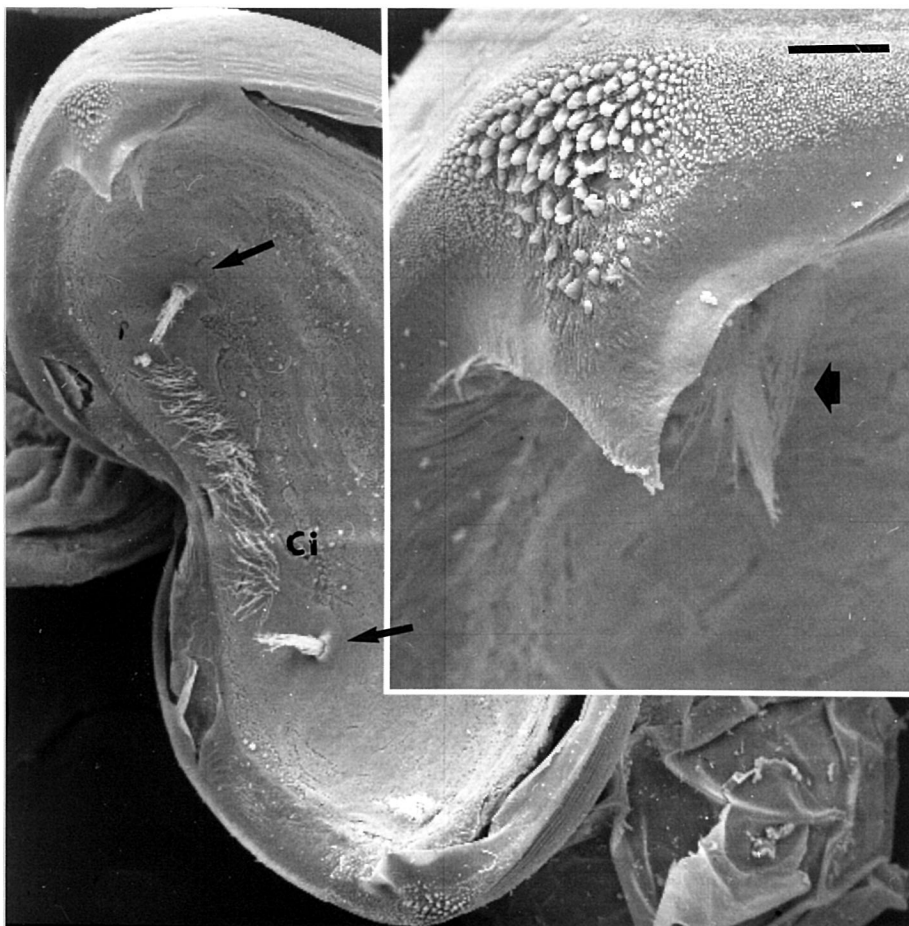


Abb. 10: Übersicht der Glochidie von *Unio tumidus*, Cilienband der seitlichen Grube = Ci, mittlere Sinnesborsten = Pfeil, der Ausschnitt zeigt den Schalenhaken, Cilien der Sinnesborsten in Hakennähe = kurzer Pfeil, Maßstab 10µm

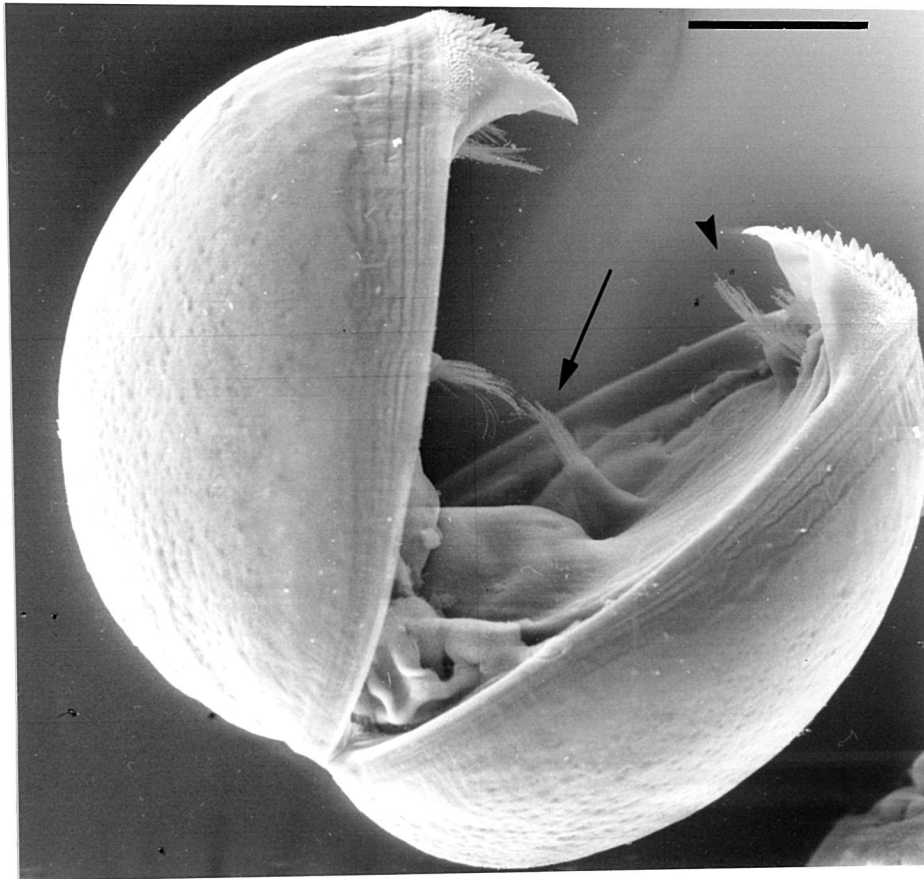


Abb. 11: Seitenansicht von vorn der Glochidie von *Unio crassus*, mittlere Sinnesborsten = Pfeil, Sinnesborsten in Hakennähe = >, Maßstab 50µm



Abb. 11a: Mikrovilli der ventralen Oberfläche von Glochidien, hier abgebildet *Unio crassus*, Zellgrenze = Pfeil, Maßstab 2µm

d) Oberfläche des Weichkörpers

In der Aufsicht auf den Weichkörper ist ein deutlicher Mikrovillibesatz zu erkennen (s. Abb. 11a, 15, 16, 18, 19, 20, 23), der am Schalenrand jedoch flacher wird, bei *Unio crassus* (s. Abb. 18), bzw. ganz verschwindet bei *Unio pictorum* und *Unio tumidus* (s. Abb. 19, 21). Zellgrenzen sind bisweilen erkennbar (s. Abb. 15, 16, 23). Eine deutliche Vorwölbung des Schließmuskels kann nicht beobachtet werden. Am Übergang zum Schalenrand verschwindet der Mikrovillibesatz (s. Abb. 18, 19).

e) Larvalfaden

Ein Larvalfaden fehlt bei *Unio crassus*, bei *Unio pictorum* und *Unio tumidus* inseriert er am Vorderende der Glochidien (s. Abb. 7, 14, 23, 24) und damit an signifikant anderer Stelle als bei den Anodonten, dort sitzt er in der Mitte des Tieres. Der Larvalfaden von *Unio pictorum* ist kräftiger als der von *Unio tumidus* und trägt parallel verlaufende Längsrillen (s. Abb. 23).

f) seitliche Gruben

Die seitlichen Gruben aller drei *Unio*-Glochidien wirken sehr flach, sie senken sich lediglich bei halb geschlossener Schale deutlich ein (s. Abb. 10, 12, 13). Ein Cilienstreifen mit spärlichem Wimpernbesatz verbindet sie bei *Unio crassus* (s. Abb. 12) und *Unio pictorum* (s. Abb. 14). Bei *Unio tumidus* (s. Abb. 10, 13) stehen die Cilien etwas dichter, jedoch erheblich weniger dicht als bei Glochidien der Anodonten. Richtung Schalenhaken befinden sich neben jeder seitlichen Grube je eine Sinnesborste, die im Artvergleich unterschiedlich geformt sind.(s.u.)

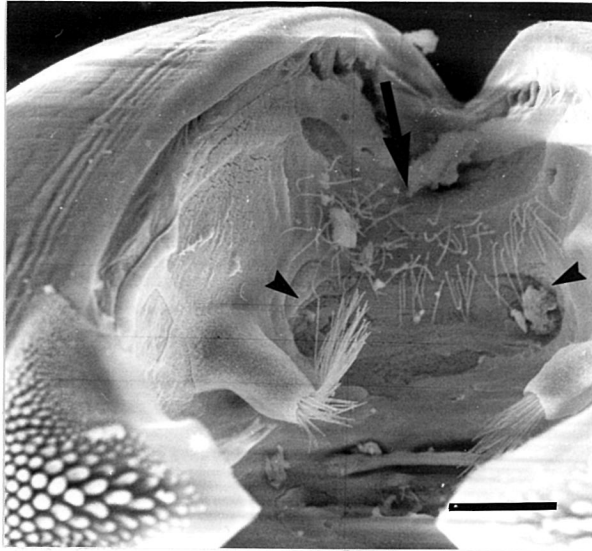


Abb. 12: *Unio crassus*, seitliche Gruben = >, Cilienband = Pfeil, Maßstab 20µm

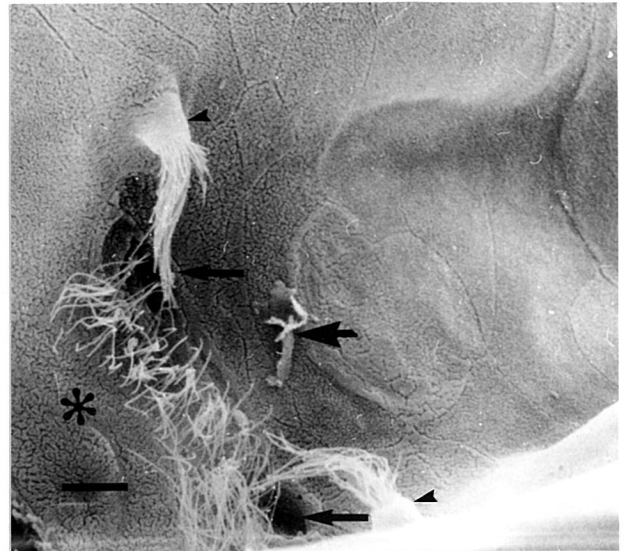


Abb. 13: *Unio tumidus* bei halbgeöffneter Schale, seitliche Gruben = Pfeil, Cilienband = Stern, mittlere Sinneborsten = >, der kurze Pfeil zeigt auf eine Auflagerung, Maßstab 10µm

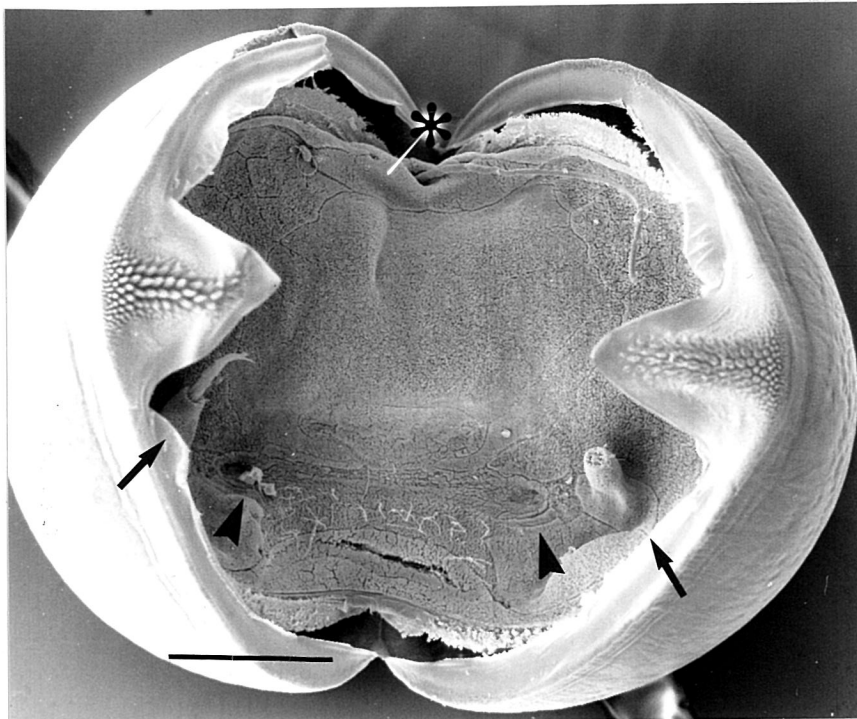


Abb. 14: Glochidie von *Unio pictorum*, seitliche Gruben = >, mittlere Sinnesborsten = Pfeil, Larvafaden = Stern, Ci = Cilienstreifen, Maßstab 50µm

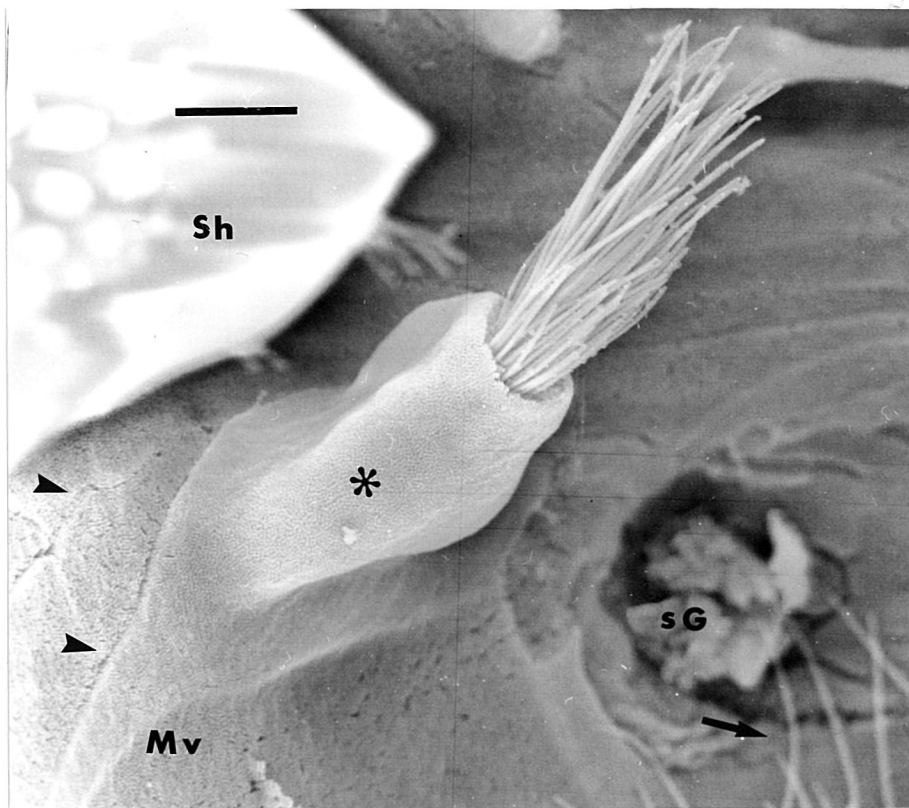


Abb. 15: *Unio crassus*, mittlere Sinnesborste = Stern, Cilienstreifen = Pfeil, Mikrovilli = Mv, Zellgrenzen = >, Schalenhaken = Sh, seitliche Grube = sG, Maßstab 5µm,

g) Sinnesborsten

Bei den drei untersuchten *Unio*-Arten liegen in der Nähe des Schalenhakens drei Sinnesborsten. Zwei Weitere, wesentlich Größere, sitzen neben der seitlichen Grube. Sie inserieren als Cilienbüschel in einer Zelle, deren mit Mikrovilli besetzte apikale Seite sich zu einem zylindrischen Schaft vorwölbt (s. Abb. 15, 16). Die Gestalt der Sinnesborsten variiert vor allem bei den median gelegenen von Art zu Art. Bei *Unio crassus* sitzt ein kräftiges Cilienbüschel in einer zylinderförmigen Zelle, die basal zum hinteren Schalenrand zipfelig ausläuft (s. Abb. 15). Diesen basalen Ausläufer findet man auch *Unio pictorum* (s. Abb. 14, 16), aber bei dieser Art sitzen die Cilien in einem aufgetriebenen wirkendem walzenartigen Zelleib (s. Abb. 16). Bei *Unio tumidus* sind die medianen Sinnesborsten kleiner als die der beiden anderen Arten, sie sind stumpf kegelförmige und tragen bisweilen scheibenförmige Auftreibungen am Ende ihrer Cilien (s. Abb. 17).

Die drei Sinnesborstenpaare am Schalenhaken variieren in ihrer Anordnung. Betrachtet man sie als die Punkte eines Dreiecks, so ist dies bei *Unio crassus* gleichseitig (s. Abb. 18). Bei den Larven der Malermuschel befindet sich die jeweils äußere Haarzelle auf dem flachen Winkel eines Gleichschenkligen (s. Abb. 19 u. Abb. 64). Ebenfalls bei *Unio pictorum* zeigen die Sinnesborsten in Hakennähe bei

starker Vergrößerung (hier 2400fach) eine kegelförmige Gestalt (s. Abb. 20 u. Übersicht in Abb. 63a). Bei den Larven von *Unio tumidus* scheinen die Haarzellen auf den Ecken eines schiefwinkligen Dreiecks angeordnet zu sein und vom Schalenhaken zum Hinterende der Glochidie versetzt (s. Abb. 21 u. Übersicht in Abb. 63a).

Art	Schalenhaken			Sinnesborsten beim Schalenhaken		Sinnesbor- stenpaar median	Larvalfa- den	Seitliche Gruben	
	Fur- chen	Win- kel	Zäh- ne	Anzahl	Gestalt			Ein- sen- kung	Bewim- perung
<i>Unio crassus</i>	4-5	90°	rund/ kurz	3	kurz, kegel- stumpff.	zylinder- förmig	nein	flach	spär- lich
<i>Unio pictorum</i>	3-4	70°	spitz , lang	3	.kegel- förmig	aufgetrieben zylinder- förmig	ja, inseriert vorn	flach	spär- lich
<i>Unio tumidus</i>	3-4	90°	rund/ kurz	3	kurz	kegelstumpf- förmig	ja, inseriert vorn	flach	spär- lich

Tab. 5: Morphologische Variabilität von Glochidien der Gattung Unio

Bemerkungen: Dadurch daß *U. crassus* keinen Larvalfaden besitzt, unterscheidet sie sich deutlich von den beiden anderen Arten. Der Larvalfaden von *U. pictorum* ist kräftiger als der von *U. tumidus*. Bei *U. tumidus* sind die medianen Sinnesborsten signifikant anders geformt als bei den beiden anderen Unio, seine Hakenbezahnung ist spärlich.

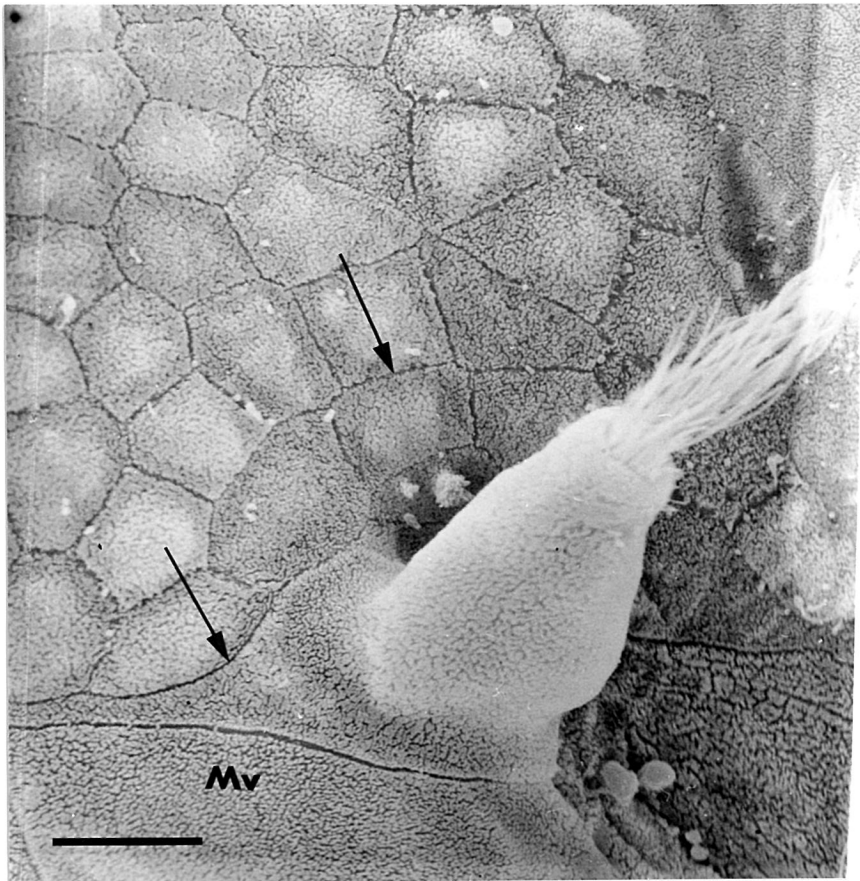


Abb. 16: *Unio pictorum* , mittlere Sinnesborste von einer durch Punktion des Marsupiums gewonnenen Glochidie, Zellgrenzen = Pfeil, Mikrovilli = Mv, Maßstab 10µm

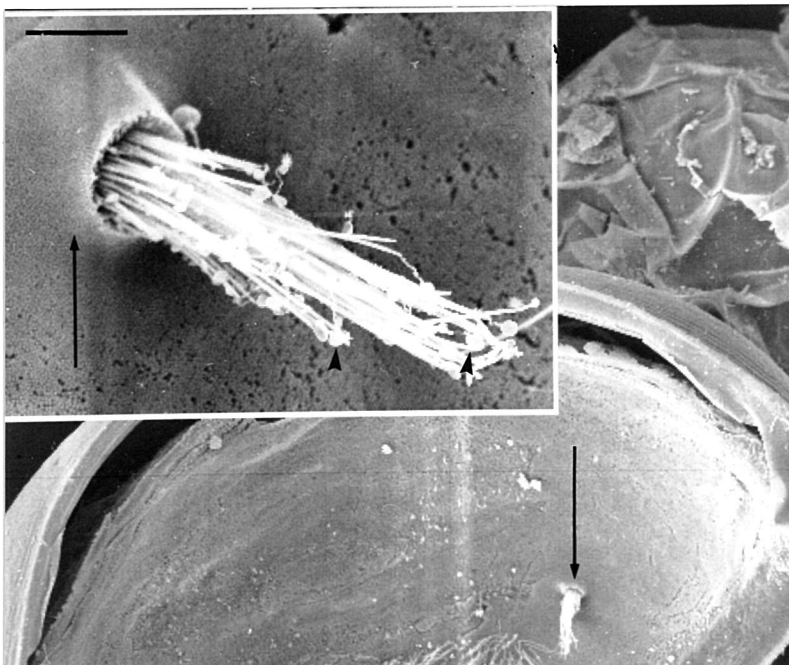


Abb. 17: *Unio tumidus* , mittlere re. Sinnesborste = Pfeil, Scheibenförmige Endungen der Cilien = >, Maßstab 5µm



Abb. 18: *Unio crassus*, 3 Sinnesborsten am Schalenhaken = >, Verwachsung mit der Schale = Pfeil, Maßstab 5µm

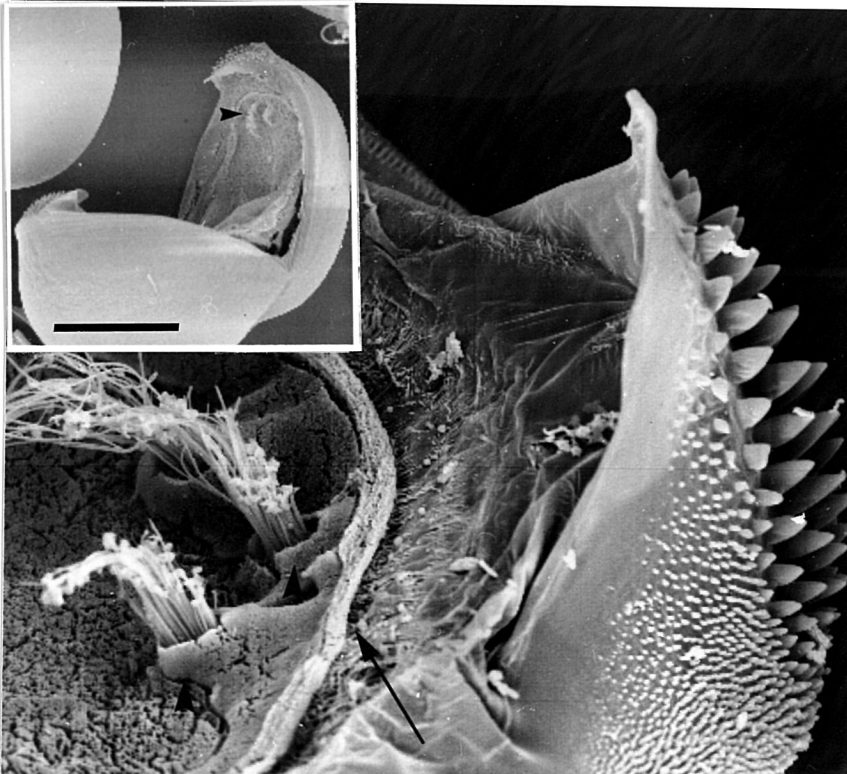


Abb. 19: *Unio pictorum* Sinnesborsten = Pfeil, Übergang vom Mikrovillibesatz zu glatter Epitheloberfläche = >, Maßstab 10µm

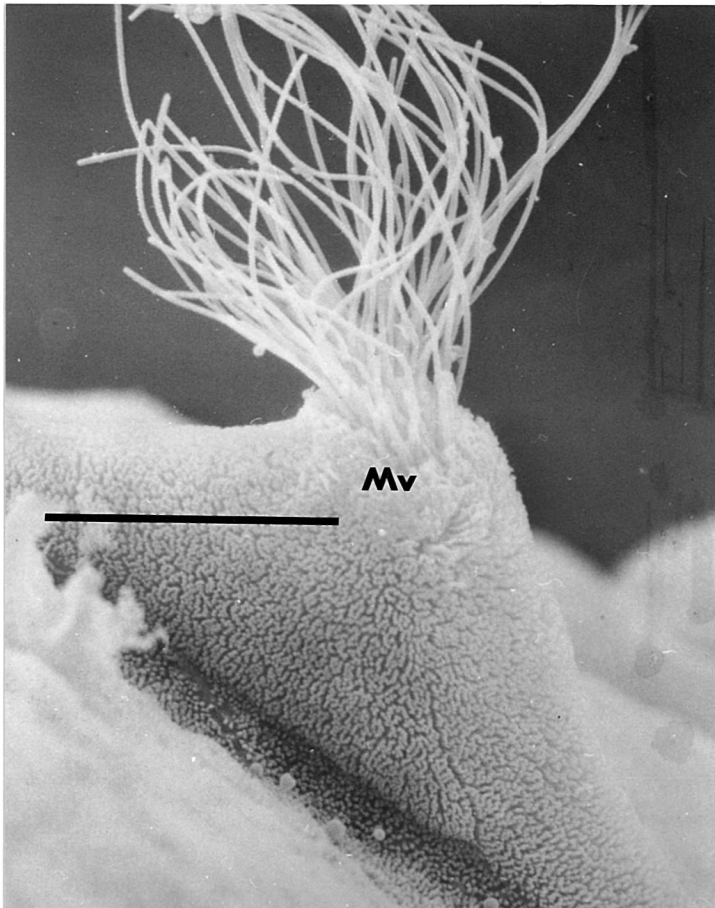


Abb. 20: *Unio pictorum*, eine der drei Sinnesborsten in Hakennähe, Mikrovilli = Mv, Maßstab 10µm

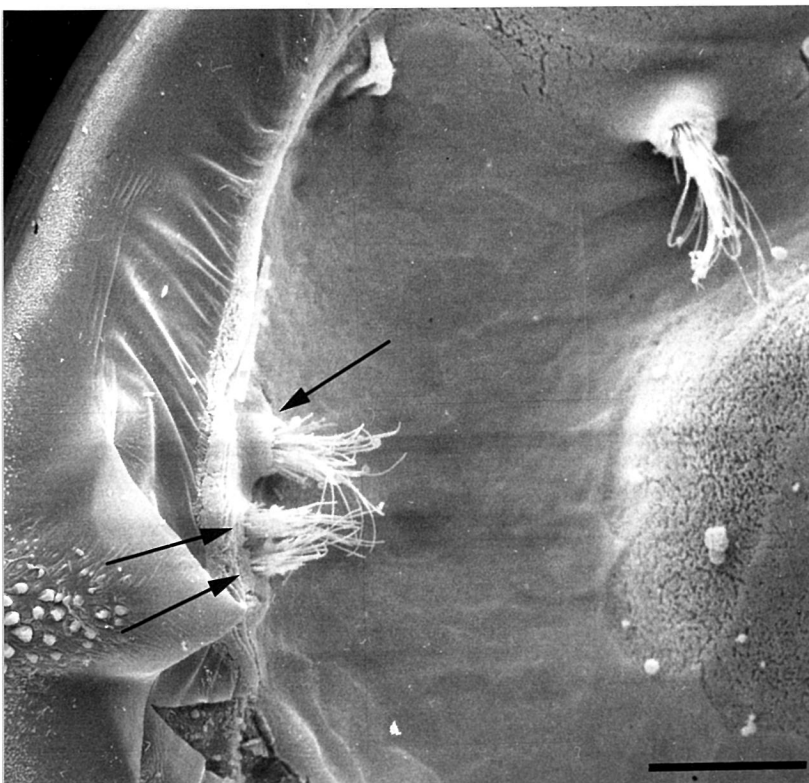


Abb. 21: *Unio tumidus*, Sinnesborsten beim Schalenhaken = Pfeil, Maßstab 20µm

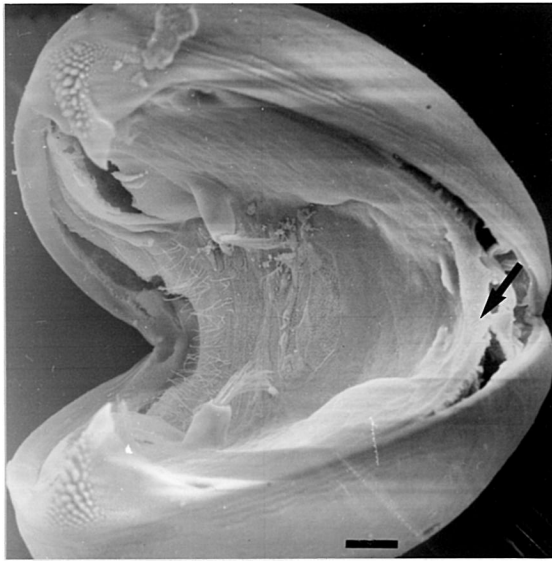


Abb. 22: *Unio crassus*, Aufsicht auf die Vorderseite, Maßstab 20µm

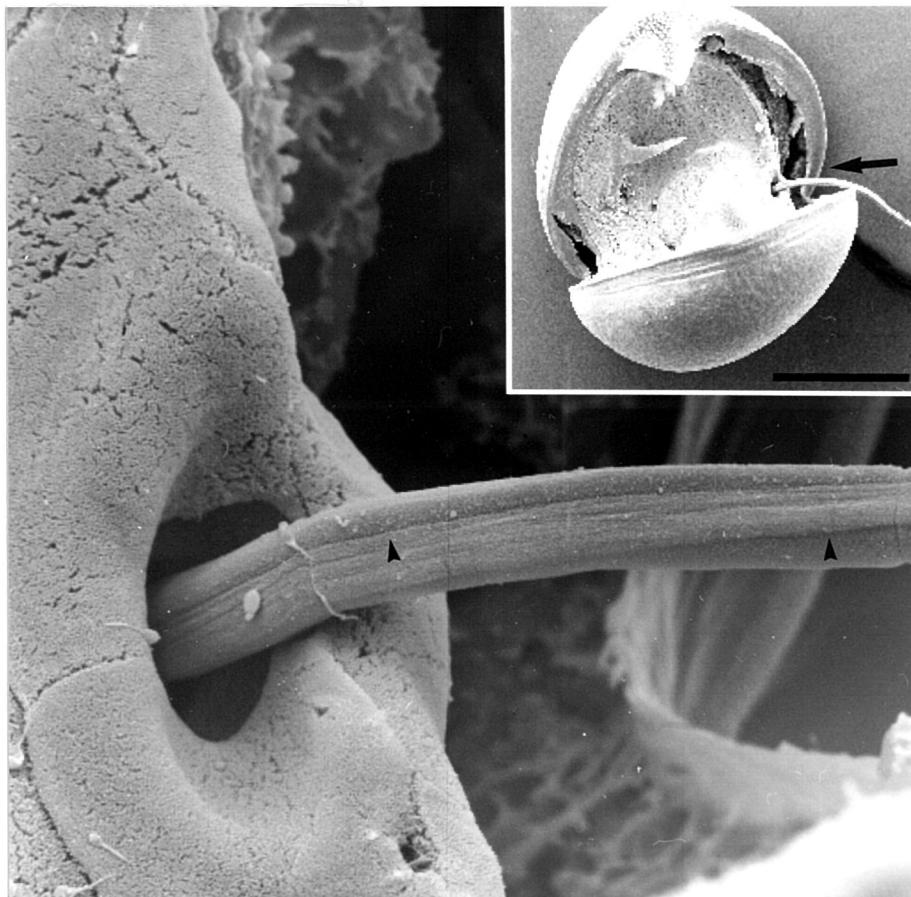


Abb. 23: *Unio pictorum*, Larvalfaden, Längsrillen des Larvalfadens = >, Vorderende = Pfeil, Maßstab 5µm

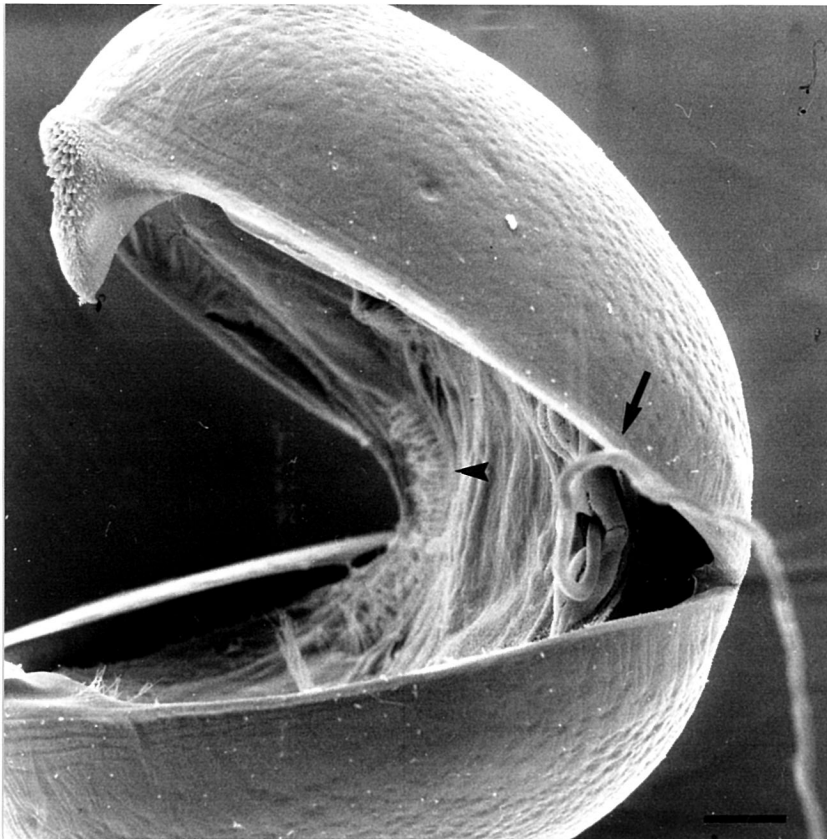


Abb. 24: *Unio tumidus*, Aufsicht auf das Vorderende, Larvalfaden = Pfeil, Wimpernband = >, Maßstab 20µm

3.1.1.1. Das Glochidium von *Unio crassus*: Zusammenfassung

Die Schalen der *U. crassus*-Larve haben eine gedrungene halbkugelige Form mit Haken, die in etwa rechtwinklig auslaufen. Der Weichkörper trägt acht Sinnesborsten, von denen je 3 unter dem Schalenhaken und die beiden anderen, große, zylinderförmige, mehr zur Mitte hin angeordnet sind. Die seitlichen Gruben werden von einem Streifen spärlicher Bewimperung miteinander verbunden. Ein Larvalfaden ist nicht vorhanden.

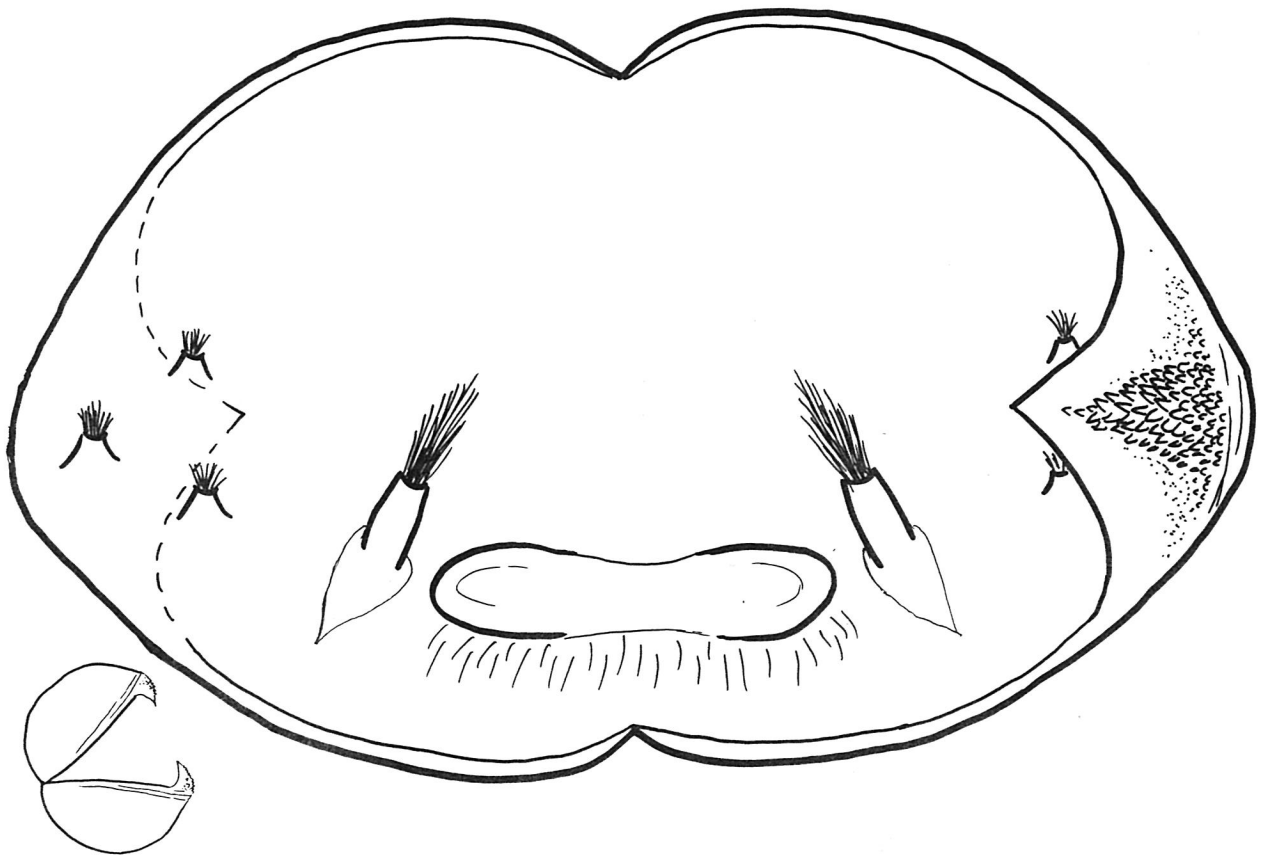


Abb. 25: Übersicht zur Glochidie von *Unio crassus*, H = Schalenhaken, Sbm = Sinnesborsten median, Sbs = Sinnesborsten beim Schalenhaken, sG = seitliche Grube

3.1.1.2. Das Glochidium von *Unio pictorum*: Zusammenfassung

Glochidie mit kompakter in etwa halbkugeliger Schale, Haken kurz und mit einer Spitze von ca. 70°, dicht mit Zähnen besetzt. Eine geringe Anzahl von Cilien verbindet die flachen seitlichen Gruben, je drei kurze Sinnesborsten unter dem Schalenhaken, ein Paar langgezogene, rund aufgetriebene Sinnesborsten befinden sich neben den seitlichen Gruben, der Larvalfaden inseriert am Vorderende (s. Abb. 26).

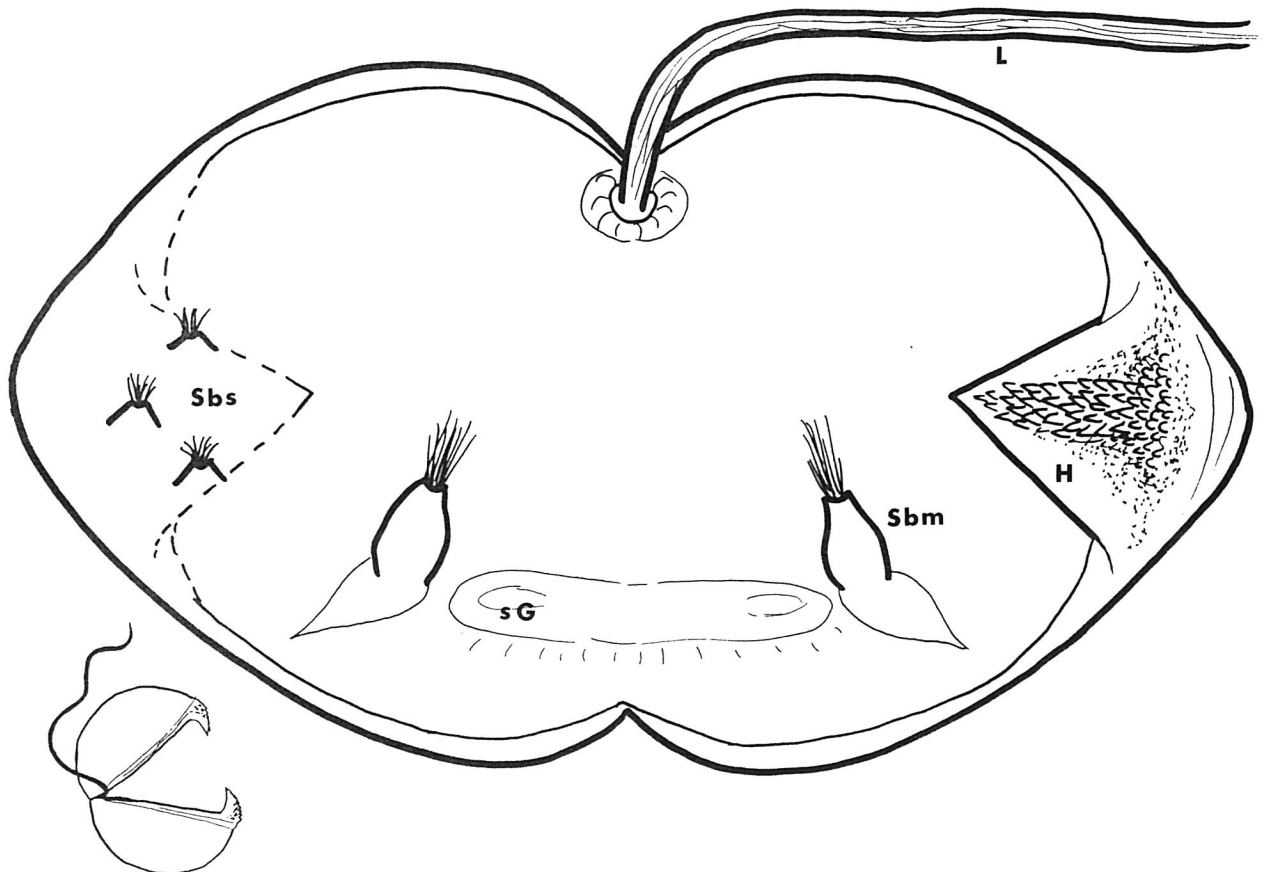


Abb. 26: Übersicht zur Glochidie von *Unio pictorum*, H = Schalenhaken, L = Larvalfaden, Sbm = Sinnesborsten median, Sbs = Sinnesborsten beim Schalenhaken, sG = seitliche Grube

3.1.1.3. Das Glochidium von *Unio tumidus*: Zusammenfassung

Glochidie mit fast halbkugeliger Schale und kurzem Haken, Bezahnung kurz und nicht bis an die Spitze reichend, Hakenspitze etwa rechtwinklig, 1 Paar kurze Sinnesborsten neben den flachen seitlichen Gruben, je drei in Hakennähe, Larvalfaden inseriert am Vorderende (s. Abb. 27.).

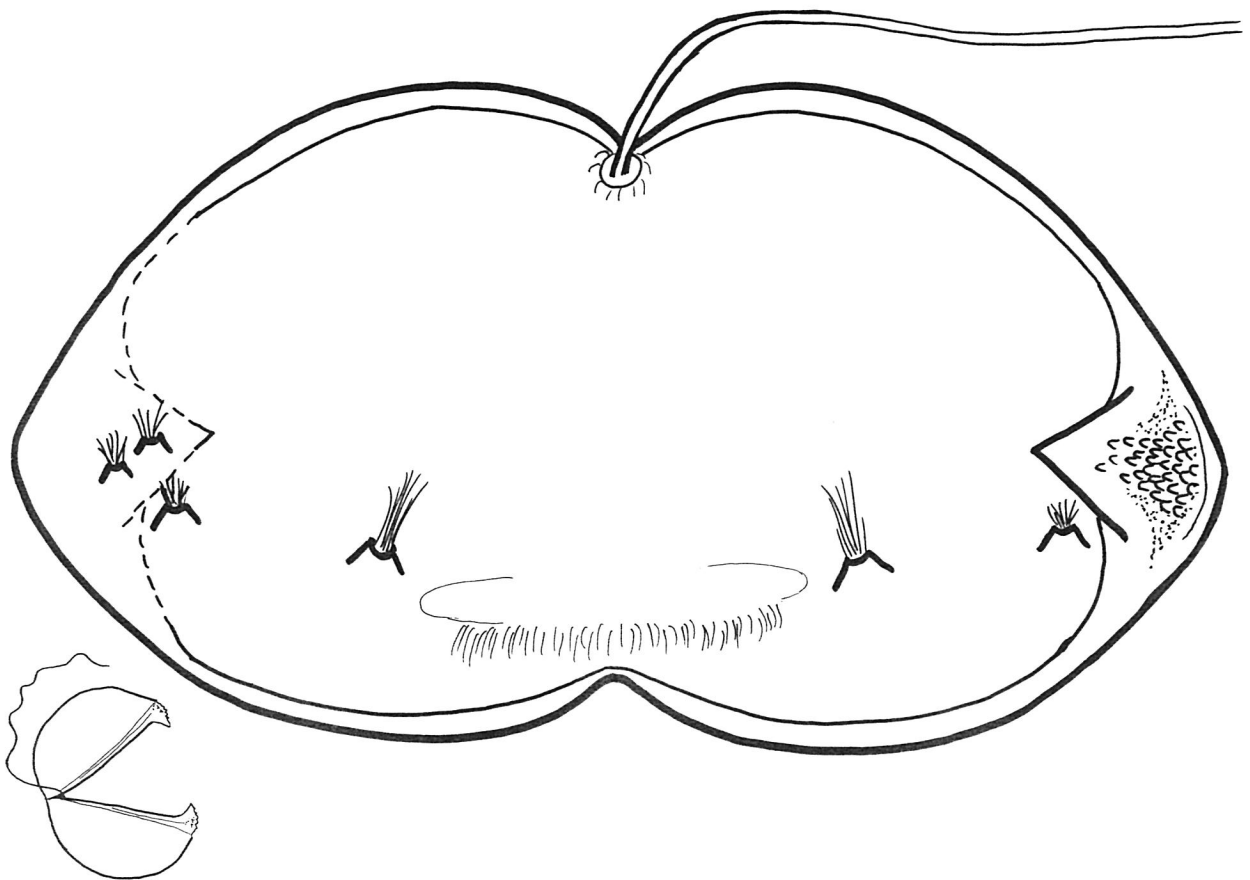


Abb. 27: Übersicht zur Glochidie von *Unio tumidus*, H = Schalenhaken, L = Larvalfaden, Sbm = Sinnesborsten median, Sbs = Sinnesborsten beim Schalenhaken, sG = seitliche Grube

3.1.2. REM von Glochidien der Gattung *Anodonta*

Die Morphologie und Anatomie der Muschellarven dieser Gattung wurde nicht zuletzt deswegen lichtmikroskopisch schon häufig untersucht, weil sie sich wegen ihrer Größe (310-340 µm lang, s. Tab. 1) mit dieser Technik als gut darstellbar erwies (FAUSSEK 1895, HARMS 1909, HERBERS 1917, LABOS 1969, WOOD 1973). Ihre Schalen wurden auch mit dem Scanner dargestellt (GIUSTI 1973, NAGEL 1988). Im Rahmen dieser Arbeit werden dem bereits Bekannten elektronenmikroskopische Ergebnisse des Weichkörpers (REM und TEM) hinzugefügt.

a) Maße

Die Anodonten produzieren die größten Glochidien, die von *Anodonta cygnea* werden durchschnittlich 310µm lang und 310 µm hoch, die von *Anodonta anatina* 340µm lang und 360 µm hoch. Durch diesen Größenunterschied unterscheiden sie sich bereits geringfügig voneinander.

b) Schalenform

In der Außenaufsicht ähneln die Larven beider Arten einem an zwei Seiten abgerundetem Dreieck. Die Schloßlinie bildet in etwa eine Gerade, die beiden zum Schalenhaken verlaufenden Schenkel weisen die Abrundungen auf. Der Schenkel, den die Vorderkante der Schale bildet, zeigt sich stärker ausgebuchtet als der hintere (s. Abb. 28) , vor allem bei *Anodonta anatina* (s. Abb. 29). In der Frontalaufsicht zeigen die Schalen der Anodonta-Larven eine deutlich flachere Wölbung und wirken dadurch weniger kompakt als die Unio-Glochidien (s. Abb. 32). Der Schalenrand trägt 4-5 parallel verlaufende Rillen (s. Abb. 32, 34, 41).

c) Schalenhaken

Anodonta-Glochidien tragen am unteren Schalenrand je einen großen Schalenhaken, der mit langen Zähnen bestückt ist (s. Abb. 30, 31, 32). Im Größenvergleich wirken sie beträchtlich länger und spitzer als bei den Unio-Larven. Bei *Anodonta cygnea* endet der Haken mit einem Winkel von 45° in einer lanzettförmigen Spitze (s. Abb. 31), bei *Anodonta anatina* im spitzen Winkel von 30° (s. Abb. 32). Die Zähne sitzen bei beiden Arten auf einer längs in der Mitte des Hakens verlaufenden Vorwölbung (s. Abb. 30, 31). Randrillen der Schale sind vorhanden (s. Abb. 33 und 41).

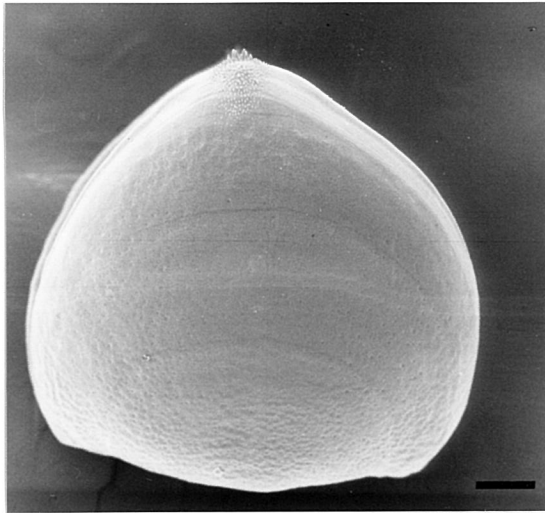


Abb. :28 *Anodonta cygnea* Aufsicht auf die Schale, Maßstab 50µm

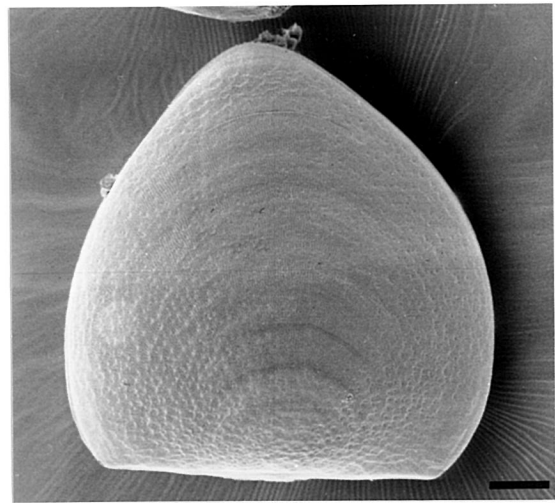


Abb. 29: *Anodonta anatina* Aufsicht auf die Schale, Maßstab 50 µm

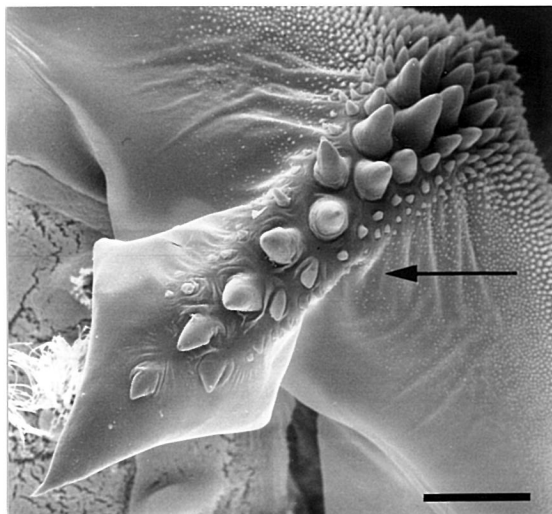


Abb. 30: *Anodonta cygnea* Schalenhaken, Erhebung mit Zahnbesatz = Pfeil, Maßstab 20µm

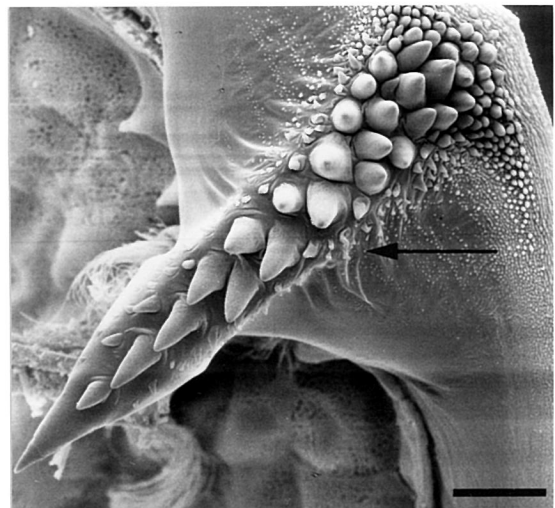


Abb. 31: *Anodonta. anatina* Schalenhaken, Erhebung mit Zahnbesatz = Pfeil, Maßstab 20µm

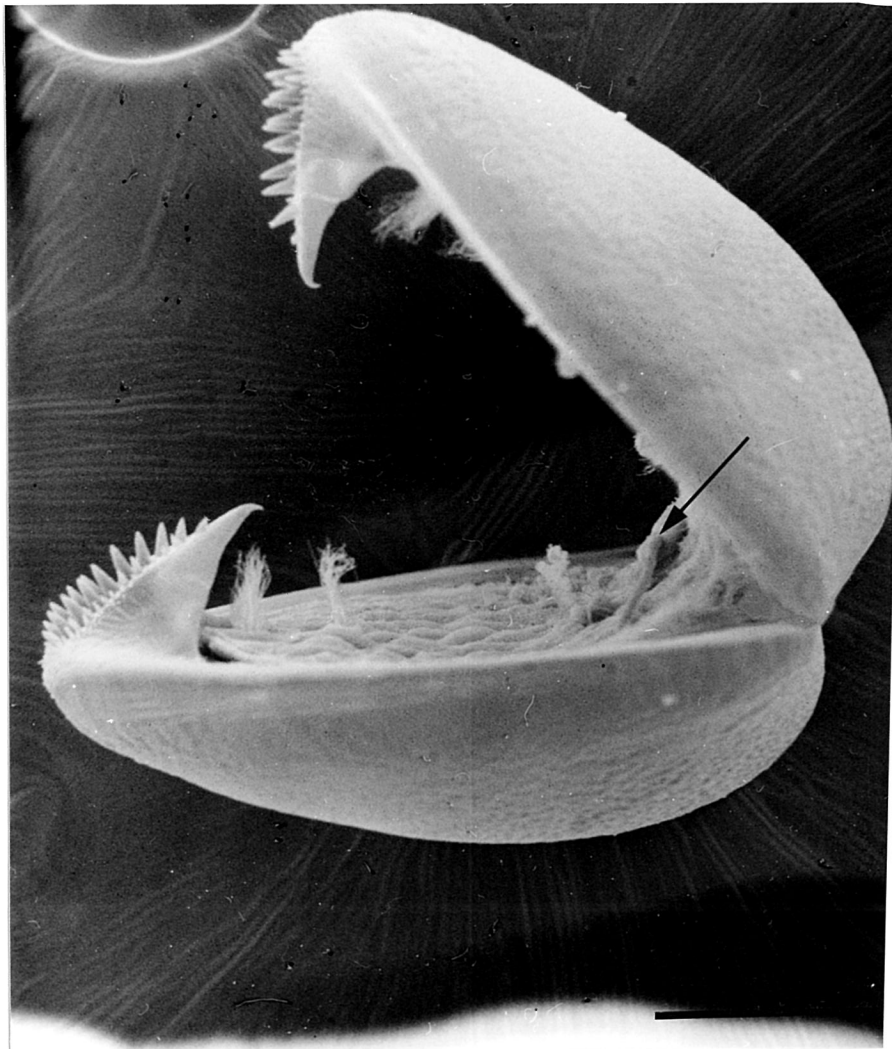


Abb. 32: Glochidie von *Anodonta anatina*, Frontalaufsicht von vorn, "umgeklappter"
Larvalfaden = Pfeil, Maßstab 10 μ m

d) Oberfläche des Weichkörpers

Die Aufsicht von ventral auf die Glochidien der Anodonten zeigt ein anderes Bild als die von Larven der Gattung *Unio*, übereinstimmend wäre lediglich der Mikrovillibesatz des Weichkörpers (s. Abb. 36, 39, 40, 42). Bei beiden Arten zieht eine Wölbung quer über den Schließmuskel vom Larvalfaden zum Schalenrand des Vorderendes der Glochidien (s. Abb. 33, 34).

e) Larvalfaden

Der Larvalfaden inseriert fast in der Mitte der Glochidien, er wird von einer Wulst umgeben. Bei 4000facher Vergrößerung erkennt man, daß dieser Gewebsring in der Mitte, Richtung Vorderende, einen deutlichen Einschnitt zeigt bei *Anodonta cygnea* (s. Abb. 34, 35 dort im Ausschnitt 4000fach) und eine Einbuchtung bei *Anodonta anatina* (s. Abb. 34, 36.). Bei geöffneter Schale steht der Larvalfaden in etwa senkrecht zur ventralen Oberfläche (s. Abb. 34, 35), bei Schalenschluß scheint er zum glochidialen Vorderende umzuklappen und sich der mittleren Wulst aufzulagern. Dieses "Umklappen" wurde stets bei relativ geschlossenen Larven beider Arten beobachtet, in die man bei einem günstigen Winkel mit dem Elektronenstrahl "gerade noch" hineinschauen konnte (s. Abb. 32, 37).

f) seitliche Gruben

Anders als bei den Glochidien der Gattung *Unio* senken sich die seitlichen Gruben der *Anodonta*-Larven tief ein und werden durch eine Rinne verbunden, deren hintere Kante mit einem relativ dichten Cilienband besetzt ist (s. Abb. 34, 35, 38). Bei *Anodonta anatina* stehen hier die Cilien dichter als bei *Anodonta cygnea*.

g) Sinnesborsten

Die median angebrachten Sinnesborsten bei Glochidien von beiden Anodonten sitzen neben dem Larvalfaden, je eine auf jeder Schalenhälfte (s. Abb. 36, 39). Sie zeigen eine breitulmigere und kompaktere Form als die der *Unio*-Larven. Ein dickes Cilienbündel ragt aus einer tonnenförmigen Zelle, die mit Mikrovilli besetzt ist. Dieser Cilienschaft macht in etwa 1/5 der Länge der Cilien aus (s. Abb. 40).

Unter jedem Schalenhaken befinden sich drei kleinere Sinnesborsten, die als Punkte in einem Dreieck gedacht, auf einem schiefwinkligen angebracht erscheinen (s. Abb. 41, 42, Übersicht in Abb. 63a). Bei beiden Anodontenlarven stellt sich die Haarzelle am größten dar, die am weitesten vom Schalenrand entfernt angebracht ist.

Morphologische Unterschiede der Anodonta-Glochidien wurden in Tabelle 6 zusammengefaßt.:

Art	Schalenhaken			Sinnesborsten beim Schalenhaken		Sinnesborstenpaar median	Larvalfa- den	Seitliche Gruben	
	Fur- chen	Win- kel	Zäh- ne	Anzahl	Gestalt			Ein- sen- kun- g	Bewi- mpe- rung
<i>Anodonta cygnea</i>	4-5	45° lan- zettf	spitz kräf- tig	3	kurz walzenf. kegelf.	tonnenförmig	insetiert fast in der Mitte	tief	dicht kurz
<i>Anodonta anatina</i>	4-5	30° spitz	spitz lang	3	kurz walzenf. kegelf.	tonnenförmig	insetiert i. d. Mitte	tief	dicht lang

Tab. 6: Morphologische Variabilität von Glochidien der Gattung Anodonta

Bemerkungen: das deutlichste Unterscheidungsmerkmal stellt neben der Größe die Form des Schalenhakens dar bei sonst relativ geringfügiger Variabilität wie z. B. die etwas unterschiedliche Gestalt der Wulst um den Larvalfaden.

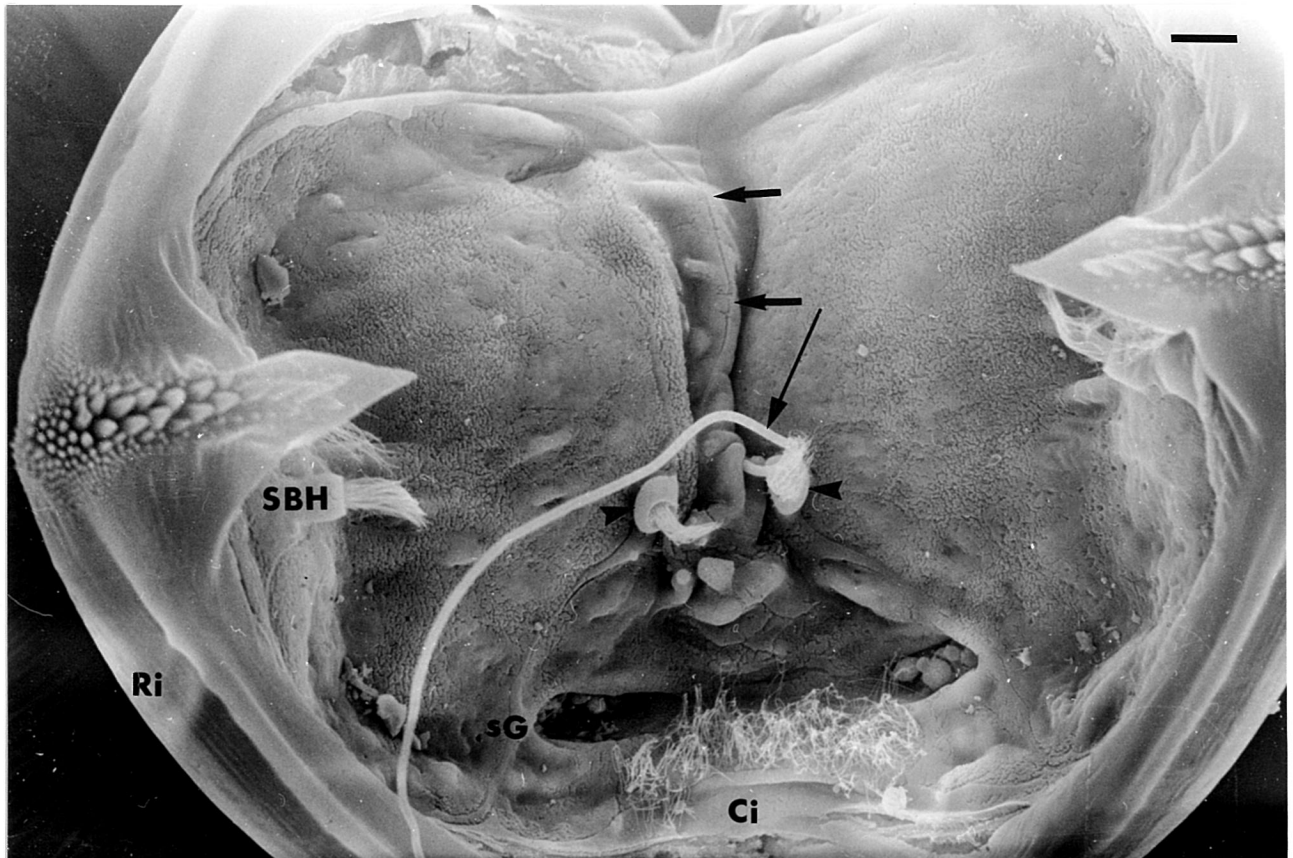


Abb. 33: *Anodonta cygnea*, Larvalfaden = Pfeil, mittlere Sinnesborsten = >, Mittelwulst = kurze Pfeile, sG = seitliche Gruben, Ci = Cilienband, SBH = Sinnesborsten beim Schalenhaken, Ri = Rillen des Schalenrandes, 50µm



Abb. 34 *Anodonta anatina*, Larvalfaden = Pfeil, mittlere Sinnesborsten = >, Mittelwulst = kurze Pfeile, Rillen des Schalenrands = großer Pfeil, sG = seitliche Gruben, Ci = Cilienband, Maßstab 20µm

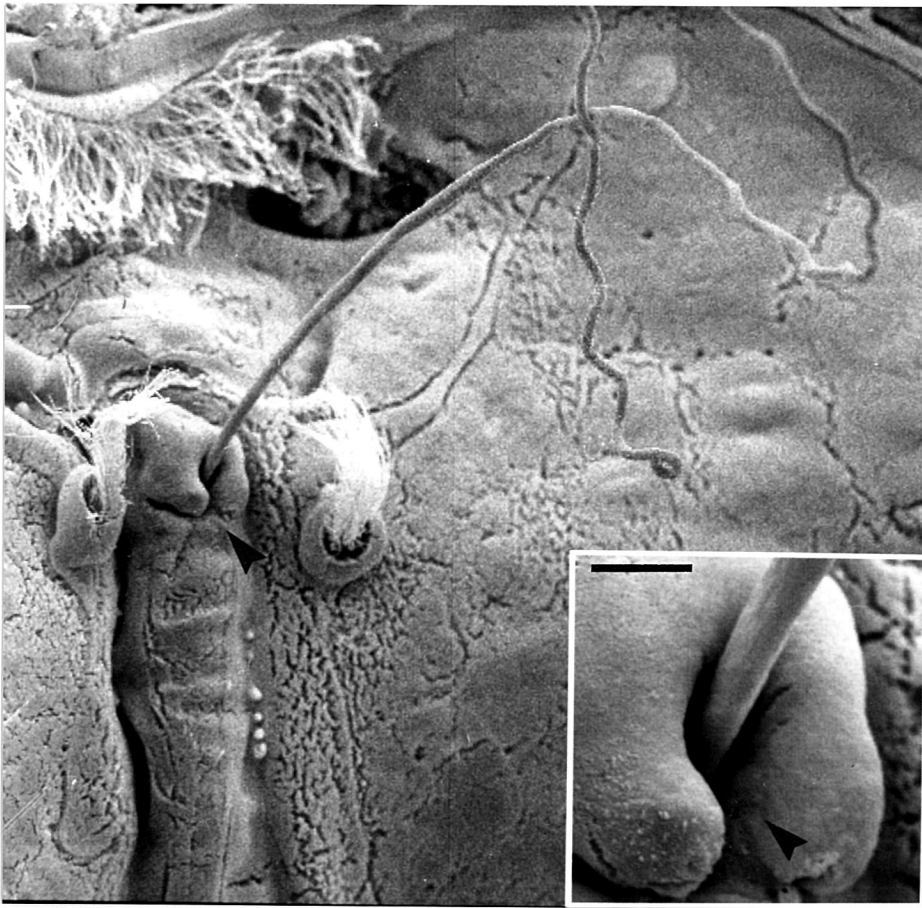


Abb. 35: Larvalfaden von *A. cygnea*, Einschnitt in den Wulst der den Larvalfaden umgibt = >, Maßstab 5µm

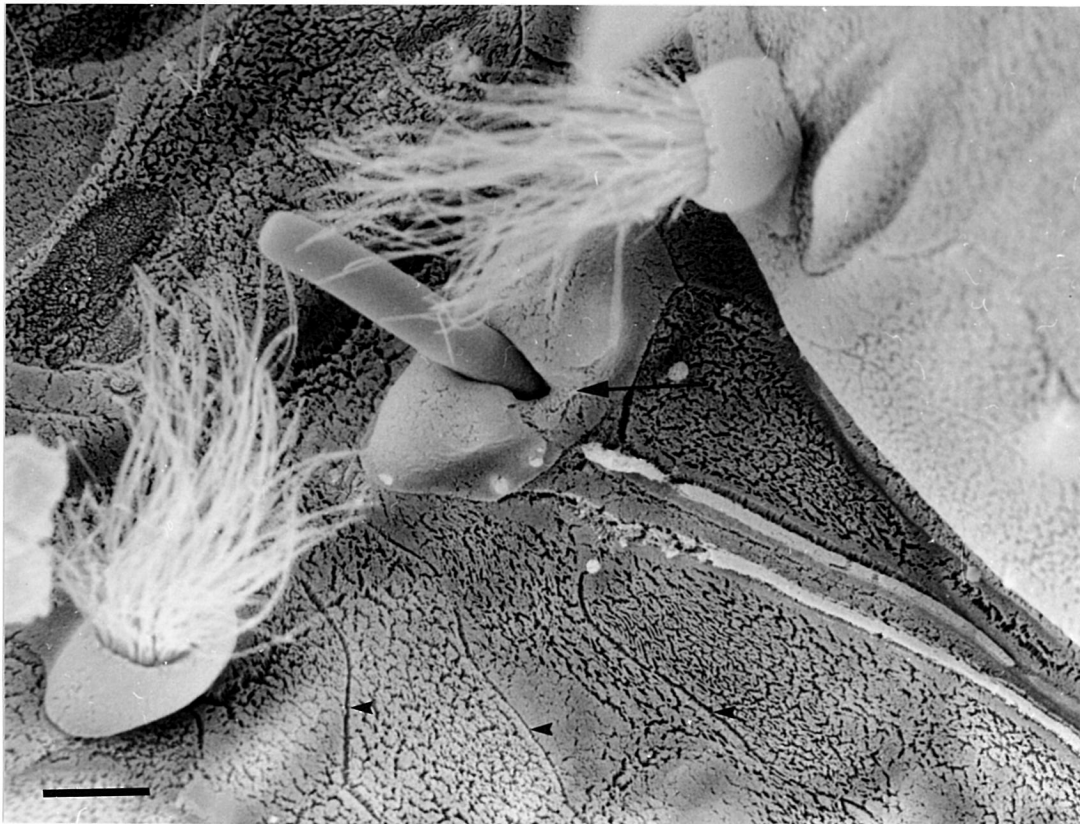


Abb. 36: Larvalfaden (distal abgebrochen) von *A. anatina*, ihn umgebender Zellring mit Einbuchtung = Pfeil, Zellgrenze = >, Maßstab 10µm

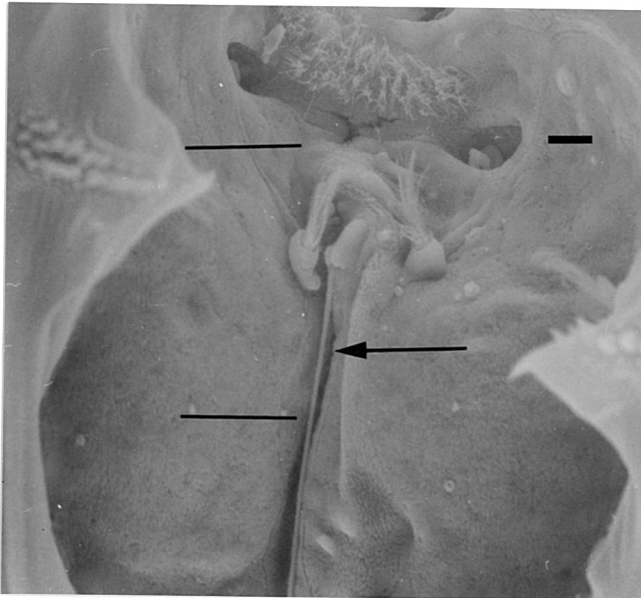


Abb. 37: *Anodonta cygnea* der Mittelwulst angelagerter Larvalfaden = Pfeil, Ausschnitt von Abb. 39 = Balken, Maßstab 50µm

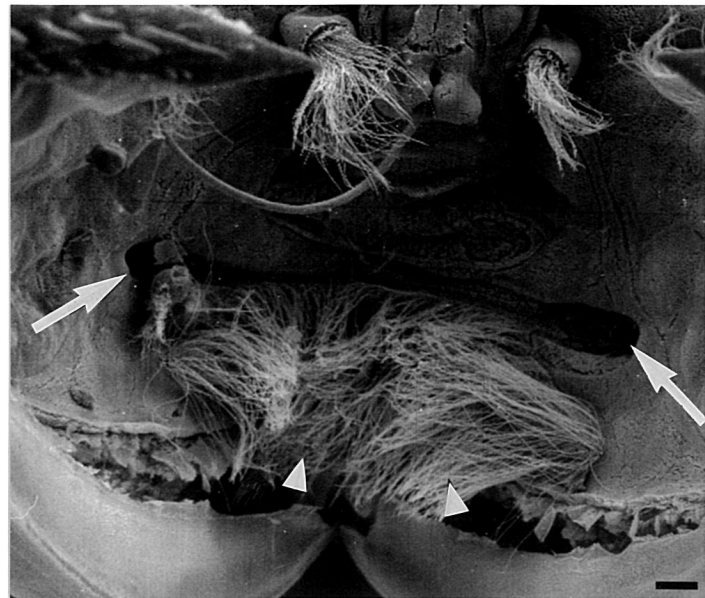


Abb. 38: *Anodonta anatina*, seitliche Gruben = Pfeil, Cilienband = >, Maßstab 10µm

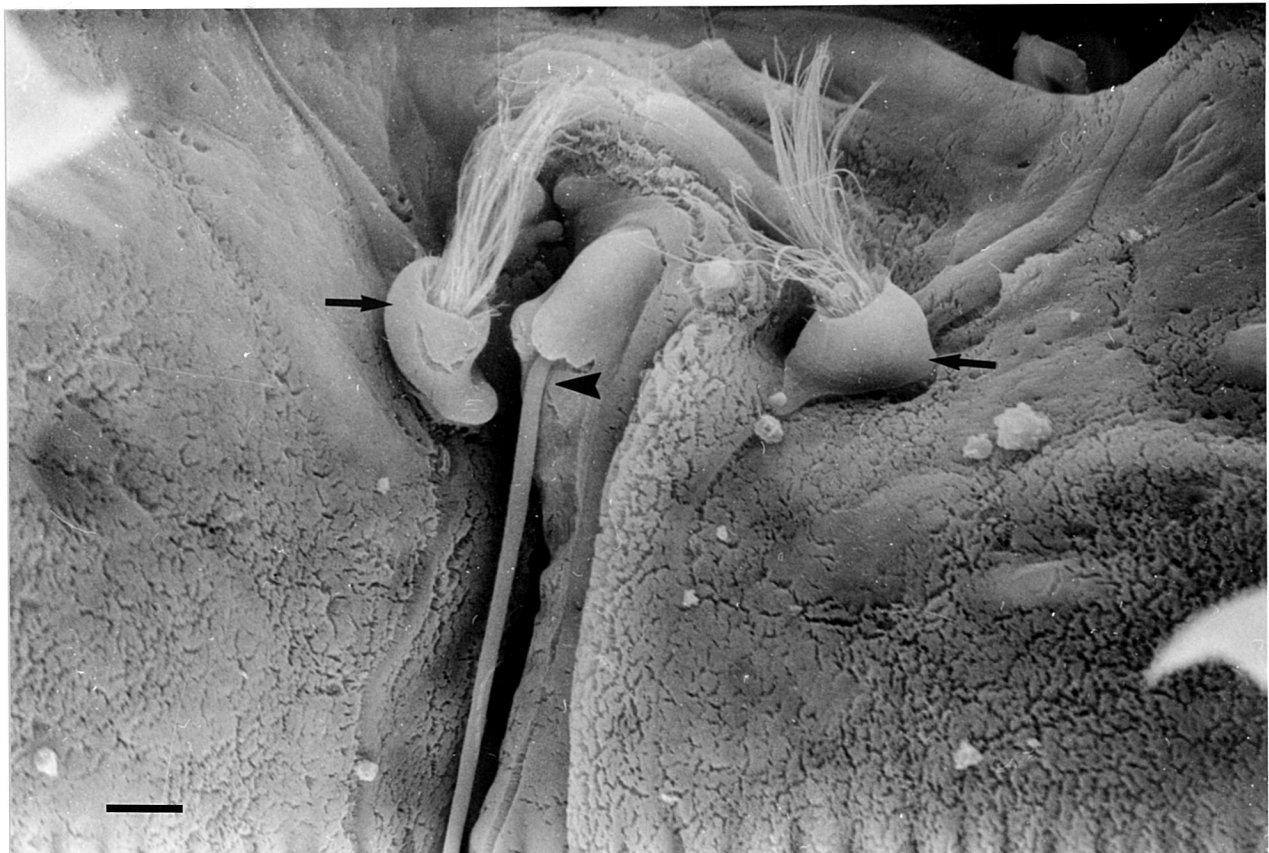


Abb. 39: *Anodonta cygnea*, mediane Sinnesborsten = Pfeil, "umgeklappter" Larvalfaden = >, Ausschnitt aus Abb. 37, Maßstab 10µm

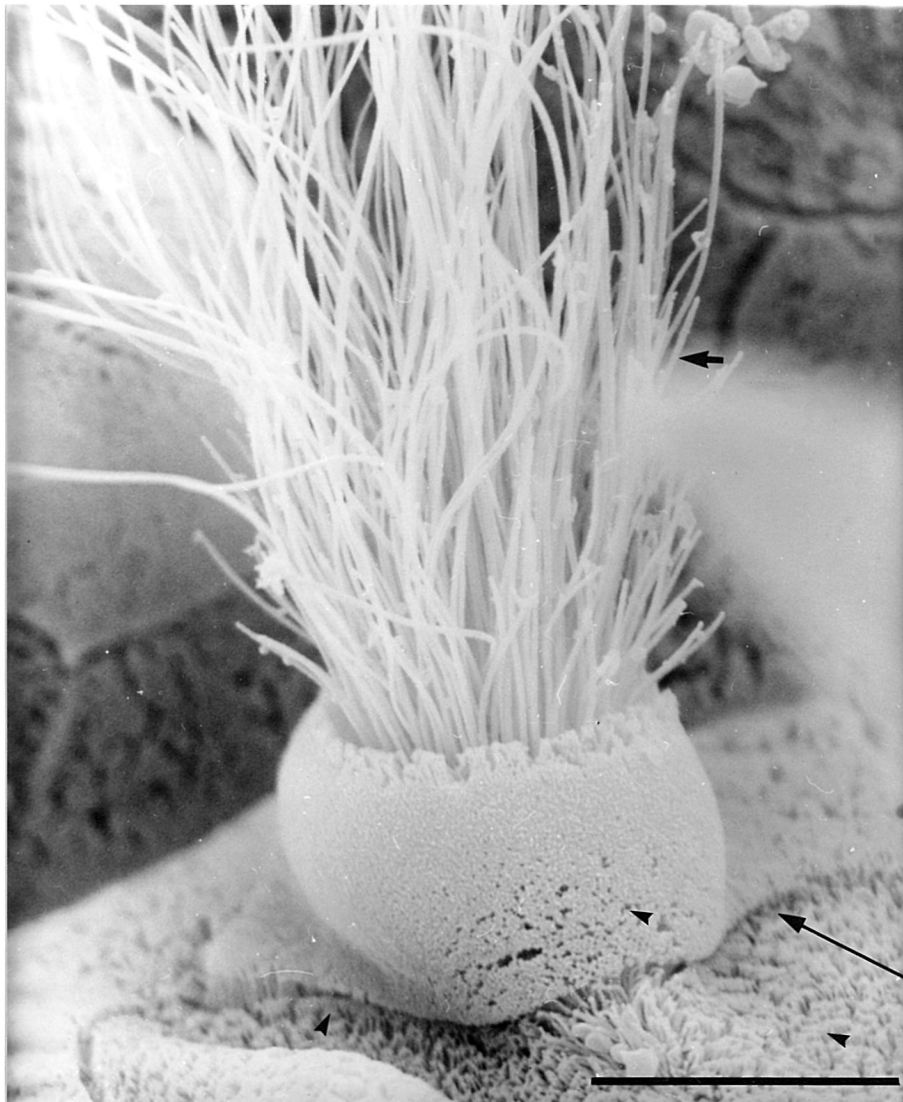


Abb. 40: *Anodonta anatina*, mediane Sinnesborste, Zellgrenze = Pfeil, Mikrovilli = >, Cilien = kurzer Pfeil, Ausschnitt aus Abb. 36, Maßstab 10 μ m

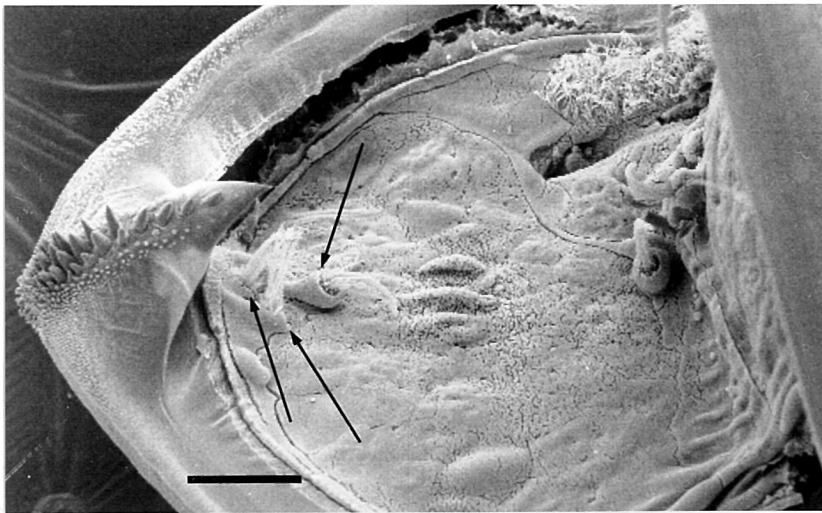


Abb. 41: *Anodonta cygnea* drei Sinnesborsten in Hakennähe = Pfeil, Maßstab 50µm

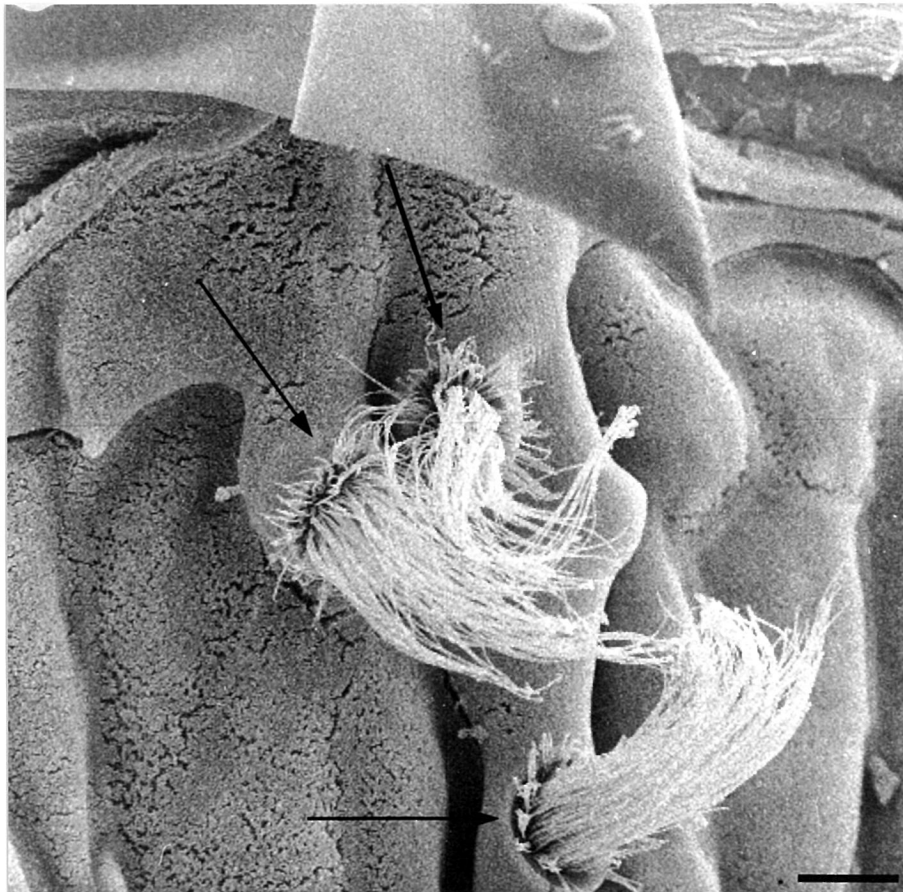


Abb. 42: *Anodonta anatina* drei Sinnesborsten in Hakennähe = Pfeil, Maßstab 10µm

3.1.2.1. Das Glochidium von *Anodonta cygnea*: Zusammenfassung

Bei den Larven von *Anodonta cygnea* handelt es sich um relativ große Glochidien mit abgeflachter Schale und langem lanzettförmig endendem Schalenhaken, der mit langen spitzen Zähnen bestückt ist. Der Larvalfaden inseriert fast in der Mitte des Tieres; er wird von einer Ringwulst umgeben, die zum Vorderende einen Einschnitt aufweist in den der Larvalfaden umgeklappt und einer nach vorn verlaufenden Vorwölbung aufgelagert werden kann. Zwei kräftige breitlumige Sinnesborsten sitzen vor dem Inserierungspunkt des Larvalfadens auf der rechten und linken Halbschale. Die ziemlich tief einsenkenden seitlichen Gruben am Hinterende werden durch ein relativ dichtes Cilienband verbunden. Drei kleinere Sinnesborsten befinden sich beim Schalenhaken.

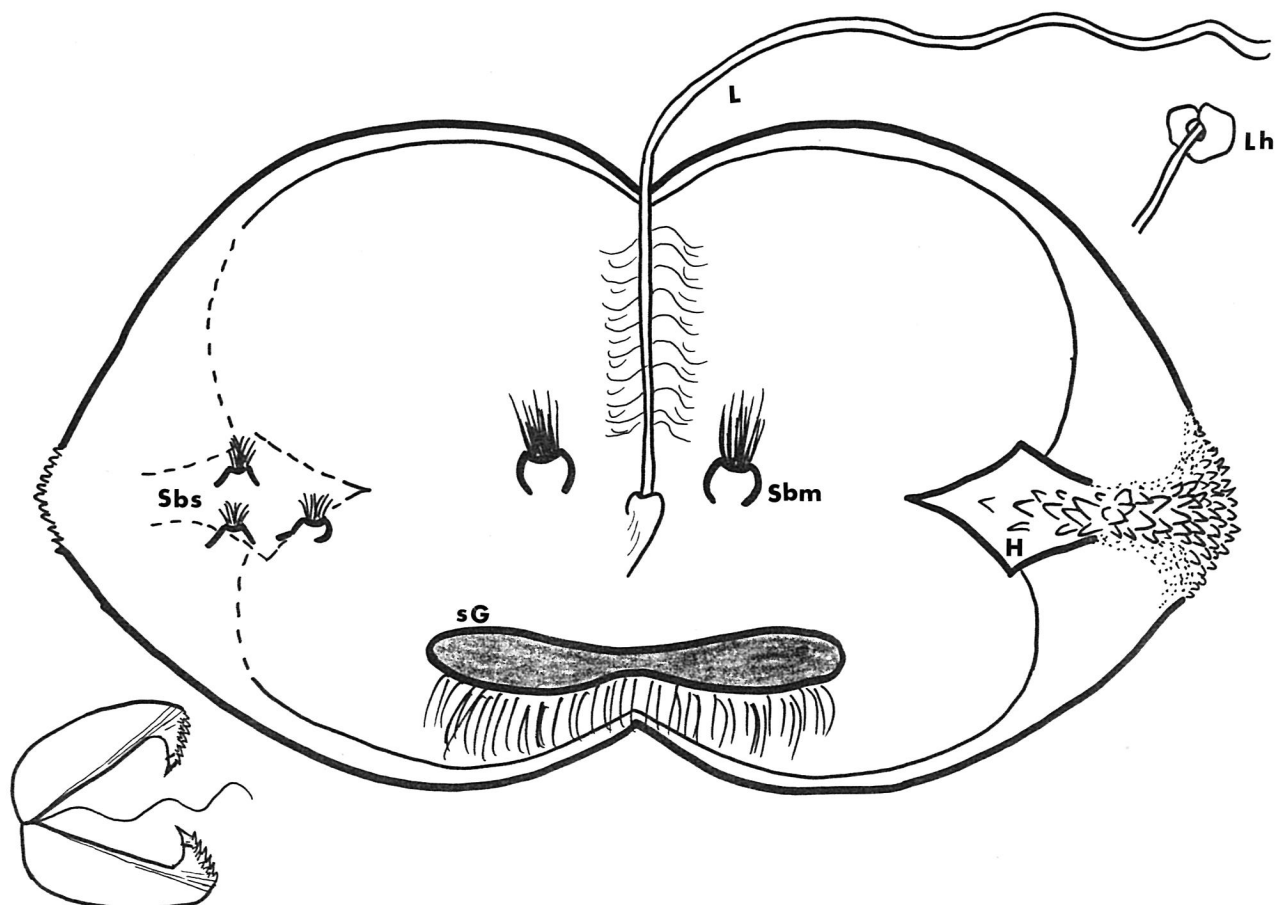


Abb. 43 Zusammenfassende Zeichnung der Glochidie von *Anodonta cygnea*, H = Schalenhaken, L = Larvalfaden, Lh = Larvalfaden hochgestellt, Sbm = Sinnesborsten median, Sbs = Sinnesborsten beim Schalenhaken, sG = seitliche Grube

3.1.2.2. Das Glochidium von *Anodonta anatina*: Zusammenfassung

Die Larve von *Anodonta anatina* stellt die größte einheimische Glochidie dar (NIEMEYER 1993). Ventral klappen an ihrer abgeflachten Schale paarig die langen spitzen Haken um, die mit ebenfalls langen spitzen Zähnen besetzt sind. Am Hinterende senken die seitlichen Gruben tief ein und werden von einem dichten Cilienband verbunden. Der Larvalfaden inseriert in der Mitte und kann in eine weniger tiefe Einbuchtung als bei *A. cygnea* in die ihn umgebende Ringwulst nach vorn umgeklappt und einer längs verlaufenden Vorwölbung aufgelagert werden. Daneben, etwas nach vorn versetzt, befinden sich die paarigen mittleren Sinnesborsten. Unter den Schalenhaken kommen jeweils drei weitere Kleinere vor.

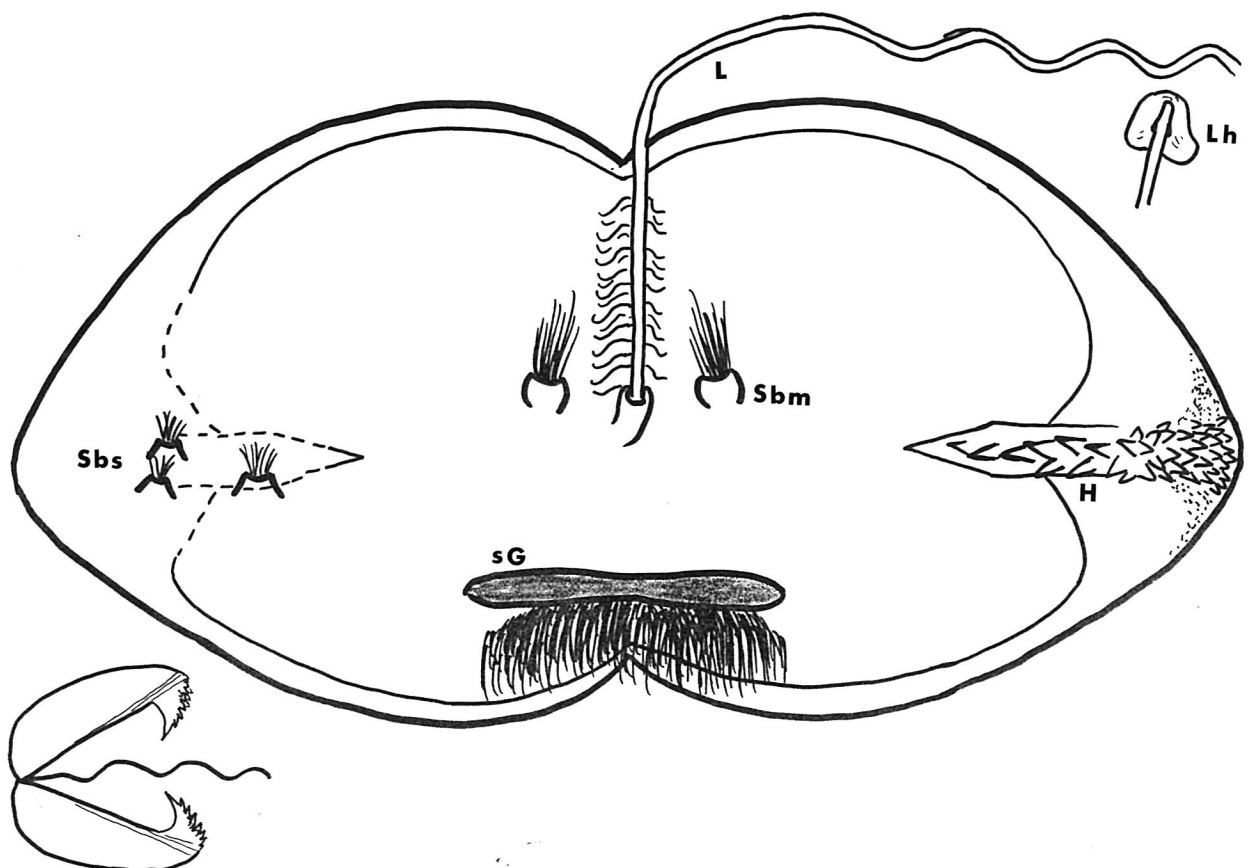


Abb. 44: Übersicht der Glochidie von *Anodonta anatina*, H = Schalenhaken, L = Larvalfaden, Lh = Larvalfaden hochgestellt, Sbm = Sinnesborsten median, Sbs = Sinnesborsten beim Schalenhaken, sG = seitliche Grube

3.1.3. REM von Glochidien der Gattung *Pseudanodonta*

Die einzige einheimische Art stellt *Pseudanodonta complanata* dar.

3.1.3.1. Glochidium von *Pseudanodonta complanata*

a) Maße

Die Glochidie von *Pseudanodonta complanata* mißt nach Hüby (1988) in der Länge 340µm (dort als "breit" angegeben) und in der Höhe 290µm.

b) Schalenform

Dadurch daß die *Pseudanodonta*-Glochidien deutlich länger sind als hoch, unterscheiden sie sich schon in der Schalenansicht von den Larven der Muscheln aus der Gattung *Unio* und *Anodonta* (s. Abb. 45). Die Wölbung der Schalen ist relativ flach und dadurch wirkt diese Larvenart ähnlich "schlank" wie die der *Anodonten* (s. Abb. 48).

c) Schalenhaken

Der Schalenhaken endet im Winkel von 26° bis maximal 30°, dem spitzesten aller untersuchten Arten. Lange Zähne sitzen auf einer Erhebung oder Versteifung des Hakens (s. Abb. 46, 48, 49, 50). Bei geschlossener Schale wirken sie wie Widerhaken und können ineinandergreifen (s. Abb. 47). Diese Beobachtung gilt für alle Hakenzähne, sie wurden lediglich exemplarisch an *Pseudanodonta complanata* dargestellt, da sie außer dem dichtesten Zahnbesatz auch die längsten Zähne aufweist. Die Hakenbasis kann sich elastisch einfalten, wobei die sieben bis neun Rillen am Schalenrand auseinander gezogen werden (s. Abb. 47)

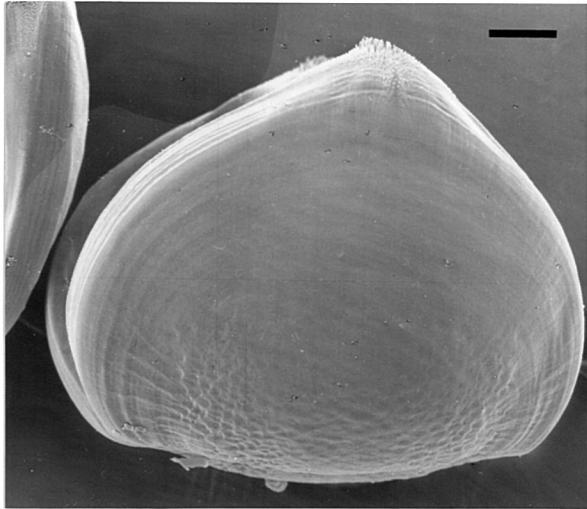


Abb. 45: *Pseudanodonta complanata*
Schalenaufsicht, Maßstab 50µm

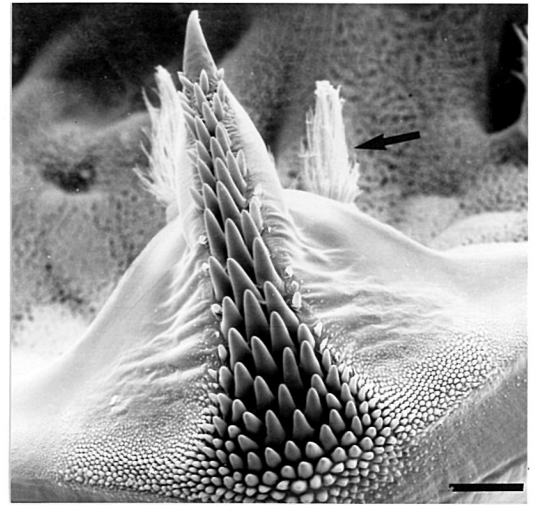


Abb. 46: *Pseudanodonta complanata*,
Schalenhaken, Sinnesborsten = Pfeil,
Maßstab 20µm

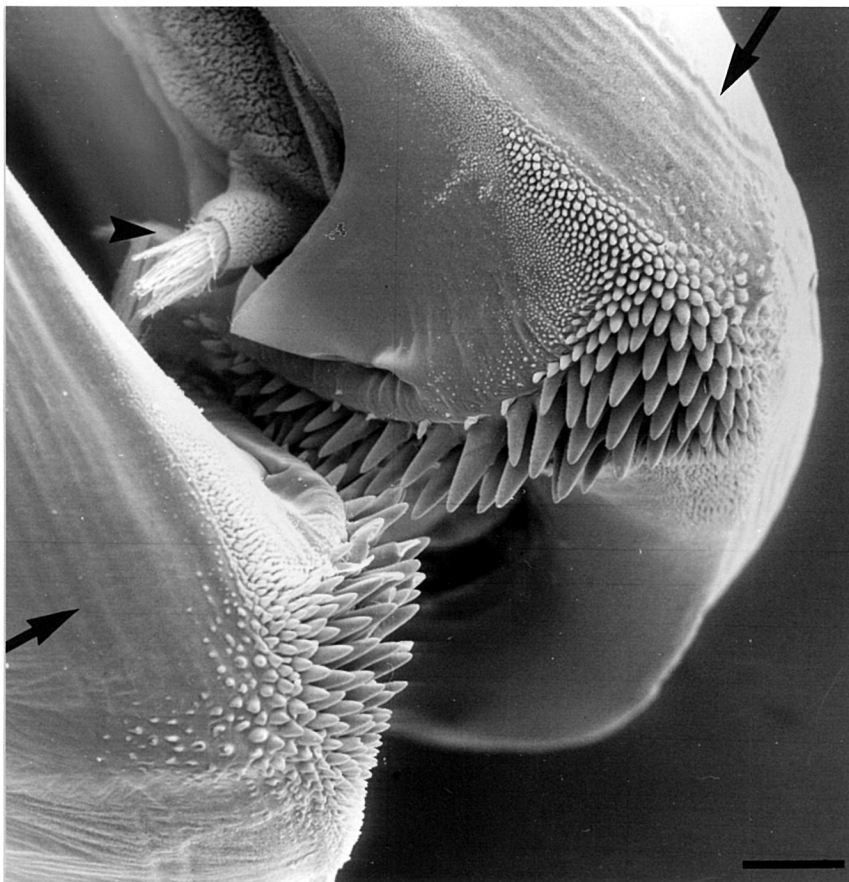


Abb. 47: Schalenhaken von *Pseudanodonta complanata* bei geschlossener Glochidie, elastische Faltung der Hakenbasis = Pfeil, Sinnesborste in Hakennähe = >, Maßstab 20µm

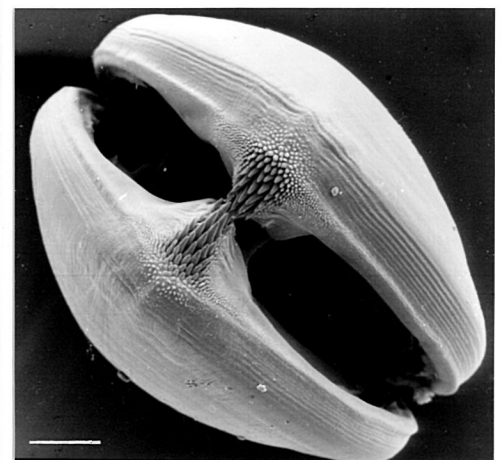


Abb. 48: Schalenaufsicht von ventral, Maßstab 50µm

d) Oberfläche des Weichkörpers

Die Weichkörperoberfläche von *Pseudanodonta complanata* zeigt Mikrovillibesatz (s. Abb. 49, 50, 52) wie die Glochidien der Gattungen *Unio* und *Anodonta*. Im Gegensatz zu den Letztgenannten besitzt sie jedoch keine Mittelwulst. Zellgrenzen sind zu erkennen (s. Abb. 49).

e) Larvalfaden

Ein Larvalfaden kommt nicht vor (s. Abb. 49).

f) seitliche Gruben

Die seitlichen Gruben bilden selbst bei gut relaxiertem Schließmuskel Vertiefungen. Das sie verbindende Cilienband zeigt Bewimperung mittlerer Dichte (s. Abb. 49, 50).

g) Sinnesborsten

Im Unterschied zu den bereits beschriebenen Glochidien der Familie Unionidae sitzen die beiden mittleren Sinnesborsten schräg zum Hinterende verschoben neben den seitlichen Gruben (s. Abb. 49). Durch ihre kegelstumpfförmige Gestalt aus deren engem Lumen die Cilien ragen, wirken sie schlanker als die median angebrachten Haarzellen der beiden *Anodonta*-Larven. Bei 1500 facher Vergrößerung erkennt man am Ende der Cilien knopfförmige Auftreibungen (s. Übersicht Abb. 52, Ausschnitt 52a). Im Vergleich zur Gattung *Unio* sind die medianen Haarzellen von *Pseudanodonta*-Larven im Verhältnis zur Gesamtgröße der Glochidie deutlich kürzer als die bei *Unio crassus* und *Unio pictorum*; sie ähneln am ehesten denen von *Unio tumidus* (vergl. Abb. 17, 50).). Drei mittelgroße dicht nebeneinander stehende Sinnesborsten befinden sich bei jedem Schalenhaken (s. Abb. 51).

Die tabellarische Zusammenfassung der Morphologie von *Pseudanodonta complanata* befindet sich im Überblick für alle untersuchten Arten in Tab. 7 unter 3.1.5.

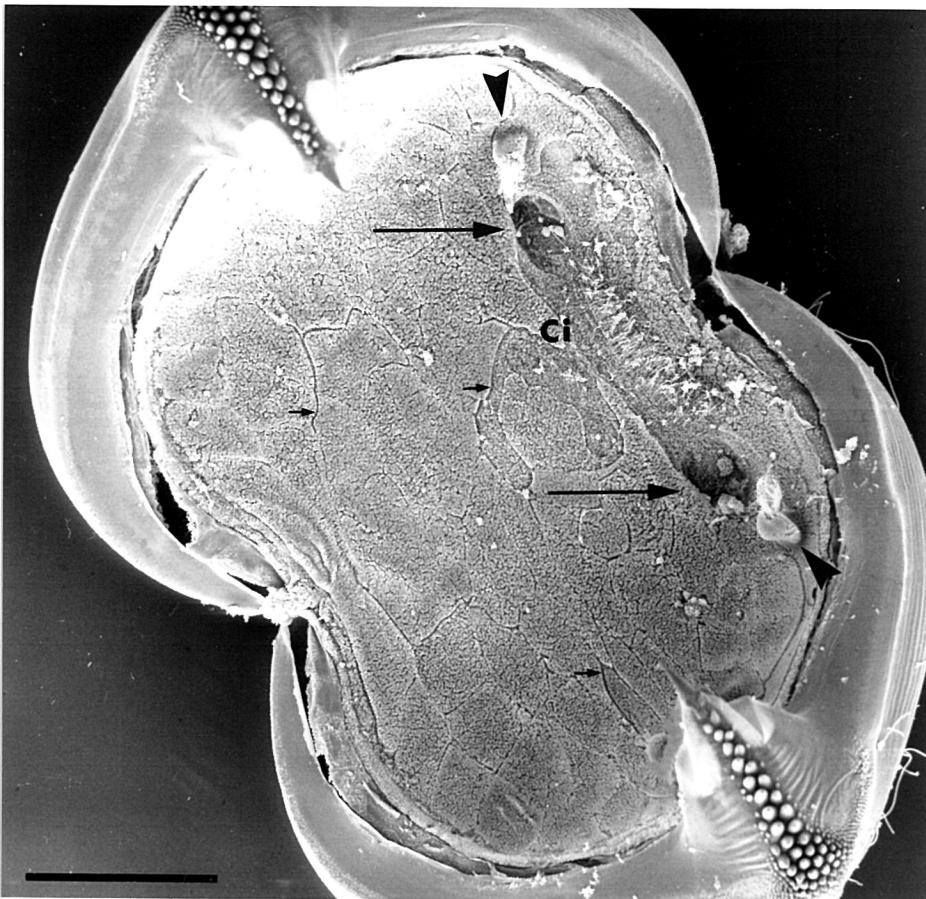


Abb. 49: Weichkörper der Glochidie von *Pseudanodonta complanata*, seitliche Gruben = Pfeil, mittlere Sinnesborsten = >, Ci = Cilienband, Zellgrenzen = kurzer Pfeil, Maßstab 100µm

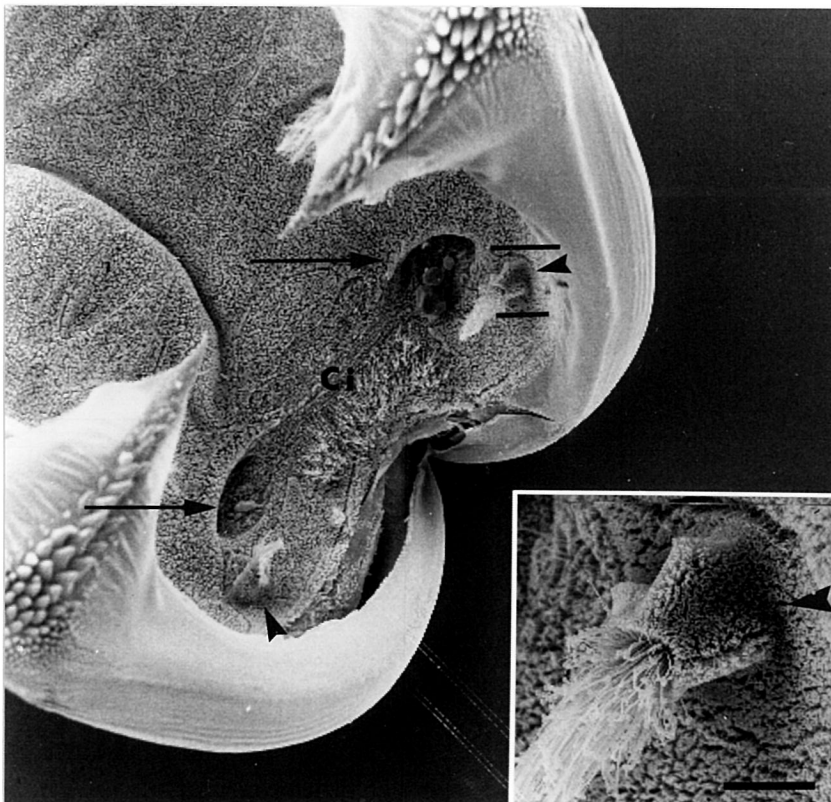


Abb. 50: seitliche Gruben der *Pseudanodonta*-Larve = Pfeil, mediane Sinnesborsten = >, Ci = Cilienband, Balken = Ausschnitt, Maßstab 10µm

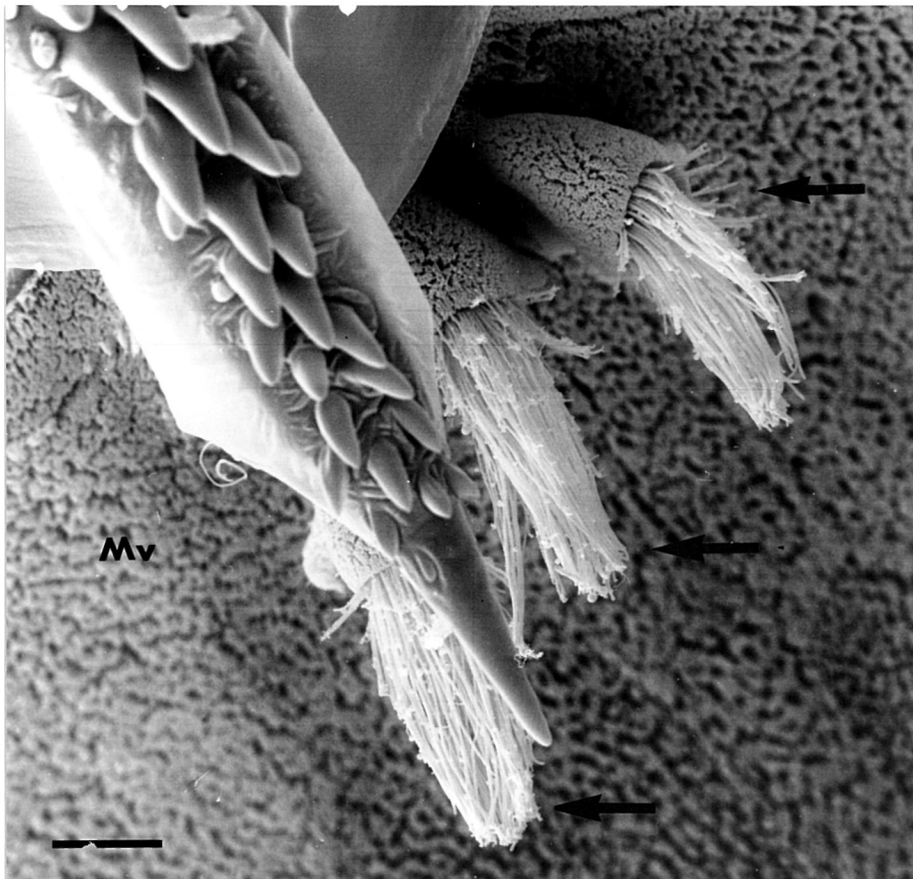


Abb. 51: Sinnesborsten in Hakennähe bei *Pseudanodonta* = Pfeil, Mv = Mikrovilli, Maßstab 10µm

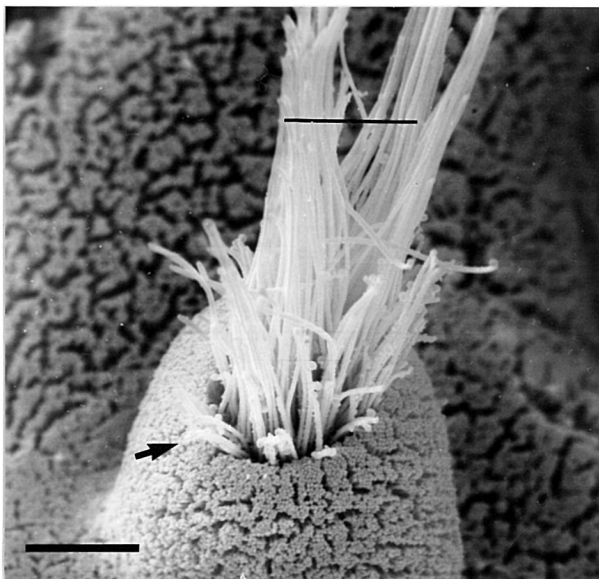


Abb. 52: mediane Sinnesborste von *Pseudanodonta*, Mikrovilli = Pfeil, Balken = Abb. 59, Maßstab 5µm

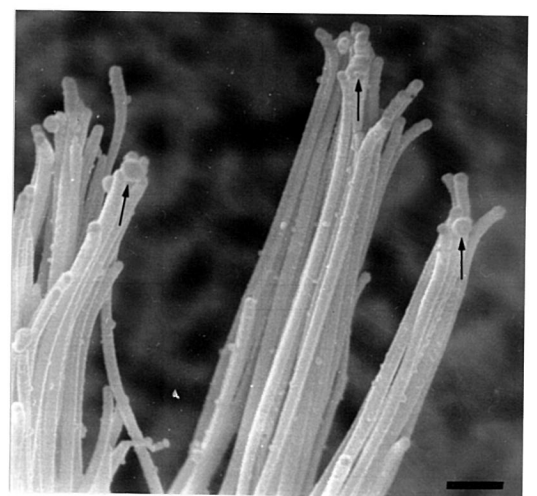


Abb. 52a: Cilienspitzen der Sinnesborste von *Pseudanodonta* aus Abb. 52, knopfförmige Auftreibungen = Pfeil, Maßstab 1µm

3.1.3.2. Das Glochidium von *Pseudanodonta complanata*: Zusammenfassung

Glochidie, die länger ist als hoch mit spitzem Schalenhaken und langem dichten Zahnbesatz, ohne Larvalfaden und ohne Mittelwulst; seitliche Gruben eingesenkt, daneben zwei mediane Sinnesborsten kleiner als bei *Anodonta anatina* und *Anodonta cygnea*, Cilienband von mittlerer Dichte, drei dicht beieinander stehende Sinnesborsten in der Nähe jeden Hakens.

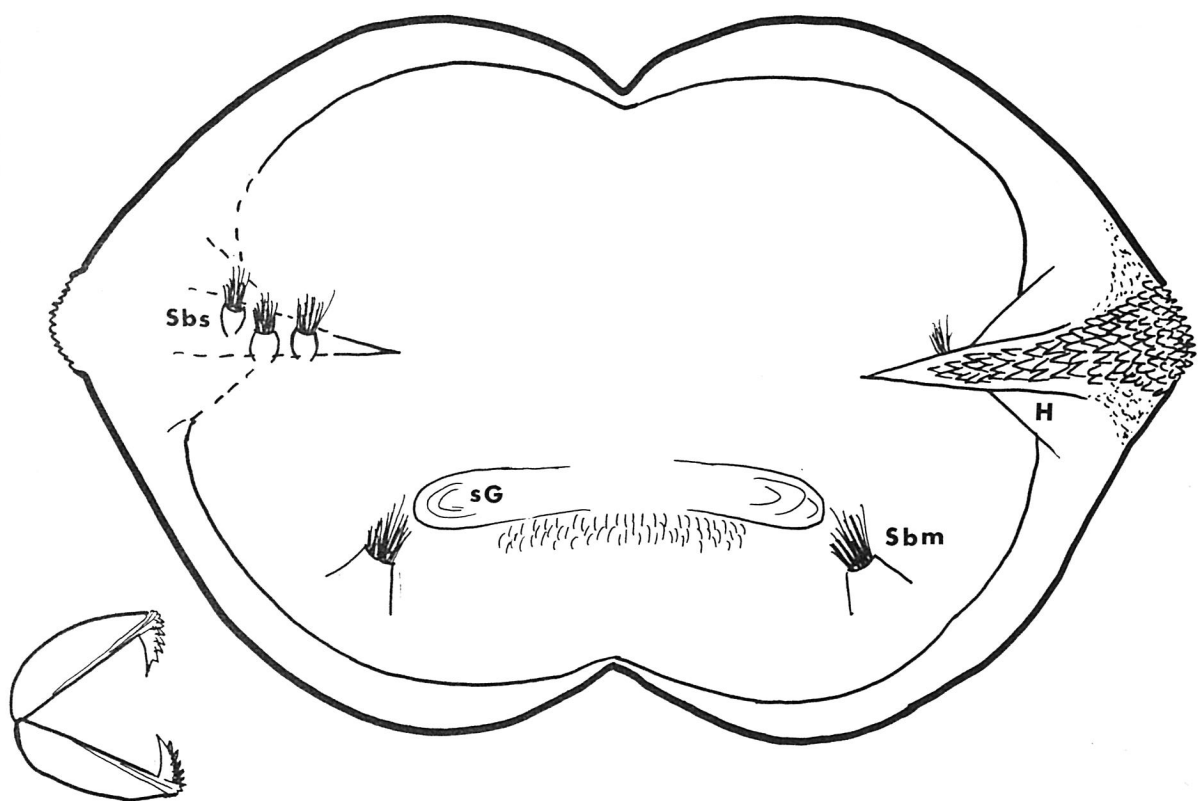


Abb. 52b: Übersicht zur Glochidie von *Pseudanodonta complanata*, H = Schalenhaken, Sbm = Sinnesborsten median, Sbs = Sinnesborsten beim Schalenhaken, sG = seitliche Grube

3.1.4. REM von Glochidien der Familie *Margaritiferidae*

Margaritifera margaritifera stellt die einzige rezente einheimische Art der Familie *Margaritiferidae* und der Gattung *Margaritifera* dar.

3.1.4.1. Glochidie von *Margaritifera margaritifera*

a) Maße

Die Larven der Flußperlmuschel unterscheiden sich bereits durch ihre winzigen Abmessungen von 60µm Länge und 80µm Höhe (Young und Williams 1984b) von den Glochidien der anderen Najaden.

b) Schalenform

Die oben genannten Abmessungen, dorsale Linie kurz und Strecke zum ventralen Schalenrand lang, verschafft den Perlmuschellarven bei 1200facher Vergrößerung sowohl in der Schalen- (s. Abb. 53) als auch in der Frontalaufsicht ein schnabelartiges Aussehen (s. Abb. 54, hier Blick auf das Hinterende)

c) Schalenhaken

Ein Schalenhaken läßt sich nicht feststellen, wohl aber ein scharfer, schräg zum Weichkörper umgebogener Schalenrand (s. Abb. 55).

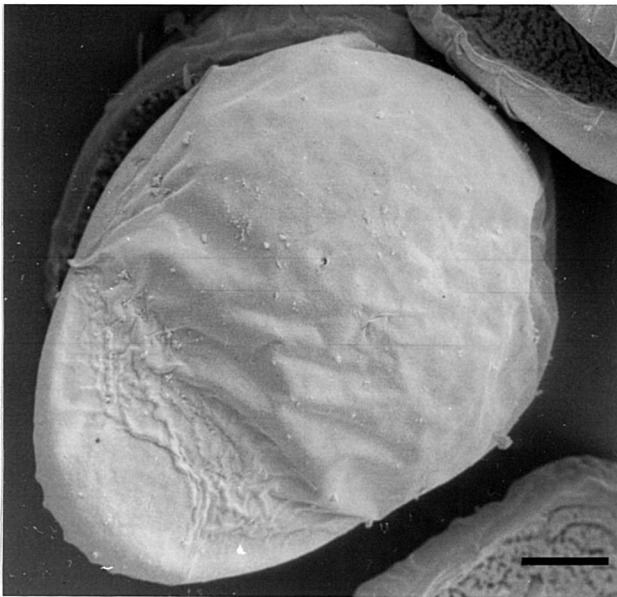


Abb. 53: Schale in der Aufsicht der Glochidie von *Margaritifera*, Maßstab 10µm

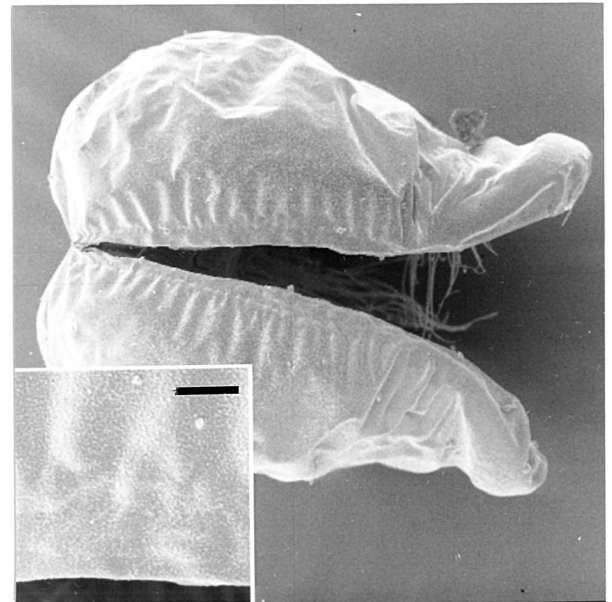


Abb. 54: *Margaritifera*, Frontalaufsicht, Ausschnitt = Schale, Maßstab 2µm

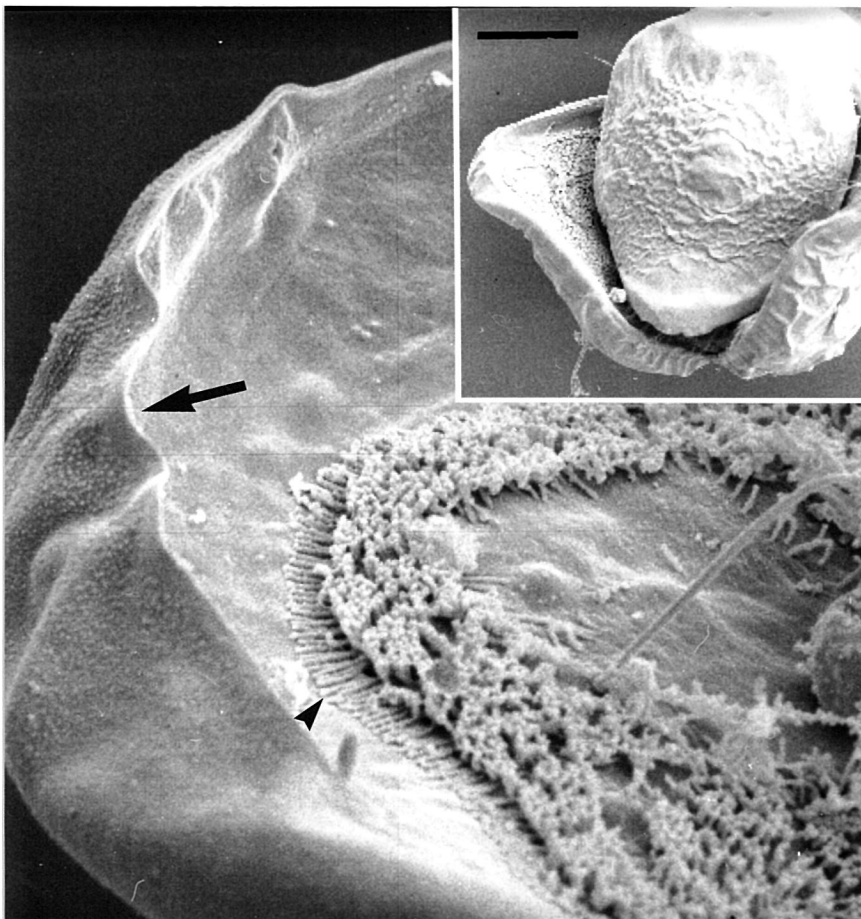


Abb. 55: Schalenrand der Glochidie von *M. margaritifera* = Pfeil, Mikrovilli der Oberfläche angelagert = >, die mikrovillifreie Stelle entstand wahrscheinlich beim "Zubiß" der zweiten Perlmuschellarve s. Übersicht, Maßstab 20µm

d) Oberfläche des Weichkörpers

Auch der Weichkörper der Perlmuschellarve trägt einen dichten Mikrovillibesatz (s. Abb. 56, 57, 58, 61, 62).. Nahe am Schalenrand fehlt er. Beim Übergang zur Schale scheinen die einzelnen Mikrovilli parallel nebeneinander auf der Glochidienoberfläche im rechten Winkel zum Rand zu liegen (s. Abb. 55). s. Abb. 64, 65), paarige seitlichen Gruben und das sie verbindende Cilienband sind ebenfalls vorhanden (s. Abb. 64, 65). Die Gruben zeigen stets ein bis zwei blasige Auftreibungen in ihrer Mitte, die sie umgebenden Mikrovilli sind erheblich kürzer als diejenigen, die den restlichen Weichkörper überziehen. (s. Abb. 66). In der ventralen Aufsicht kann man drei Furchen im Mikrovilliüberzug unterscheiden. Die erste umgibt das Epithel, das sich über dem Schließmuskel hervorwölbt (s. Abb. 57), die zweite zieht parallel zum Schalenrand von der Mitte der Glochidie aus gesehen vor den Sinnesborsten entlang, die dritte befindet sich in unmittelbarer Randnähe (s. Abb. 56).

e) Larvalfaden

Ein Larvalfaden fehlt auch bei der Perlmuschellarve.

f) seitliche Gruben

Die seitlichen Gruben den Margaritifera-Glochidien sind flach und tragen kürzeren Mikrovillibesatz als der restliche Weichkörper (s. Abb. 58). In ihrer Mitte befinden sich ein bis zwei blasige Gebilde (s. Abb. 57, 58). Die Cilien des Wimpernbandes stehen direkt neben den seitlichen Gruben in der Regel dichter als auf dem Teilstück zwischen den beiden (s. Abb. 56, 57). Bei fast geschlossener Schale schlagen sie bei der fixierten Larve stets nach außen um (s. Abb. 59).

g) Sinnesborsten.

Sinnesborsten, die denjenigen der anderen Unionacea ähneln, sind nicht vorhanden, wohl aber zwei Cilienbüschel, die sich jeweils in der Nähe des "Schnabelrandes" befinden, also in etwa an der Stelle, wo die anderen beschriebenen Glochidien ihre drei Sinnesborsten in Hakennähe besitzen. Die Cilienbüschel treten direkt aus dem Epithel hervor, ohne daß sie ,wie bei den anderen Muschelarten-, eine Art Schafft umgibt (s. Abb. 56, 60, 61). Bei fast geschlossener Schale haben die Cilien Kontakt miteinander (s. Abb. 59). An manchen dieser Cilien sind bei 10 000 facher Vergrößerung scheibenförmige Endungen zu erkennen (s. Abb. 62, Ausschnitt aus 59). Über der Vorwölbung des Schließmuskels kommen zwei Cilienpaare vor (s. Abb. 57).

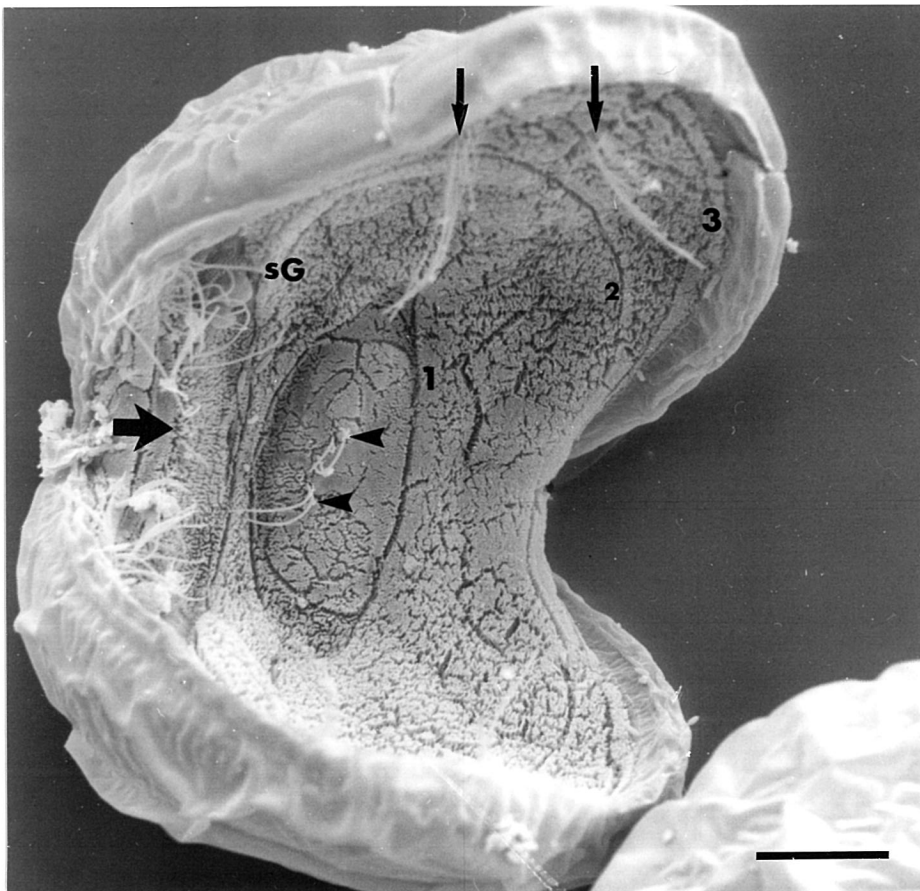


Abb. 56: Aufsicht schräg von hinten auf die Glochidie von *Margaritifera*, 2 Cilienpaare über dem Schließmuskel = >, Cilienbüschel beim Schalenrand = Pfeil, Wimpernbund zwischen den seitlichen Gruben = dicker Pfeil, sG = seitliche Gruben, 1 = Furche um den Schließmuskel, 2 = zweite Furche, 3 = Furche beim Schalenrand, Maßstab 10 μ m

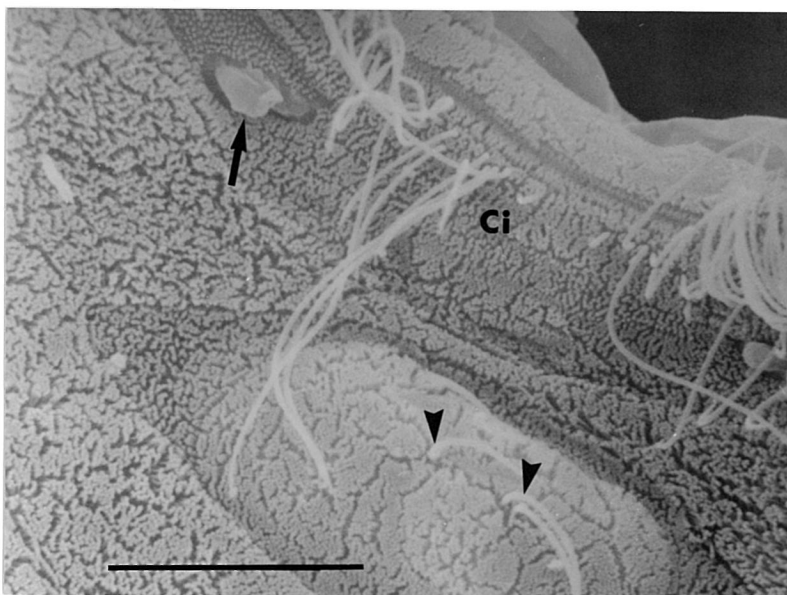


Abb. 57: *M. margaritifera*, zwei Cilienpaare über dem Schließmuskel = >, seitliche Gruben mit blasigen Auftreibungen = Pfeil, Ci = Cilienband, Maßstab 10 μ m

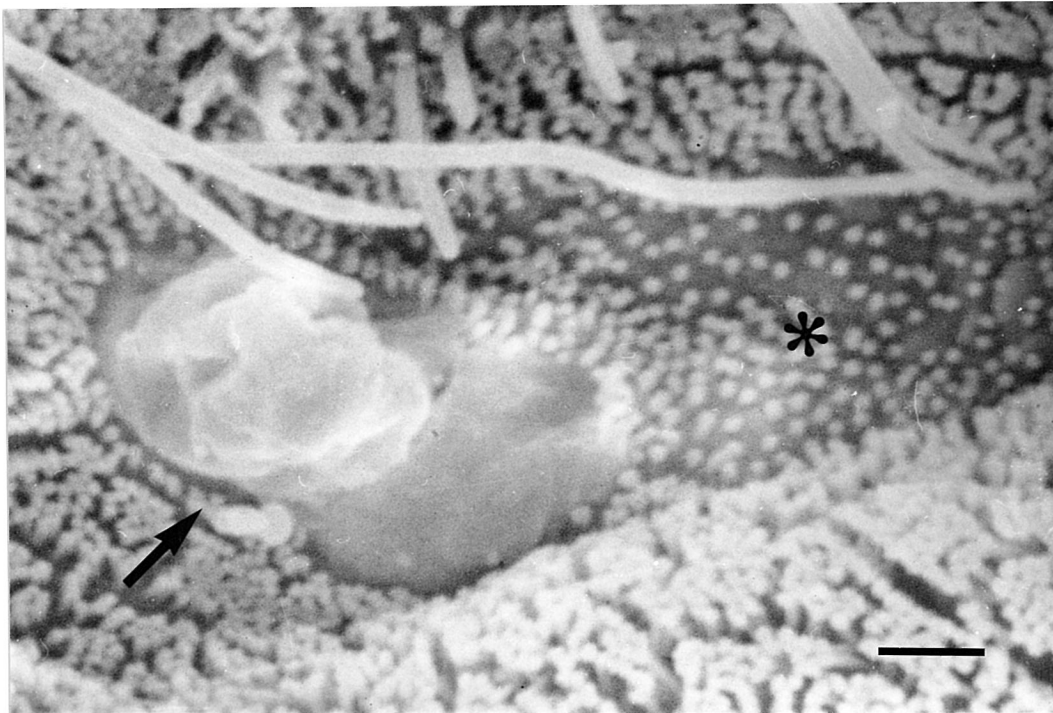


Abb. 58: *M. margaritifera*, re. seitliche Grube, blasige Auftreibungen = Pfeil, kurze Mikrovilli = Stern, Maßstab 1µm

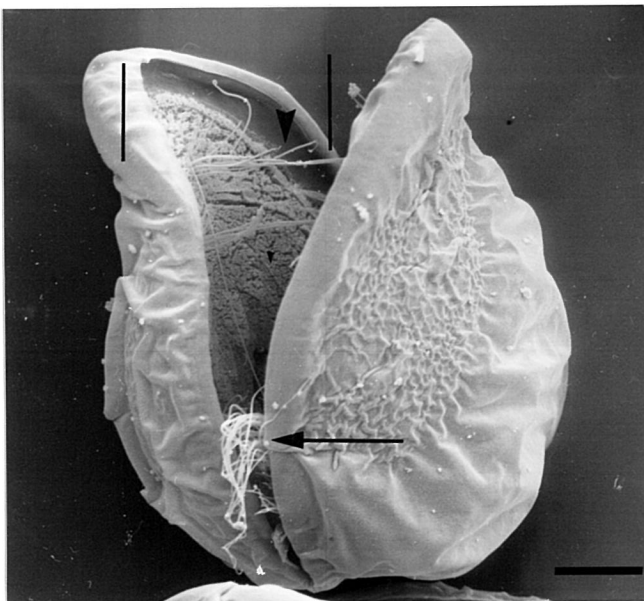


Abb. 59: *M. margaritifera* von hinten, Cilienbüschel im Kontakt miteinander = >, Bewimperung = Pfeil, Balken = Ausschnitt von Abb. 62, Maßstab 10µm

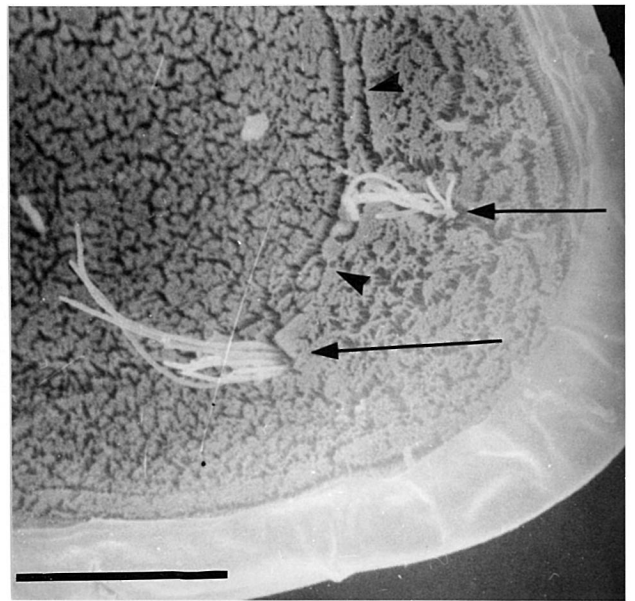


Abb. 60: *M. margaritifera*, beim Schalenrand 2 Cilienbüschel = Pfeil, mittlere Furche im Mikrovilliüberzug = >, Maßstab 10µm

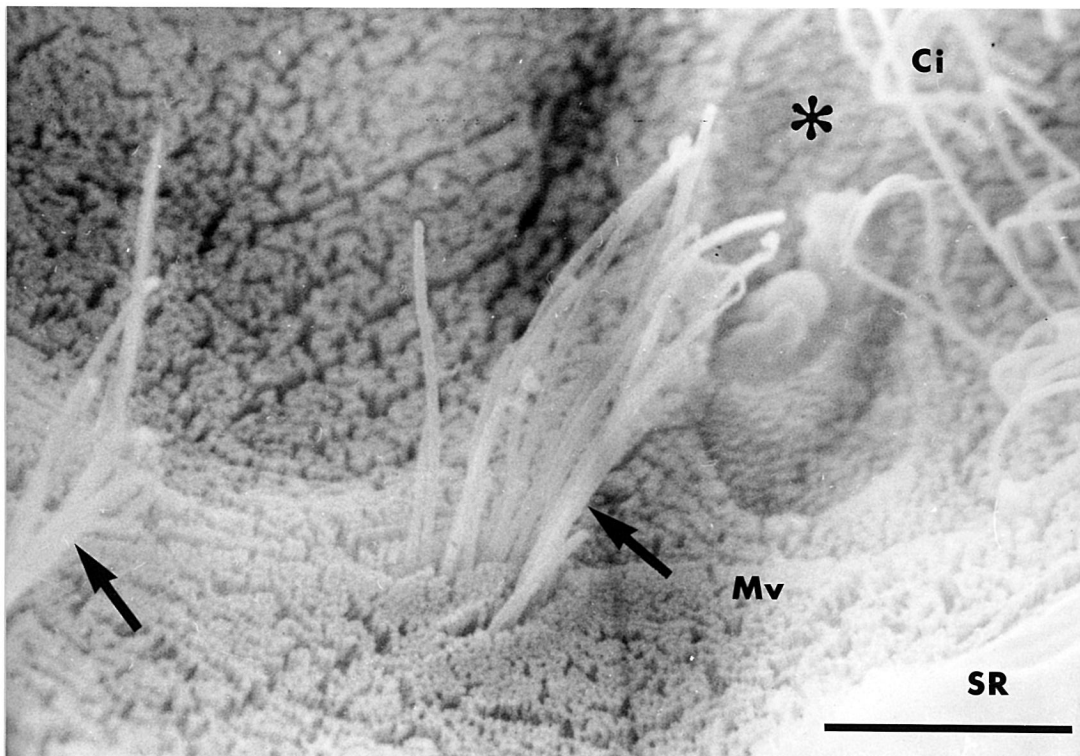


Abb. 61: *Margaritifera*, linke seitliche Grube = Stern, Cilienbüschel = Pfeil, SR = Schalenrand, Ci = Cilienband, Mv = Mikrovilli, Maßstab 5µm

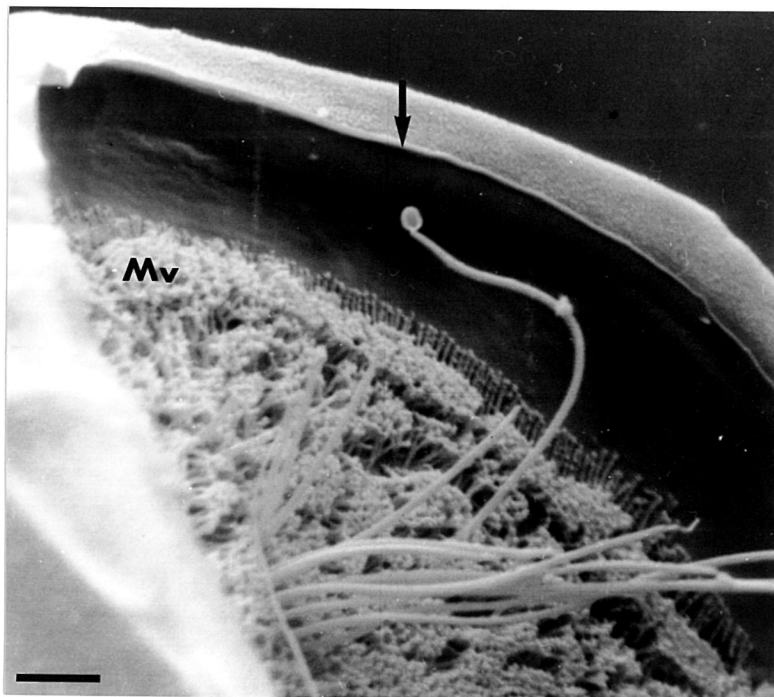


Abb. 62: *M. margaritifera*, Ausschnitt aus Abb. 59, Auftreibung einer Cilie im Cilienbüschel = Pfeil, Mv = Mikrovilli, Maßstab 2µm

3.1.4.2. Das Glochidium von *Margaritifera margaritifera*: Zusammenfassung

Die Glochidien der Flußperlmuschel sind sehr klein und haben eine hakenlose schnabelartig geformte Schale, deren Rand gegenüber der Schloßlinie umgebogen ist und scharfkantig ausläuft. Die Ventraloberfläche zeigt Mikrovilli-Besatz. Sinnesborsten, wie sie bei den Larven der anderen *Unionaceae* vorkommen, besitzt sie nicht, aber zwei paarige Cilienbüschel in Schalenrandnähe sind vorhanden. Die seitlichen Gruben sind mit einem Wimpernstreifen aus langen relativ dicht stehenden Cilien verbunden, ein Larvalfaden fehlt.

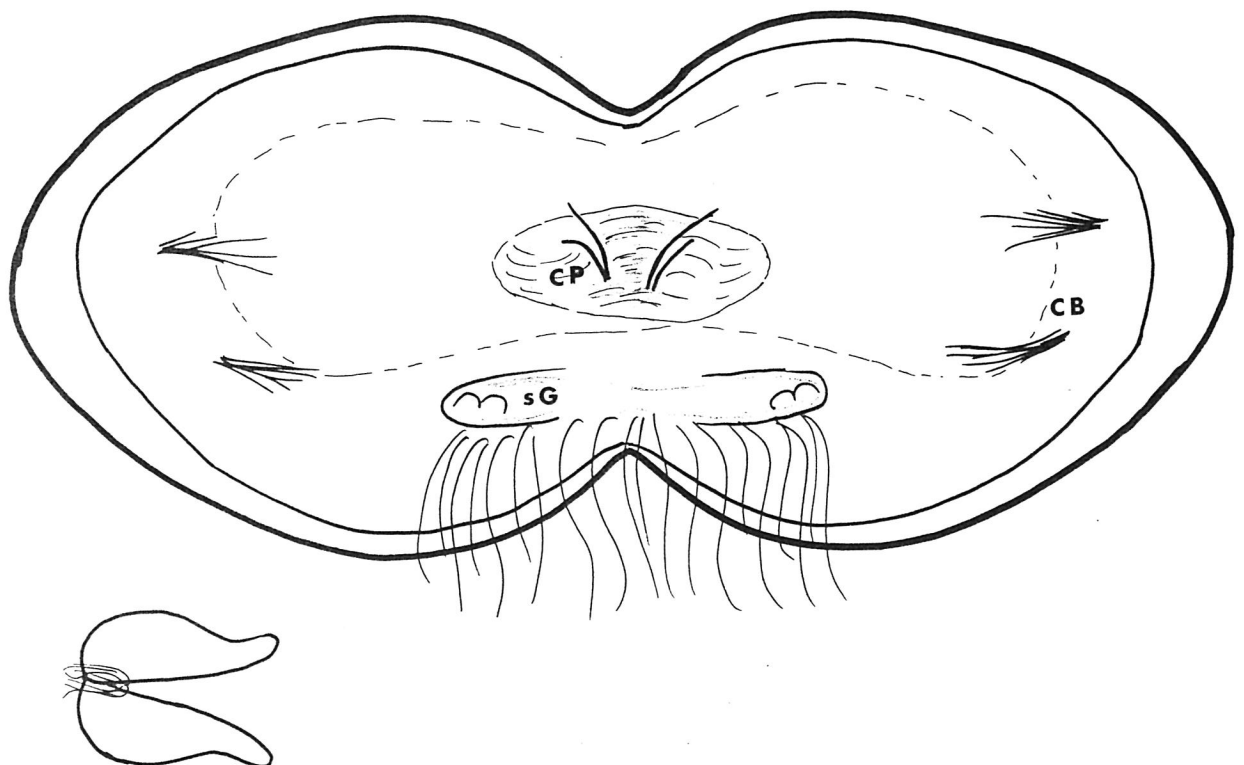
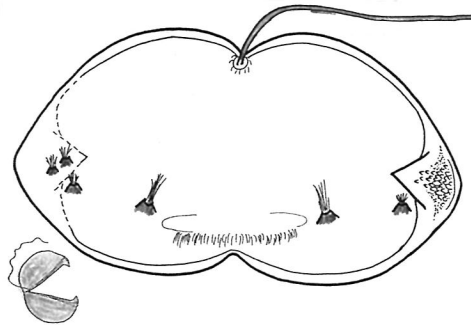


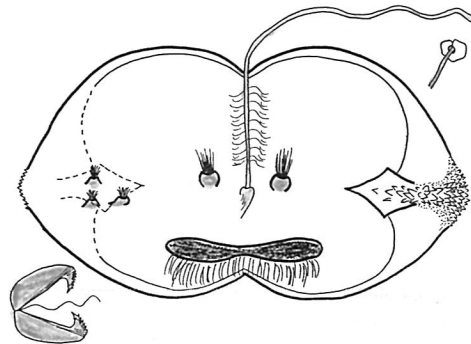
Abb. 63: Zeichnung der Glochidie von *Margaritifera*, CB = Cilienbüschel, CP = Cilienpaar, sG = seitliche Grube

3.1.5. Zusammenfassung der morphologischen Unterschiede von Glochidien der untersuchten Arten

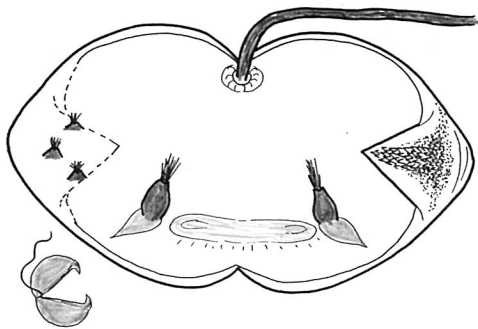
a) Zeichnungen im Überblick



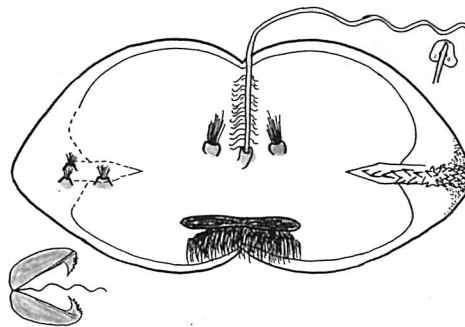
Unio tumidus



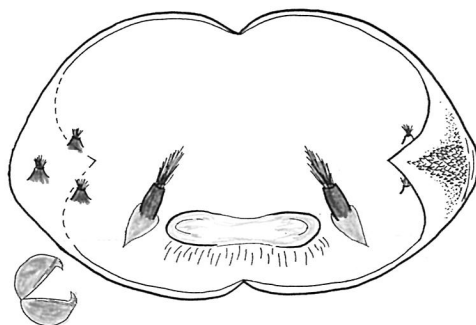
Anodonta cygnea



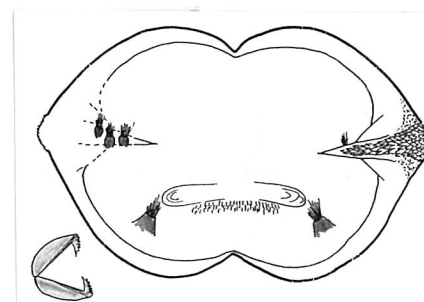
Unio pictorum



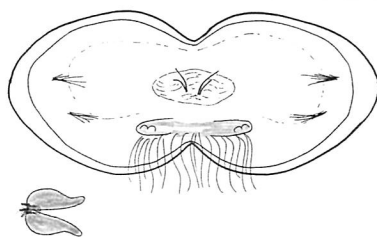
Anodonta anatina



Unio crassus



Pseudanodonta complanata



Margaritifera margaritifera

Abb. 63a: Zeichnungen der morphologischen Unterschiede von Glochidien der *Unionacea* im Überblick

3.1.5. Tabelle der morphologischen Unterschiede von Glochidien der untersuchten Arten

Art	Schalenhaken		Sinnesborsten beim Schalenhaken		Sinnesborsten median	Larvalfaden		Seitliche Gruben		Größe	
	Winkel	Zähne	Anzahl	Form		Form	vorhanden	Inserierungspunkt	Einsenkung	Bewim-perung	a=Länge in μm
<i>Unio crassus</i>	90°	kurz/r	3	Kegelstumpf	Zylinder	nein		flach	spärlich	220	195
<i>Unio pictorum</i>	70°	lang/sp.	3	Kegel	Zylinder aufgetrieben	ja	vorn Mitte	flach	spärlich	210	200
<i>Unio tumidus</i>	90°	kurz/r.	3	kurz/flach	Kegelstumpf	ja	vorn Mitte	flach	spärlich	210	200
<i>Anodonta cygnea</i>	45° lan-zettf.	spitz/kräftig	3	walzenkegelf. kurz	Tonne	ja	Mitte	tief	dicht, kurz	310	310
<i>Anodonta anatina</i>	30°	spitz, lang	3	walzenkegelf. kurz	Tonne	ja	Mitte	tief	dicht, lang	340	360
<i>Pseud-anodonta complanata</i>	26°m max 30°	spitz, lang	3	walzen-tulpenförmig	kegelstumpf	nein		mittel-tief	kurz, mittlere Dichte	340	290
<i>Margaritifera margaritifera</i>	umgebogener scharfer Schalenrand		2 Cilienbüschel			nein		flach	lang, mittlere Dichte	60	80

Tab. 7: Morphologische Variabilität von Glochidien einheimischer Arten der Überfamilie Unionacea

r=abgerundet

3.1.6. Ergänzende Beobachtungen zu den Strukturen des Weichkörpers durch Transmissionselektronenmikroskopie von *Anodonta cygnea* und *Margaritifera margaritifera*

3.1.6.1. TEM der Glochidie von *Anodonta cygnea*

Exemplarisch wurde die Larve von *Anodonta cygnea* ultradünn geschnitten. Im Weichkörper der Larven kann unterschieden werden:

a) larvaler Mantel

In der Übersichtsvergrößerung von 1:1000 zeigen die glochidialen Mantelzellen von *Anodonta cygnea* im Frontalschnitt eine blasige Struktur. Die meistens runden oder abgerundeten Zellkerne enthalten wenig stark kontrastiertes Chromatinmaterial, der Nucleolus wurde bisweilen angeschnitten. Im basalen Zelleib findet man dunkel kontrastierte Konglomerate eingelagert. Die ventrale Zelloberfläche zeigt Mikrovillibesatz, Zellgrenzen sind häufig erkennbar (s. Abb. 64). Der abgebildete Frontalschnitt liegt am vorderen Rand des Schließmuskels, der Schalenhaken wurde am Rand des Zahnbesatzes getroffen.

b) Larvalfaden und Schließmuskel

Da der Larvalfaden zweimal den Schließmuskel in der rechten Glochidienschale umgibt (WOOD 1973), muß er beim Frontalschnitt in der Mitte des Tieres vierfach zu sehen sein.

Die beiden oberen Schlingen befinden sich nahe beim larvalen Schloß, die beiden anderen beim Schalenhaken. Im Querschnitt zeigt der Larvalfaden eine graue Kontrastierung und sitzt in einer Zellformation, die an Flügel erinnert (s. Abb. 64, 65). Diese flügelartige Gewebshülle besteht aus fünf, im Querschnitt 1,5 bis 5µm messenden, abgeflachten Zellen. Bei 4.550facher Vergrößerung werden die Zellgrenzen dieses schmalen Gewebssaums sichtbar, und die Feinstruktur des Larvalfadens wirkt noch homogen (s. Abb. 65). Vergrößert man 20.000fach, wirkt sie gekörnt (s. Abb. 66).

Der im Frontalschnitt längs getroffene Schließmuskel zeigt glatte Muskelzellen, die große Zellkerne mit reichlich stark kontrastiertem Chromatin enthalten (s. Abb. 67).

c) Sinnesborsten

Die Sinnesborsten bestehen aus einer gebogenen langgezogenen Zelle mit spitzem Ende, die HERBERS (1914) als zipfelförmig bezeichnet.

Im ultrastrukturell dargestellten Zipfel dieser Zellen befinden sich Vesikel mit relativ homogener grauer Kontrastierung, das Plasma ist gekörnt (s. Abb. 68). Der große Zellkern sitzt an der Außenkrümmung der Zelle, er enthält reichlich stark kontrastiertes Chromatin (s. Abb. 68, 69,). Über ihm beginnt die Region der Geißelwurzel. Diese feinen quergestreiften fädigen Gebilde ziehen bis dicht an den Kern heran (s. Abb. 69). Dazwischen sitzen ovale bis eiförmige Vesikel, deren basales und apikales Ende grau kontrastiert erscheint, der restliche Hohlraum wird hell abgebildet. An der Zelloberfläche gehen die Geißelwurzeln in Cilienbasen über und münden schließlich in Cilien (s. Abb. 69, 70). Im Querschnitt läßt sich deren Tubulusstruktur von 9+2 erkennen (s. Abb. 69). Das abgebildete Sinnesborstenpaar stellt die mittelständigen dar. Da sie bei geöffneter Glochidie aus der ventralen Oberfläche hervortreten, müssen sie bei Schalenschluß, - der dargestellte Ultradünnschnitt wurde an einer geschlossenen Larve durchgeführt -, "eingestülpt" werden können (vergl. Abb. 68, 69 und 39, 40). Die Cilien werden beim abgebildeten Exemplar zum Schalenrand hin umgebogen. Das umgebende Gewebe zeigt Mikrovilli-Besatz (s. Abb. 68, 69, 70).

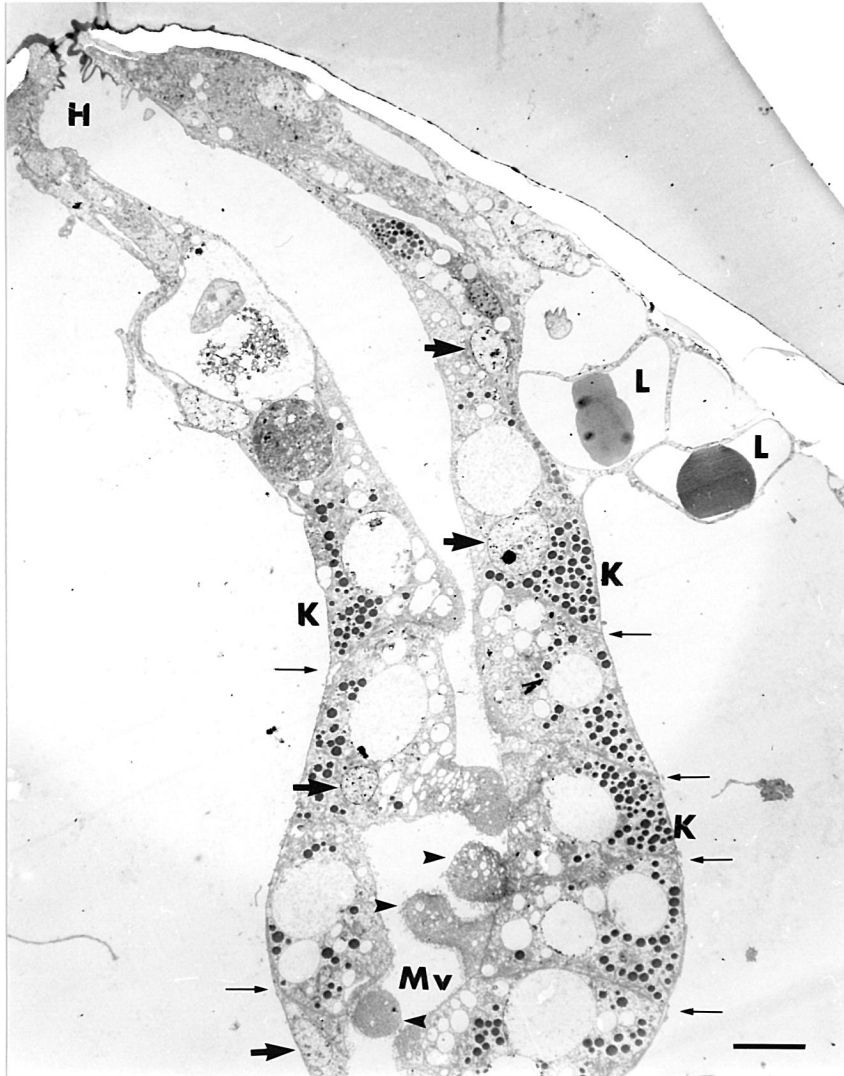


Abb. 64: *Anodonta cygnea*, Frontalschnitt durch den larvalen Mantel in Höhe des vorderen Schließmuskel-u.Hakenrandes, Zellgrenzen = Pfeil, Zellkerne = kurze Pfeile, H = Haken, Mv = Mikrovilli (dort auch verkippt angeschnittene Mantelzellen >), L = Larvalfaden, K = stark kontrastierte Konglomerate, Maßstab 10µm

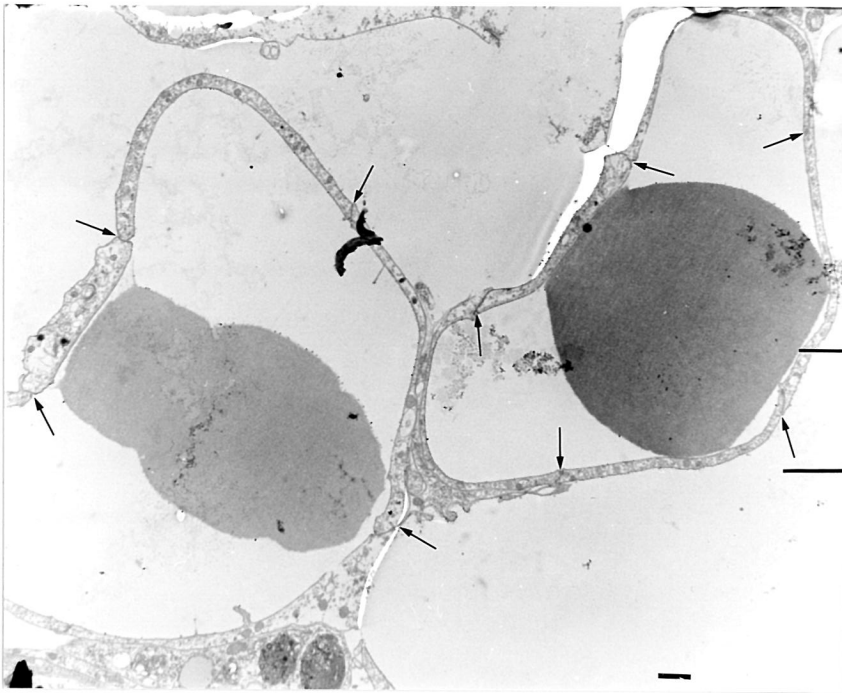


Abb. 65: Ausschnitt aus Abb. 64, Querschnitt des Larvalfadens von *A. cygnea*, Zellgrenzen der flügelartigen Zellformation = Pfeil, Balken = Ausschnitt von Abb. 66, Maßstab 1µm

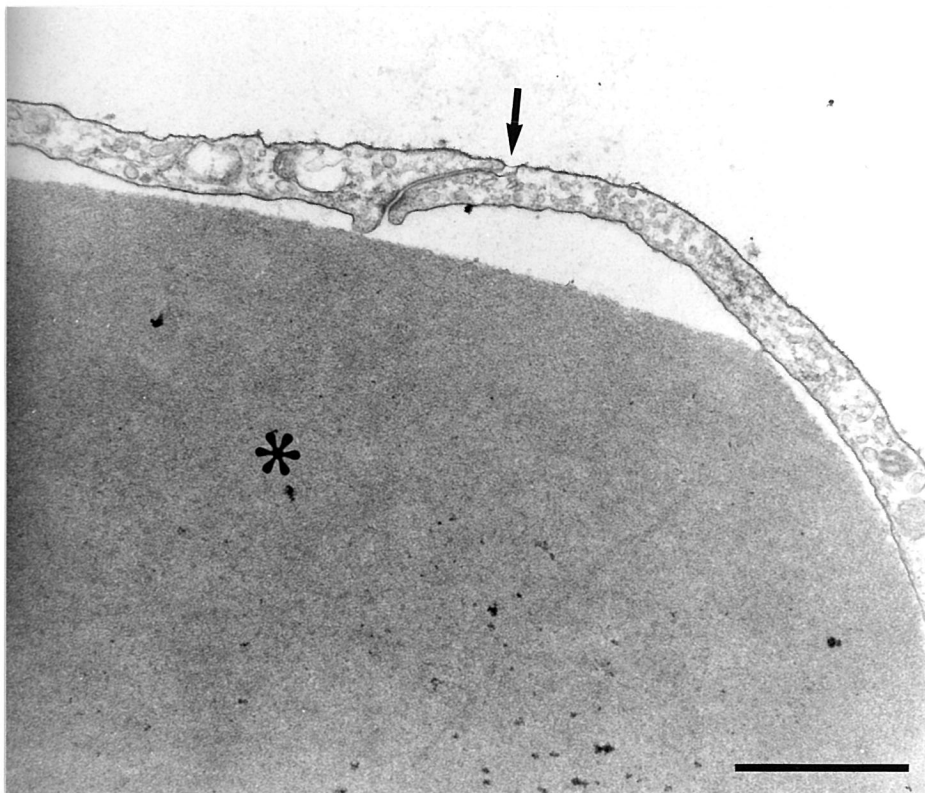


Abb. 66: Ausschnitt aus Abb.64 und 65, Teil des Larvalfadens und seiner Hülle, *A.cygnea*, Zellgrenze = Pfeil, gekörntes Material = Stern, Maßstab 1µm

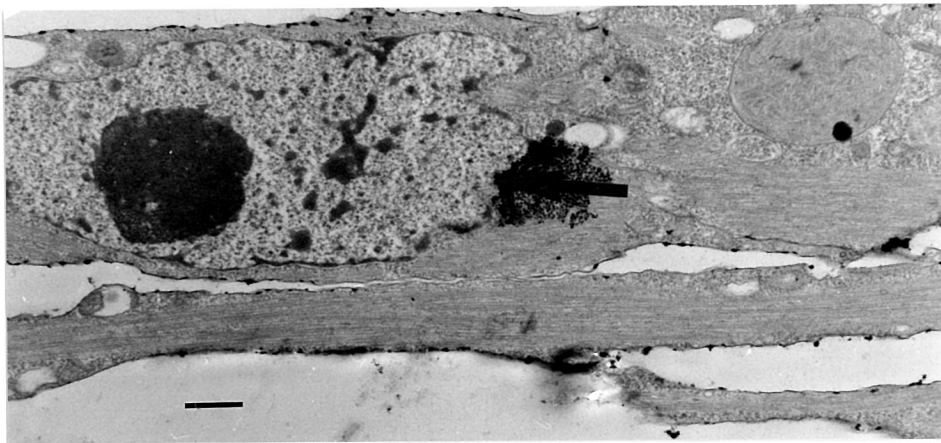


Abb. 67: glatte Muskelzelle des larvalen Schließmuskels von *Anodonta cygnea*, Zellkern = großer Pfeil, Maßstab 1µm

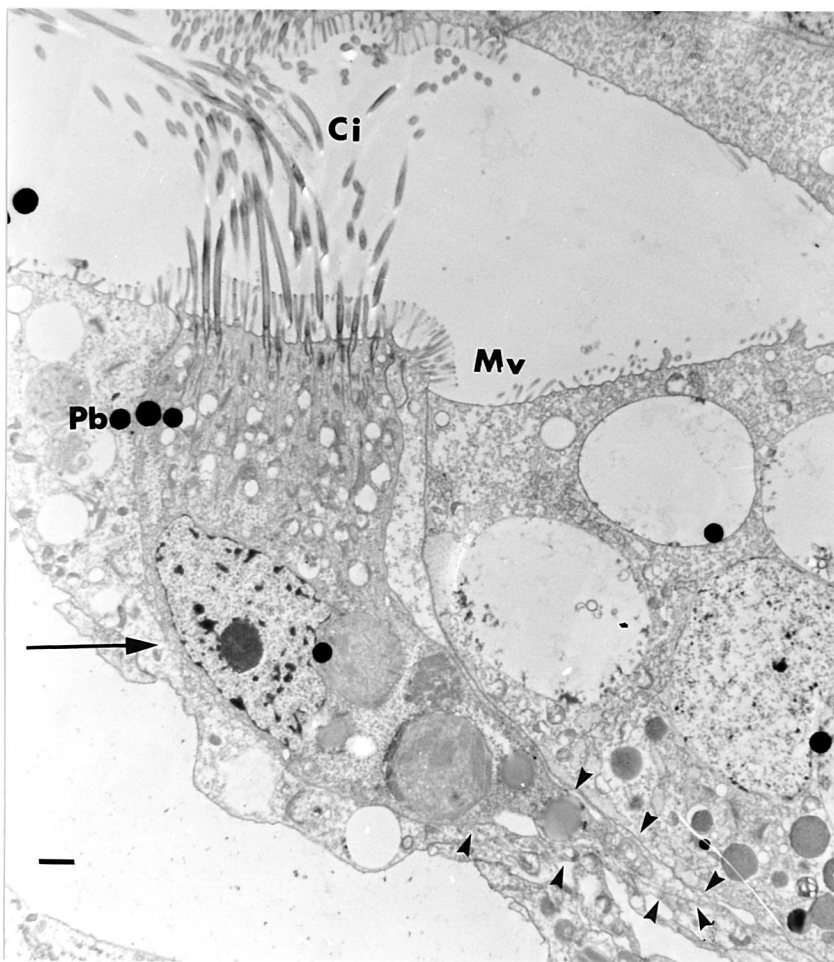
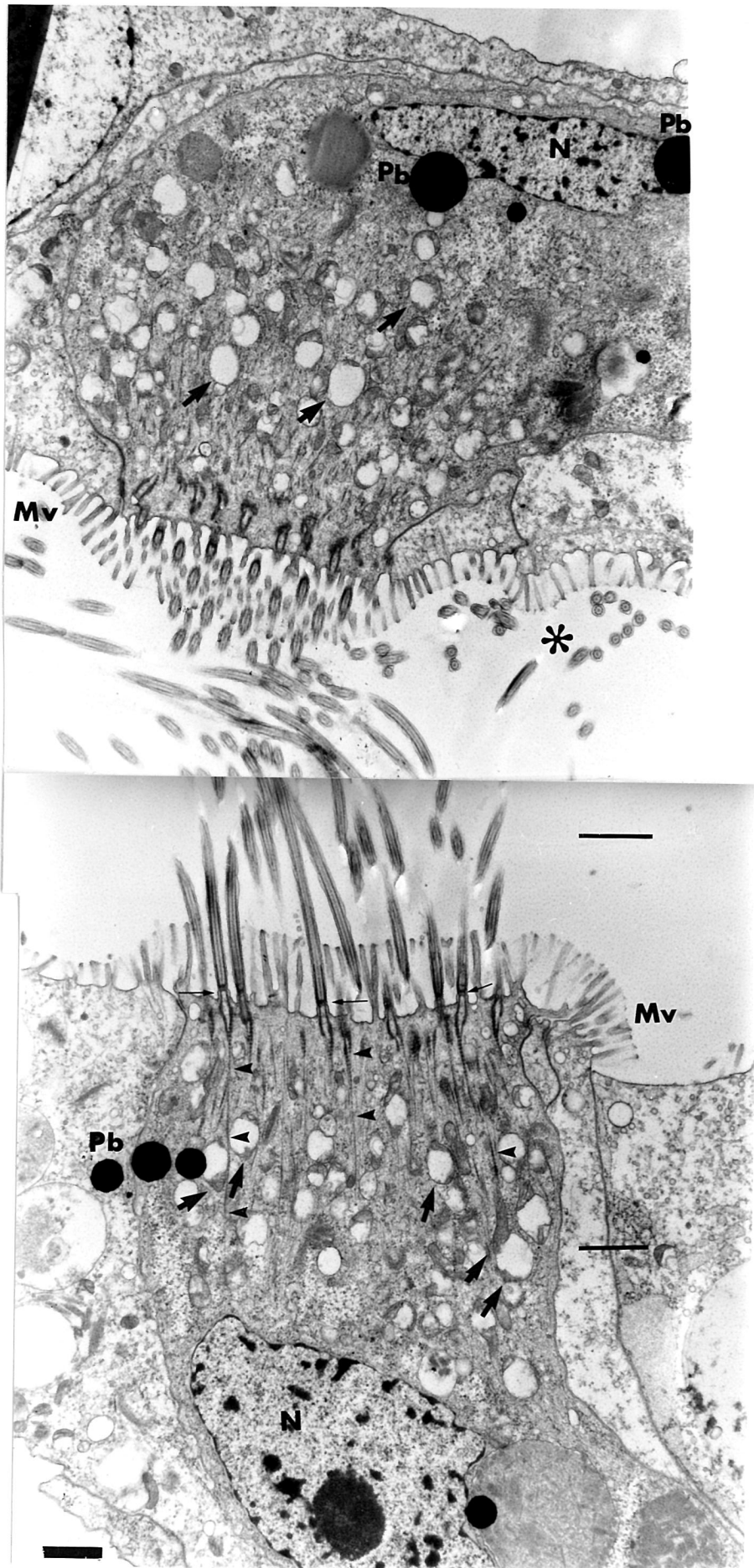


Abb. 68: Mediane Sinnesborste von *A. cygnea*, zipfelförmiges basales Ende der Zelle = >, Zellkern = Pfeil, Mv = Mikrovilli, Ci = Cilien, Pb = Bleiniederschlag, Maßstab 1µm



Bildbeschriftung der vorherigen Seite:

Abb. 69: Gegenüberliegende Sinnesborsten bei geschlossener Glochidienschale, unterer Teil der Abbildung = Ausschnitt aus Abb. 68, Cilienwurzeln = >, Cilienbasen = Pfeil, Vesikel apikal und basal grau kontrastiert = kurzer Pfeil, Mv = Mikrovilli, N = Zellkern, Pb = Bleiniederschlag, Balken = Ausschnitt von Abb. 70, Stern = Cilienquerschnitt, Maßstab 1µm

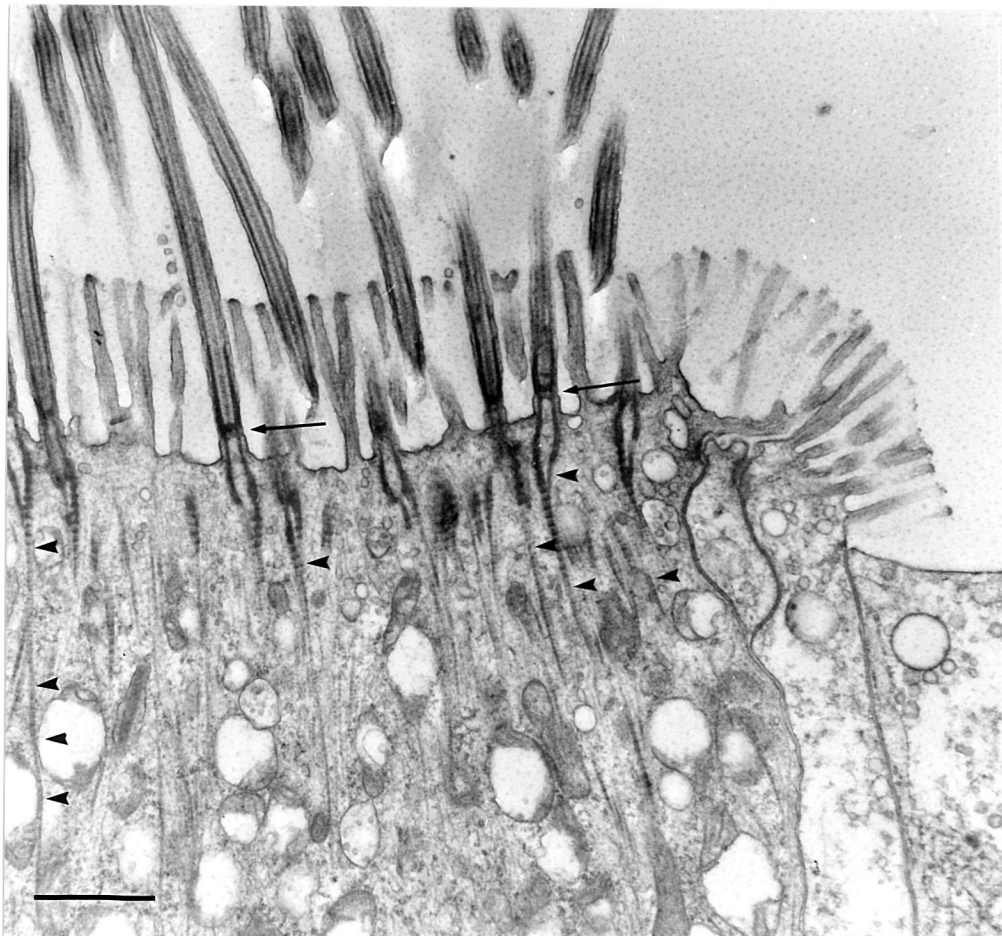


Abb. 70: Ausschnitt aus Abb. 68 / 69, Sinnesborste von *A. cygnea*, Cilienbasen = Pfeil, Cilienwurzeln = >, Maßstab 1µm

(diese Abbildungen wurden trotz der Kontrastierungsverunreinigung durch Bleiniederschlag ausgewählt, weil es auch bei Wiederholungsschnitten nicht gelang, die Cilienwurzeln und -basen im Verlauf zu treffen)

3.1.6.2. TEM der Glochidie von *Margaritifera margaritifera*

Elektronenmikroskopisch stellt sich das Gewebe der Glochidien von *Margaritifera* recht kompakt dar. Zellgrenzen sind kaum zu erkennen. Zum Schalenrand hin sind grau kontrastierete Grana ins Gewebe eingelagert. Der Mikrovillibesatz reicht nicht bis zur Schale heran (s. Abb. 71, 73). Ist der Schließmuskel im Frontalschnitt nicht in voller Länge getroffen, findet man in der Mitte des Tieres dachziegelartig angeordnete Gewebsanteile (s. Abb. 71, 72). In den Epithelzellen kommen direkt unter den Mikrovilli an manchen Stellen runde Gebilde vor, die teilweise hintereinander oder spiralig aufgereiht zu sein scheinen (s. Abb. 71, 72, 73, 75).

Wurde im Ultradünnschnitt der Bereich der Cilienbüschel getroffen, lassen sich große Zellkerne mit reichlich stark kontrastiertem Chromatin feststellen (s. Abb. 73). Bei verkipptem Anschnitt werden Cilien und deren Basen im Querschnitt dargestellt (s. Abb. 74, 75).

Ein Schnitt durch den mittleren Anteil des Schalenrands stellt diesen als außerordentlich spitz dar (s. Abb. 76).

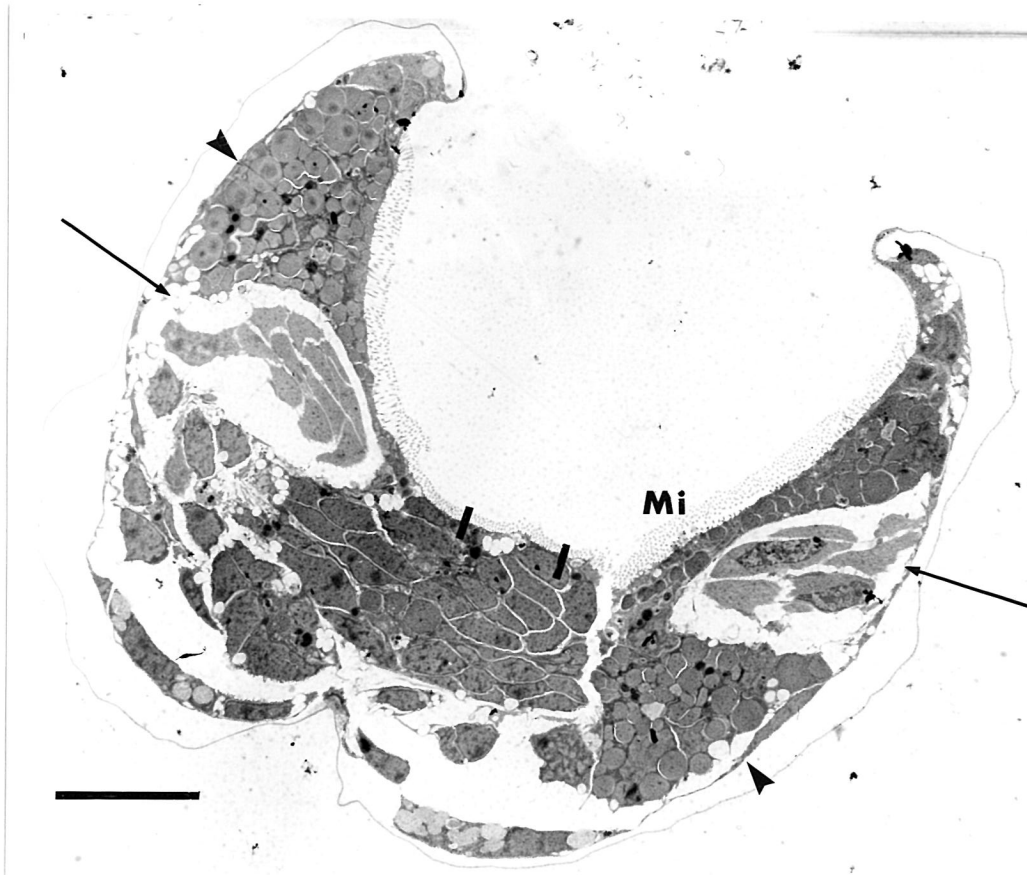


Abb. 71: Querschnitt der Glochidie von *M. margaritifera*, Schließmuskel am Rand angeschnitten = Pfeil, eingelagerte Grana = >, Mv = Mikrovilli, Balken = Ausschnitt von Abb. 72, Maßstab 10µm

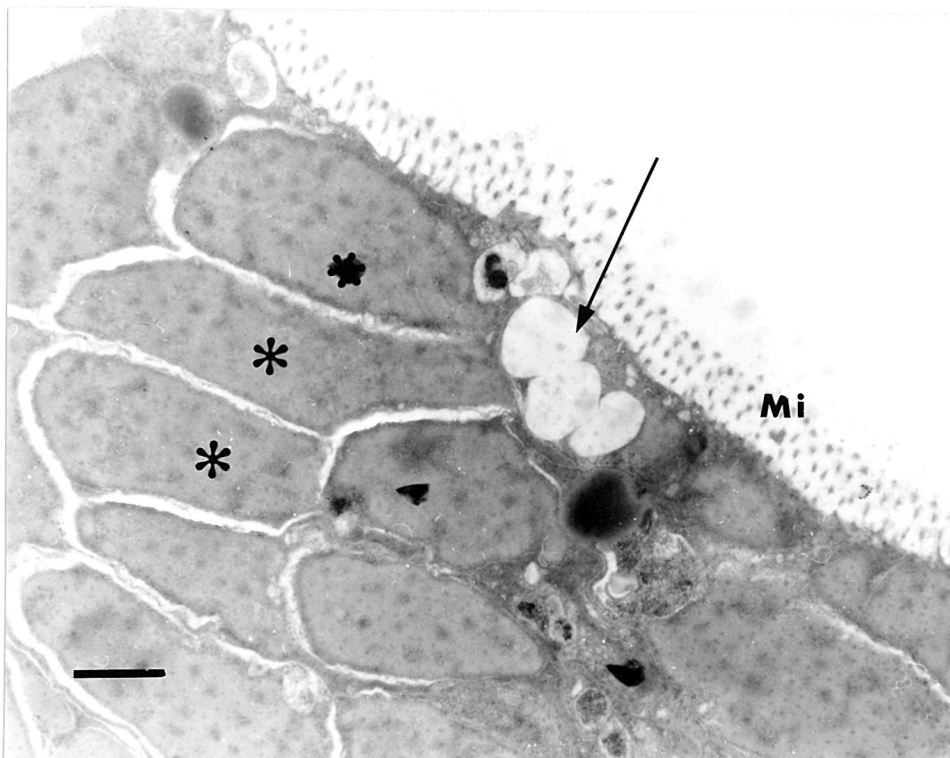


Abb. 72: Perlmuschellarve dachziegelartige Formen = Stern, aufgereihte Vesikel = Pfeil, Mi = Mikrovilli, Maßstab 1µm

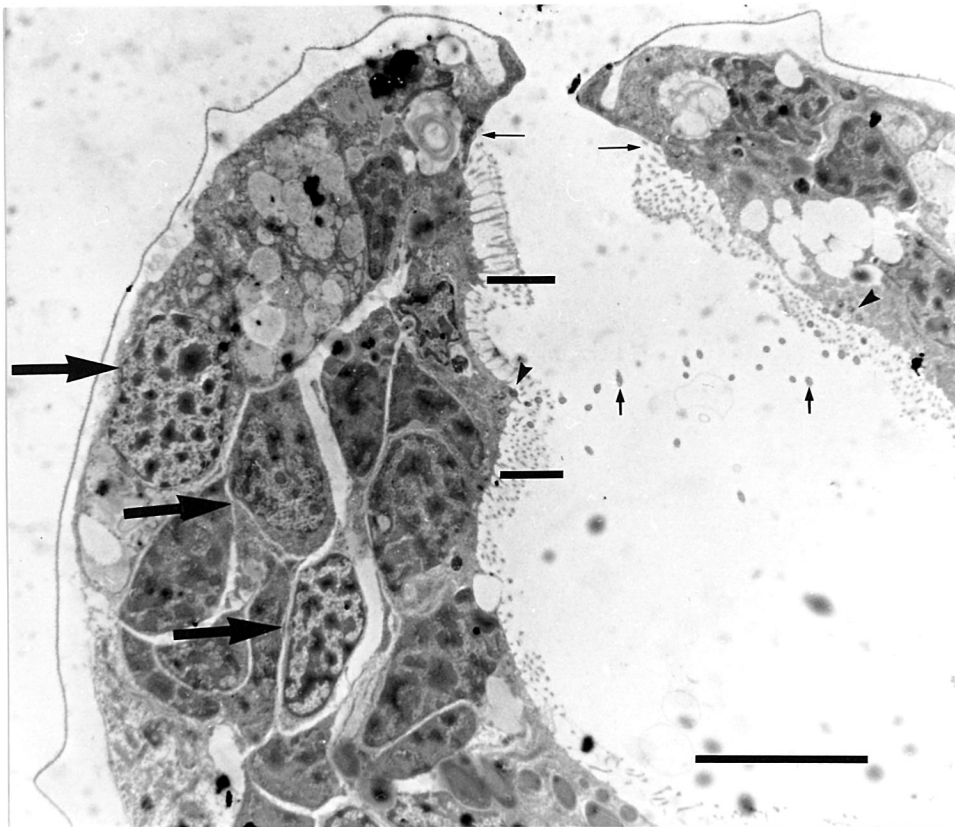


Abb. 73: Bereich der Cilienbüschel der Glochidie von *M. margaritifera*, Zellkerne = dicker Pfeil, Ende des Mikrovillisaums = Pfeil, Cilien = kurze Pfeile, Cilienbasen = >, Balken = Ausschnitt von Abb. 75, Maßstab 5µm

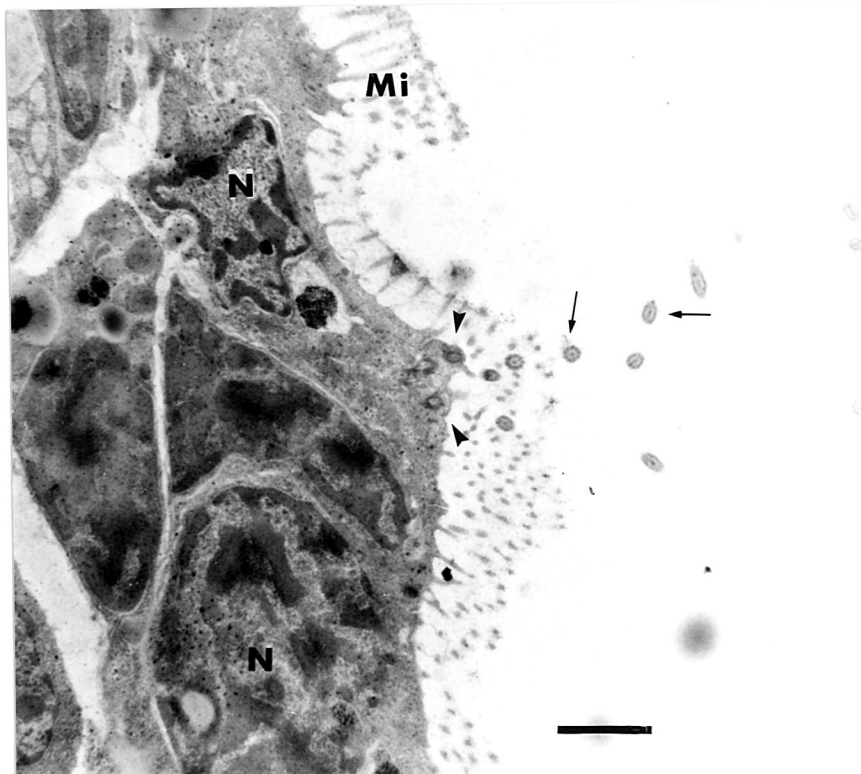


Abb. 74: Ausschnitt aus Abb. 73, Cilien quer = Pfeil, Cilienbasen quer = >, Mv = Mikrovilli, N = Zellkern, Maßstab 1µm

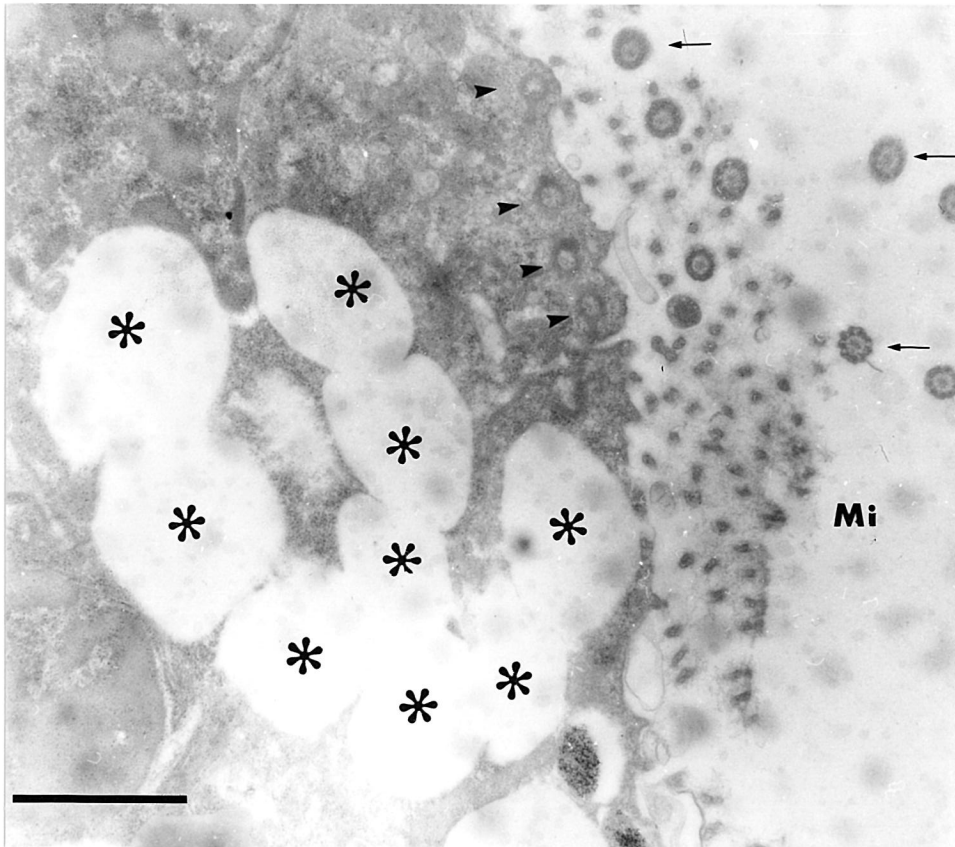


Abb. 75: *M. margaritifera*, aufgereichte Vesikel in der Nähe der Cilienbüschel = Stern, Cilien quer = Pfeil, Cilienbasen quer = >, Mv = Mikrovilli, Maßstab 1µm

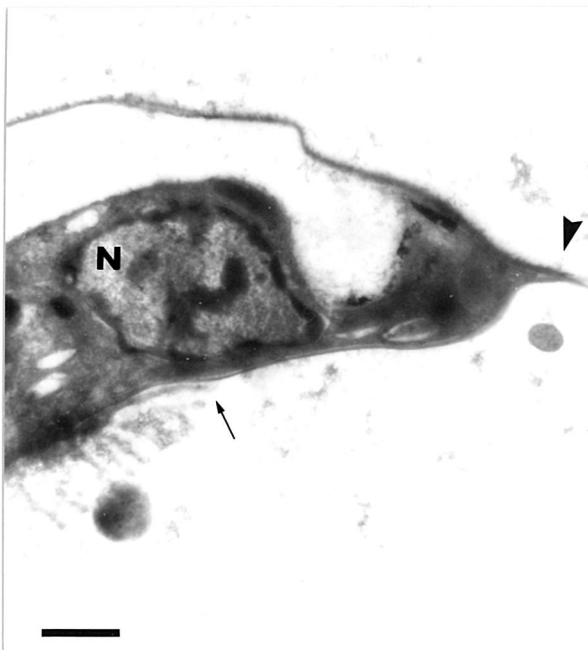


Abb. 76: Schalenrand der Glochidie von *M. margaritifera* = >, Ende des Mikrovillibesatzes = Pfeil, N = Zellkern, Maßstab 1µm

3.2. Encystierung von Glochidien der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*) auf der Bachforelle (*Salmo trutta*) und der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) als Wirtsfischen

Die Glochidien der Flußperlmuschel haften sich sowohl bei der Bach- als auch bei der Regenbogenforelle meistens an den Kiemenblättchen, seltener an den Demibranchien und nur in Ausnahmefällen an den Kiemenbögen an.

Die Zeiten der Fixierung gelten für beide Fischarten ab beendeter Infektion. Diese dauerte 30 Minuten. Nimmt man an, daß sich die Perlmuschellarven gleich beim ersten Kontakt mit dem Wirtstier anhefteten, muß man diese halbe Stunde hinzurechnen. Bei den Fixierungen nach einer und nach drei Stunden konnten auch etwas unterschiedlich fortgeschrittene Umwucherungen festgestellt werden.

3.2.1. Encystierung der Perlmuschellarven auf der Bachforelle als Wirtsfisch

Die Bachforelle *Salmo trutta* stellt neben *Salvelinus alpinus* (bei Stresemann auch Seesaibling genannt) den einzigen sehr gut geeigneten Wirtsfisch für die parasitäre Phase der Flußperlmuschel dar (BAUER 1991).

3.2.1.1. Encystierungsprozeß nach einer Stunde

Nach dieser kurzen Encystierungszeit der Glochidien ist durchaus noch der "Zubiß" zu sehen. Eine, eventuell auch mehrere Epithelzellen ragen am Vorder- und Hinterende der geschlossenen Schale des Parasiten heraus (s. Abb. 78).

Bei der Mehrzahl der untersuchten Präparate beginnen bereits große Epithelien des Kiemengewebes vom Wirtsfisch die Perlmuschellarven zu umwuchern (s. Abb. 79, 80). Zusätzlich werden die neben dem "Parasitenbiß" liegenden Kiemenblättchen angeregt, sich in Richtung der Anhaftungsstelle einzukrümmen (s. Abb. 79, 80).

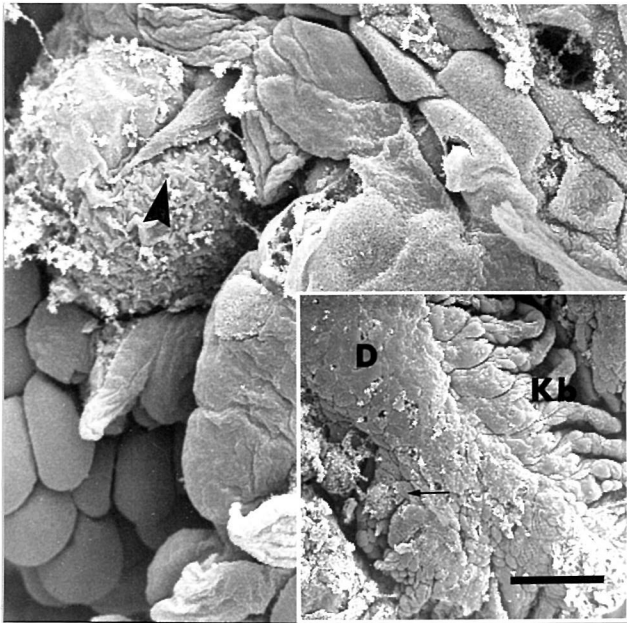


Abb. 78: *M. margaritifera* nach 1h Anhaftzeit, eingeklemmtes Kiemenepithel = >, dargestellte Glochidie in der Übersicht = Pfeil, Demibranchie = D, Kiemenblättchen = Kb, Maßstab 100µm

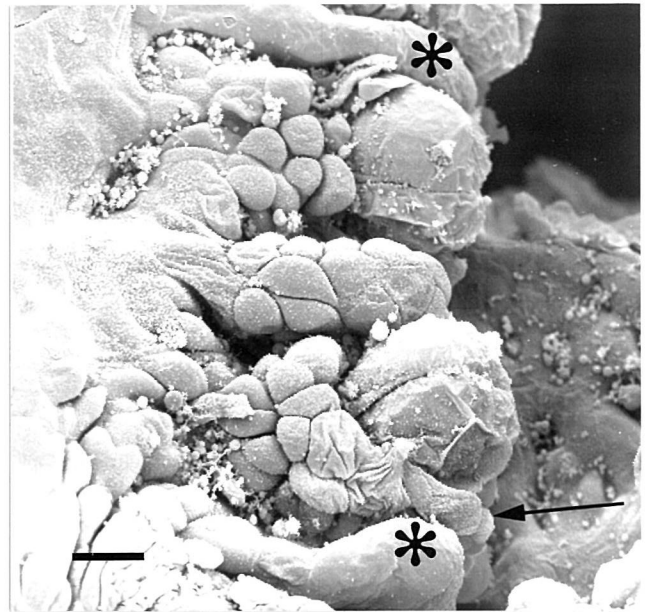


Abb. 79: 1h nach der Infektion, Längenwachstum am Rand eines Kiemenblättchens = Pfeil, sich einkrümmende Kiemenblättchen = Stern, Maßstab 20µm

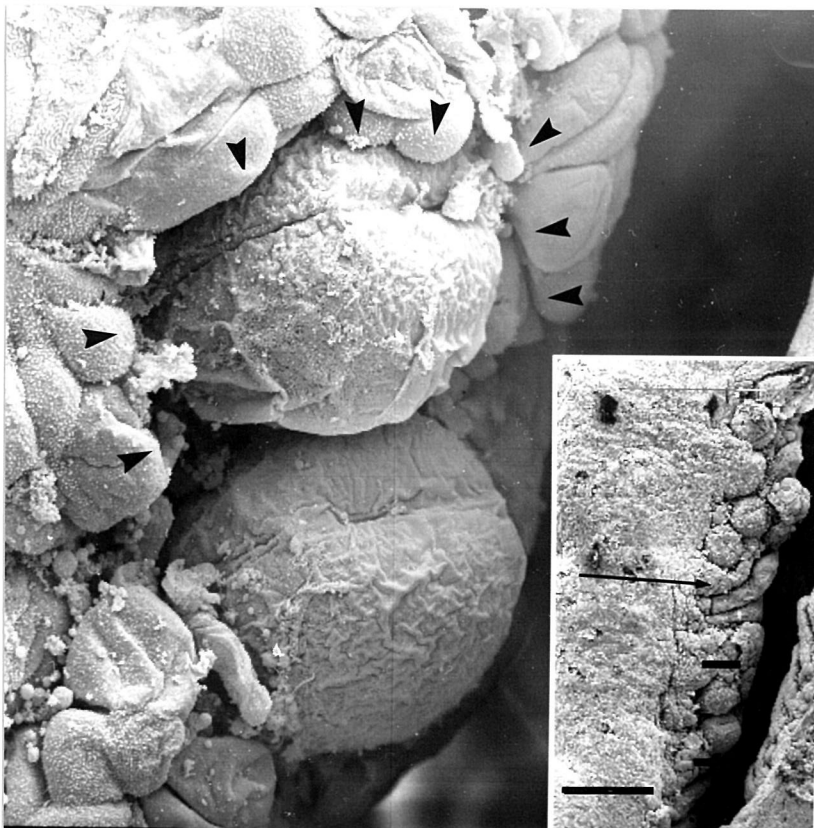


Abb. 80: nach 1h Encystierungszeit, beginnende Umwucherung der Glochidie durch Kiemenepithelien = >, eingekrümmte Kiemenblättchen = Pfeil, Balken in der Übersicht = vergrößerte Abbildung, Maßstab 100µm

3.2.1.2. Encystierungsprozeß nach drei Stunden

Präparate, die drei Stunden nach der Infektion gerastert wurden, zeigen weitgehend vom Fischepithel umwucherte Glochidien. Die Anordnung der Kiemenzellen kann bei diesem Vorgang eine Art Zylinder bilden, aus dem das larvale Schloß nach 3 h noch herauschaut (s. Abb.81).

Weitaus häufiger wurde jedoch beobachtet, daß die Perlmuschellarven regelrecht vom Fischepithel "eingewickelt" werden. Hierbei bildet der äußere Rand des Kiemenblättchens, an dem *Margaritifera* sich angeheftet hat, lange Zellen und krümmt sich Richtung Larve (s. Abb. 81, 82). Von der gegenüberliegenden Seite wachsen Zellen entgegen (s. Abb. 83, 84). Seinen Anfang nimmt dieser Prozeß bereits nach einer Stunde Encystierungszeit, zu "erahnen" bei der unteren Glochidie auf Abb. 80.

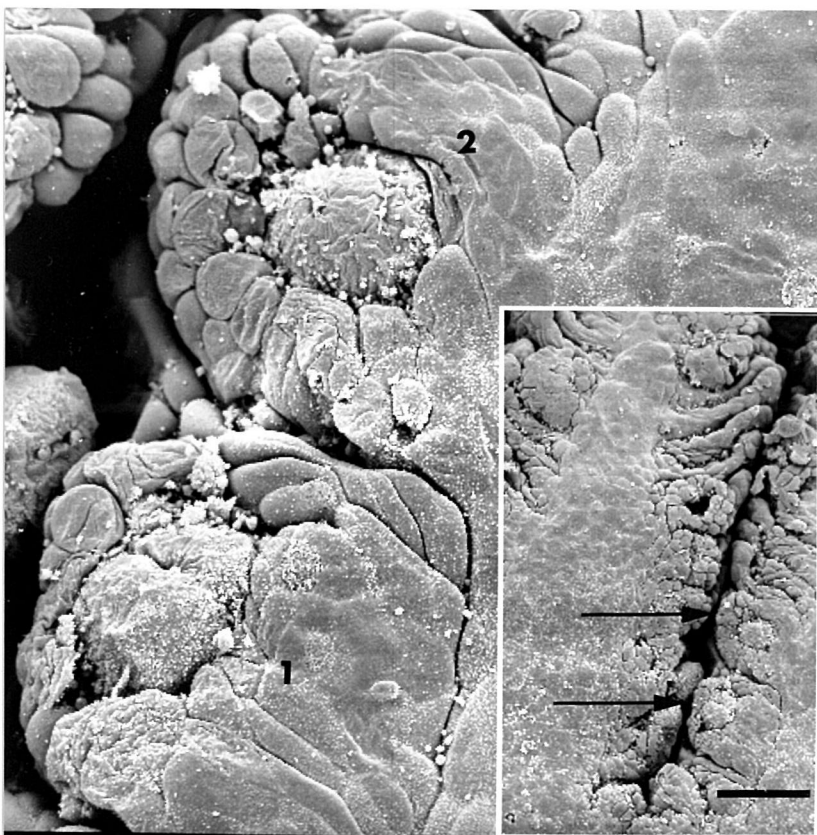


Abb. 81: *M. margaritifera* 3h nach der Infektion, zylinderförmige Umwachsung durch Kiemenepithel = 1 und "eingewickelte" Glochidie = 2, dieselben in der Übersicht = Pfeil, Maßstab 100µm

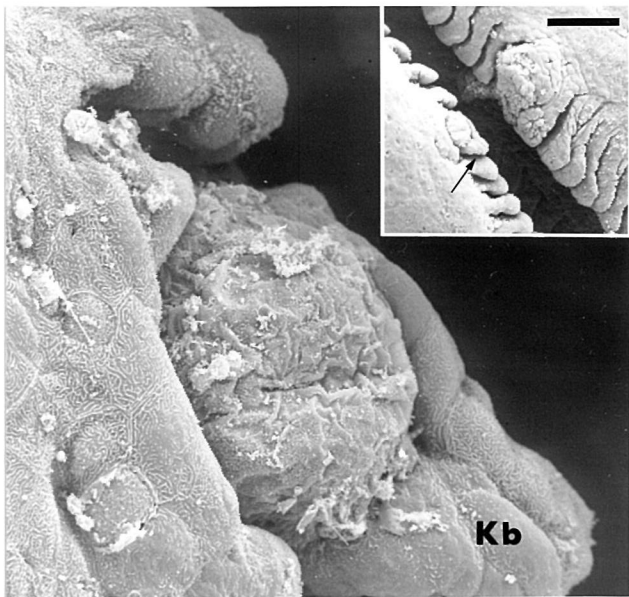


Abb. 82: 3h n. d. Infektion, verlängertes Kiemenblättchen = Kb, dasselbe in der Übersicht = Pfeil, Maßstab 100µm

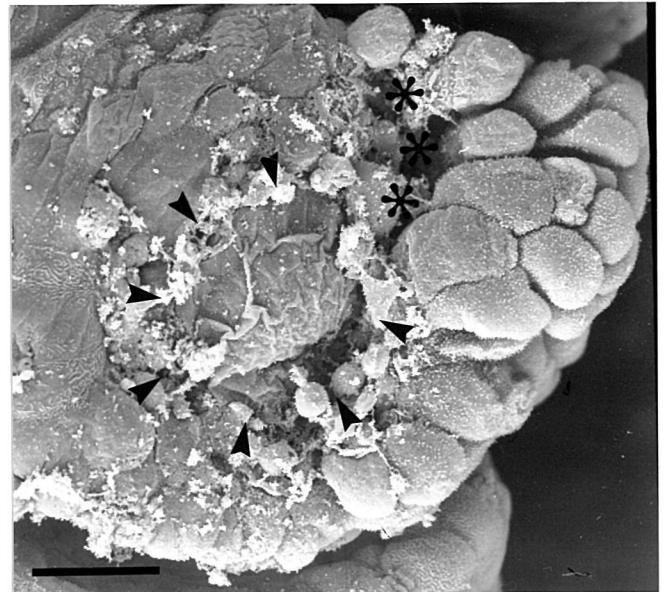


Abb. 83: 3h n. d. Infektion fast vollständig umwachsene Glochidie = >, Spalt zwischen den beiden Umwachsungsanteilen = Stern, Maßstab 20µm

3.2.1.3. Encystierungsprozeß nach sechs Stunden

Nach sechsstündiger Encystierungszeit zeigt die REM-Darstellung, daß die Margaritifera-Glochidie fast vollständig von Kiemengewebe umwachsen wurde. Lediglich ein schmaler Spalt zwischen der längeren und kürzeren Epithelwucherung ist zu erkennen (s. Abb. 84).

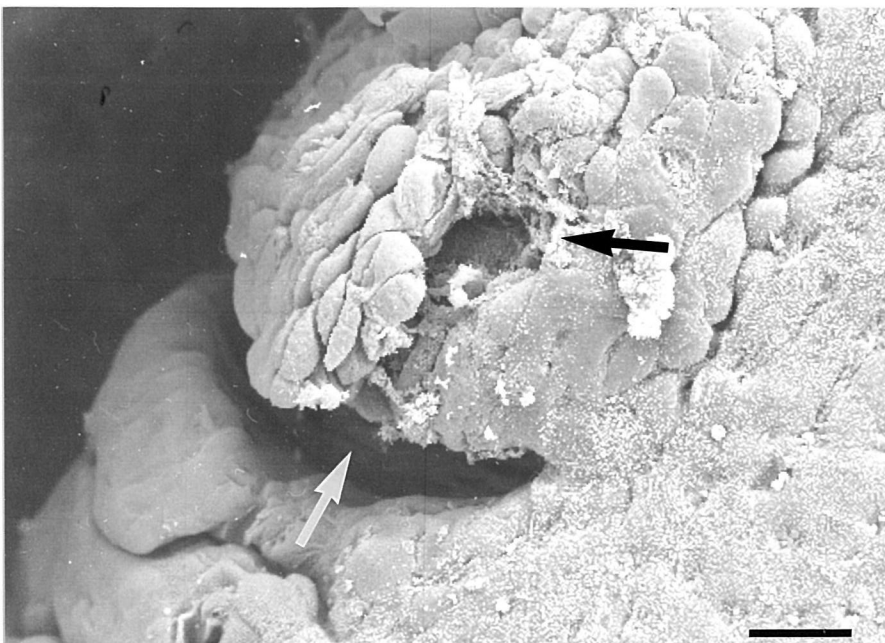


Abb. 84: 6h nach der Infektion, Spalt in der Cyste = Pfeil, Maßstab 20µm

3.2.1.4. Encystierungsprozeß nach vierundzwanzig Stunden

Vierundzwanzig Stunden nach der Infektion sind die Fischgewebshüllen um die Glochidien komplett. Die einzelnen Zellen setzen sich als rundliche Auftreibung voneinander ab. An manchen Cysten kann man spiralförmige Strukturen in der Anordnung der Epithelien erkennen. Einkrümmungen der Kiemenblättchen zum Parasiten kommen regelmäßig vor (s. Abb. 85).

Die Oberflächenstruktur der Kieme von *Salmo trutta* zeigt bei 2000facher Vergrößerung dichte Auffaltungen (s. Abb. 82, 86). Diese Ausweitung der Zellfläche ist nicht vorhanden oder unvollständig bei frisch entstandenen Epithelien (s. Abb. 82, 83). Nach 24 Stunden zeigt sie sich jedoch auf den noch nach außen vorgewölbten Zellen (s. Ausschnitt Abb. 85).

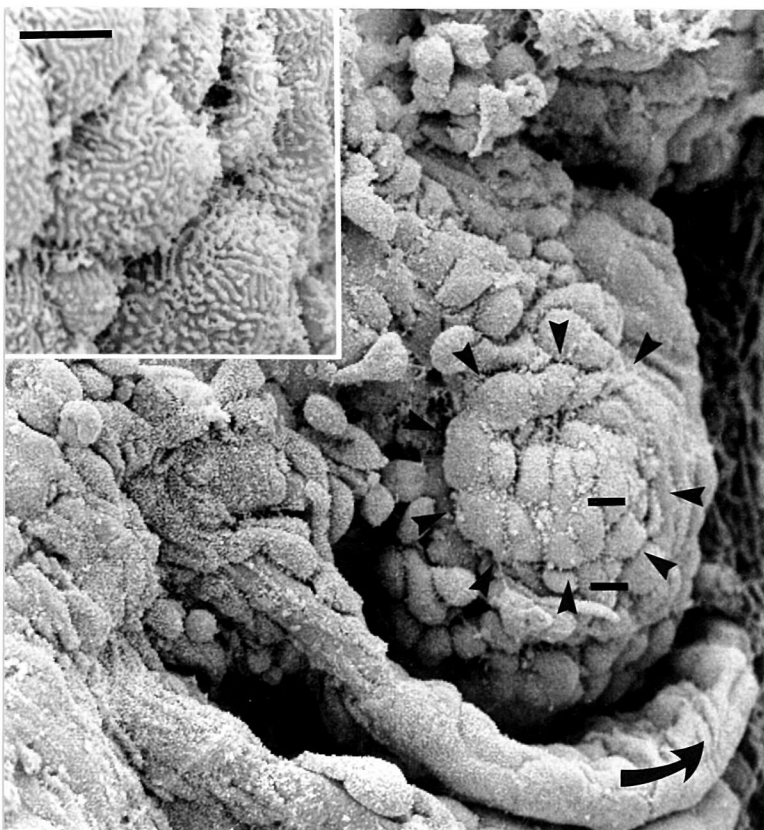


Abb. 85: Cyste mit Glochidie von *Margaritifera* 24h n. d. Infektion, spiralförmige Anordnung der Epithelien = >, Einkrümmtes Kiemenblättchen = Pfeil, Balken = Ausschnitt, Maßstab 5µm

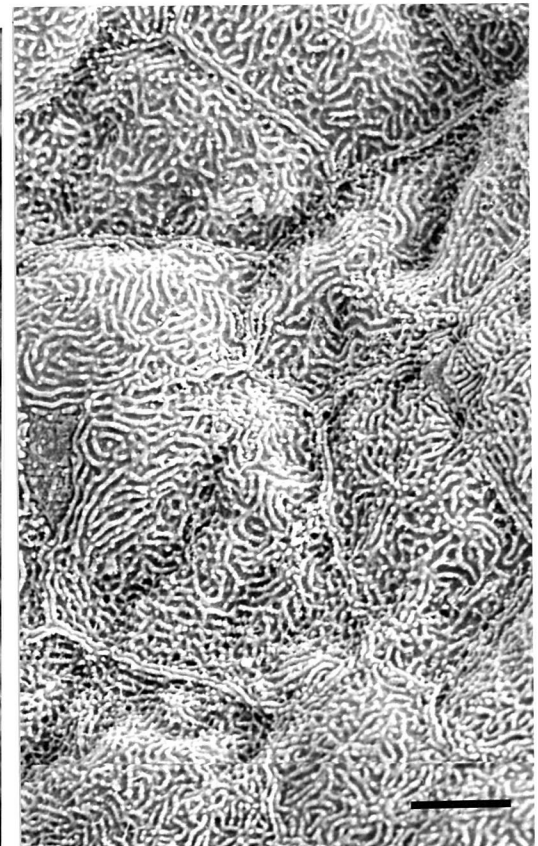


Abb. 86: Oberflächenstruktur eines Kiemenblättchens von *Salmo trutta*, Maßstab 5µm

3.2.1.5. Encystierungsprozess nach achtundvierzig Stunden

Nach diesem Zeitraum zeigt das Epithel, das die Glochidie vollständig einschließt, keine Vorwölbungen der Einzelzellen mehr. Die Kiemenblättchen krümmen sich weiter um die Cyste (s. Abb. 86). Noch sind die Oberflächenfalten unvollständig gebildet (s. Abb. 87).

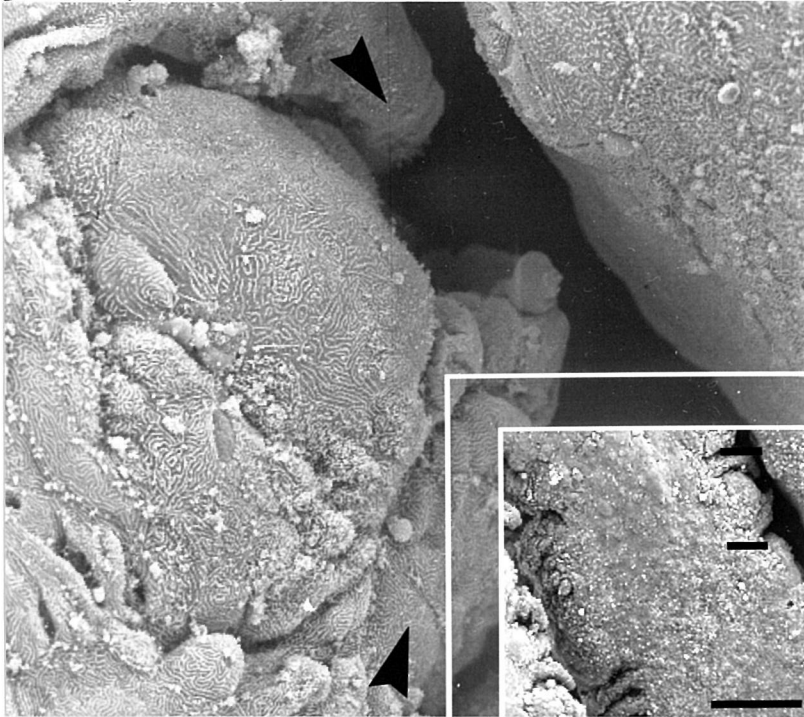


Abb. 87: Cyste nach 48h, gekrümmte Kiemenblättchen = >, Balken in der Übersicht = vergrößerte Abbildung, Maßstab 100µm

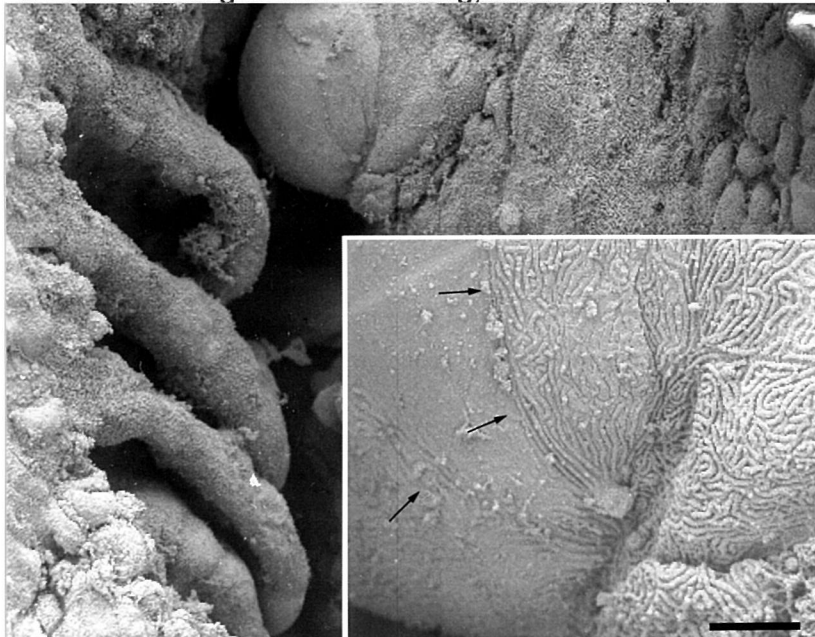


Abb. 88: Cyste nach 48h, Auffaltungen der Kiemenoberfläche im Ausschnitt = Pfeil, Maßstab 5µm

3.2.1.6. Überwinterungscysten

Abschließend kann zur Encystierung folgendes gesagt werden. Zwei Formen von Cysten kommen vor, die vom Anhaftungsort der Glochidien abhängig sind. Schon weil die Gesamtoberfläche aller Kiemenblättchen größer ist als die der restlichen Kiemenoberfläche, tritt die unter a beschriebene Cystenform am häufigsten auf.

a) Haftet sich die Perlmuschellarve an einem Kiemenblättchen an, so wird sie von seinem Epithel binnen 24 Stunden vollständig umwachsen. Die benachbarten Blättchen krümmen sich. Im Verlauf von acht Wochen wickeln jeweils mindestens zwei von ihnen die Glochidie regelrecht ein (s. Abb. 89/90). In einem günstigen Winkel geschnittene histologische Präparate zeigen, daß die Larven durch diesen Einhüllprozeß ebenfalls von je zwei Blutkapillaren umgeben werden (s. Abb. 89). Konnte die äußere, oberflächenvergrößerte Epithelschicht der Fischkieme entfernt werden, so zeigten sich darunter dachziegelförmig angeordnete Plattenepithelien (vergl. Abb. 86 / 91).

b) Trifft die Margaritifera-Glochidie kein Kiemenblättchen, und haftet sie sich an einer anderen Stelle der Demibranchien z.B. über dem Kiemenstrahl an, so zeigen sich in der Aufsicht mehr oder weniger daumenförmige Cysten (s. Abb. 90).

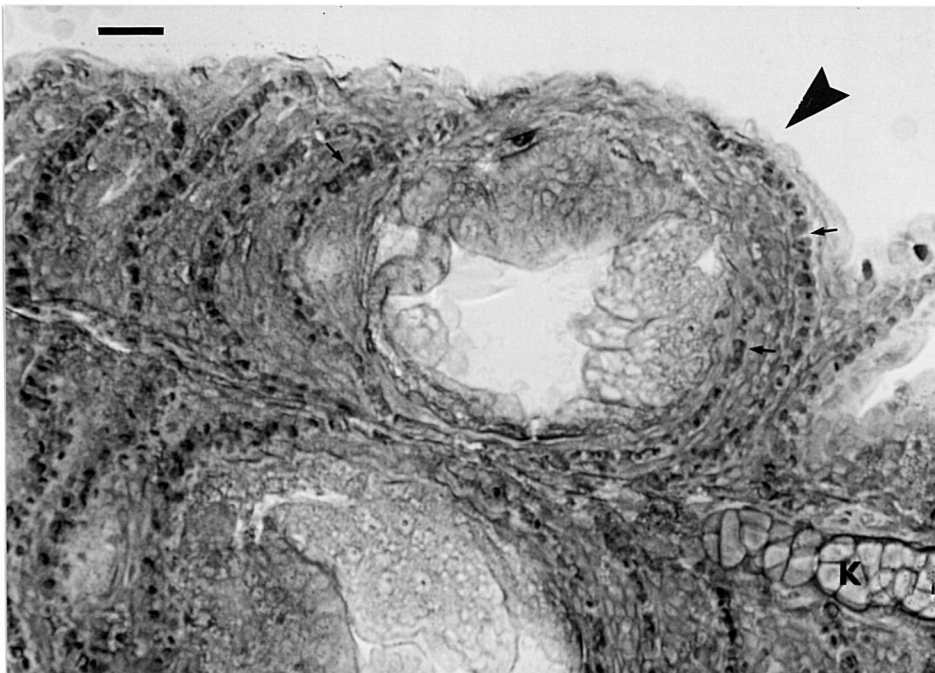


Abb. 89: Frontalschnitt, Perlmuschellarve = > 4 Wo. nach der Encystierung, K = Knorpel der Fischkieme, Blutgefäße der Kiemenblättchen = Pfeil, Versilberung nach Gömmöri, Maßstab 35µm

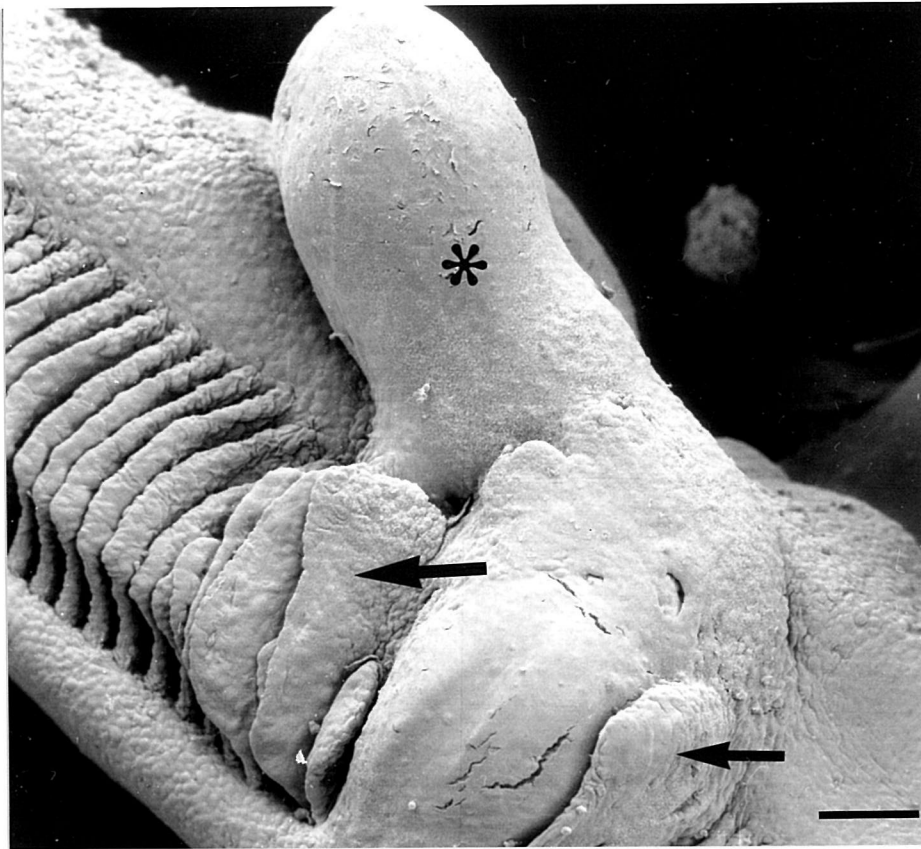


Abb.90: Cystenform der mit Kiemenblättchen "eingewickelten" Glochidien von *Margaritifera* = Pfeil, glatte Cystenform = Stern, 3 Mo. auf d. Bachforelle, Maßstab 100µm

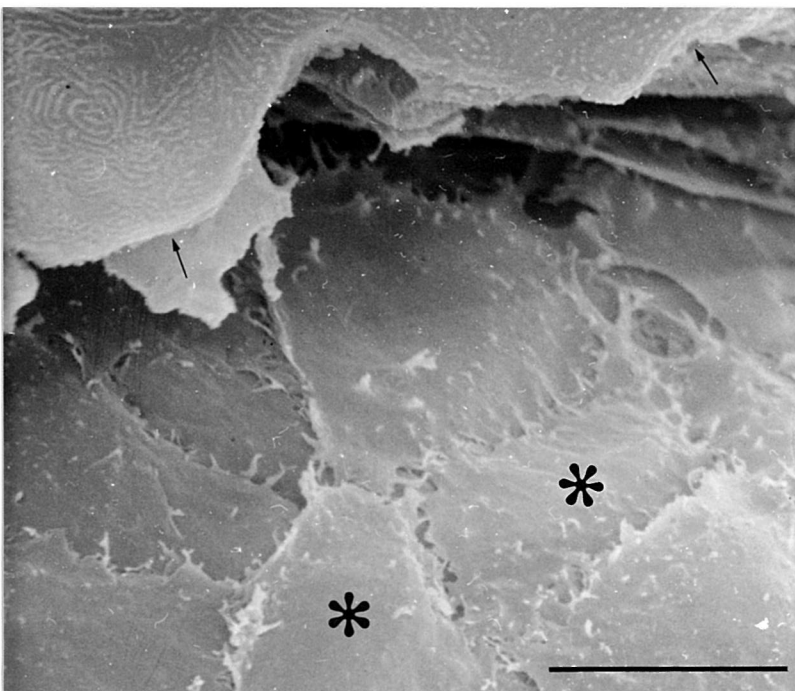


Abb. 91: dachziegelförmige Struktur des Kiemenepithels von *Salmo trutta* = Stern, darüber die oberflächenvergrößerte Schicht = Pfeil, Maßstab 10µm

3.2.2. Encystierung von Perlmuschellarven auf der Regenbogenforelle als Wirtsfisch

Die Regenbogenforelle *Oncorhynchus mykiss* (früher *Salmo gairdneri*) stammt aus dem asiatischen Raum. Infektionsversuche mit der einheimischen Flußperlmuschel mißlangen stets. Diese Abstoßreaktion wurde im REM festgehalten.

3.2.2.1. Encystierungsprozeß nach einer Stunde

Zunächst haften sich die Glochidien von *Margaritifera* durchaus am Kiemengewebe von *Oncorhynchus mykiss* an. Bei zu starkem Glochidienbesatz wirkt die Infektion auch auf diese Fischart letal, was an einem Exemplar beobachtet wurde.

Nach einstündiger Encystierungszeit kann man in der REM-Darstellung sehen, daß parallel an derselben Kieme sowohl angehaftete Glochidien vorhanden sind als auch "leere Bißstellen". Selbst Einkrümmungen der Kiemenblättchen sind an diesen Punkten zu beobachten (s. Abb. 92).

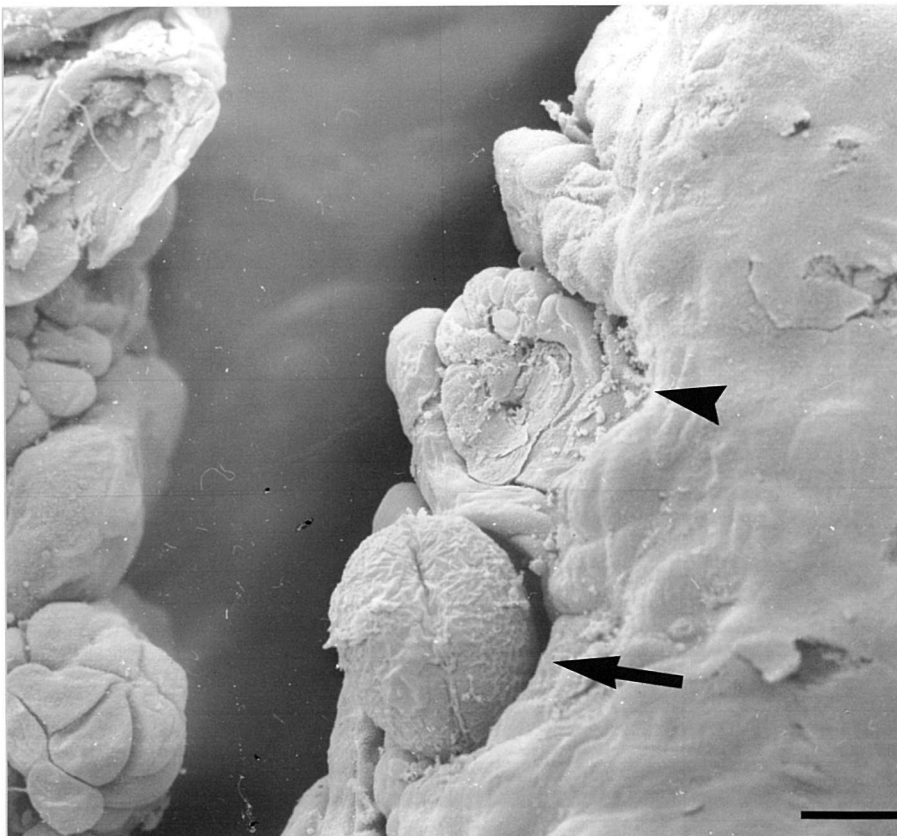


Abb. 92: Glochidie von *Margaritifera* angeheftet an die Kieme d. Regenbogenforelle = Pfeil, Anhaftungsart ohne Glochidie = >, Maßstab 20µm

3.2.2.2. Encystierungsprozeß nach drei Stunden

Ähnlich wie bei der Bachforelle erkennt man nach dreistündiger Encystierung zwischen "leeren Bißwunden" auch bei der Regenbogenforelle noch nicht vollständig vom Kiemenepithel eingeschlossene Glochidien. Die Fischzellen wirken bei diese Art jedoch runder und lockerer aneinandergereiht als die von *Salmo trutta* (s. Abb. 93)

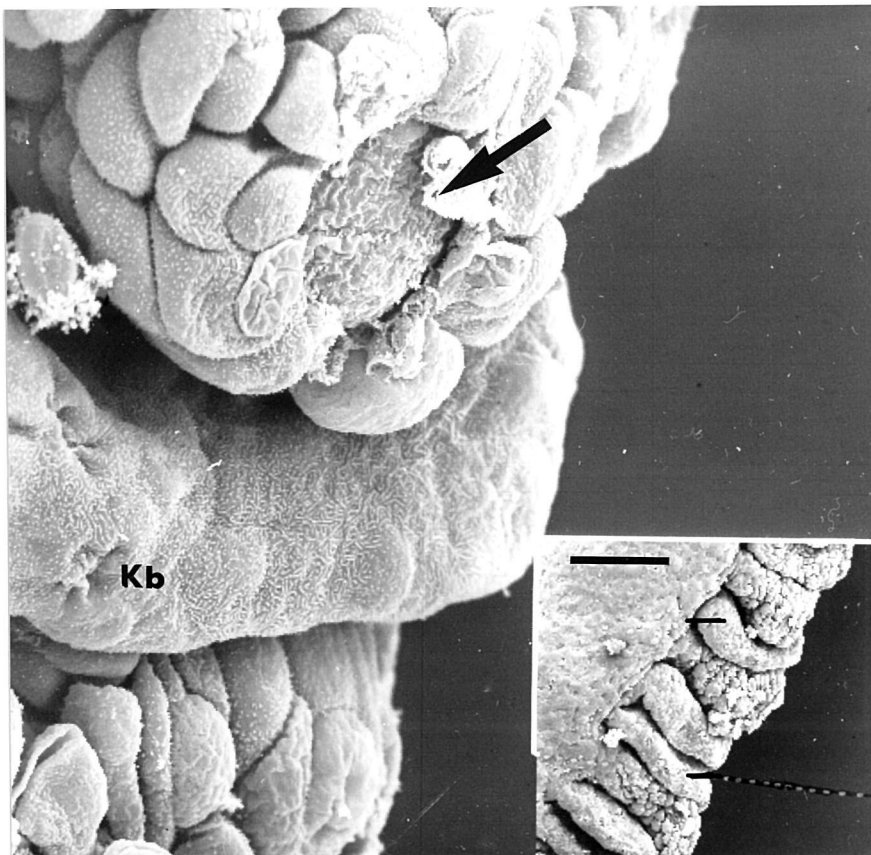


Abb. 93: *M. margaritifera* nach dreistündiger Encystierung auf der Regenbogenforelle = Pfeil, Kiemenblättchen = Kb, Balken in der Übersicht = Ausschnitt der Vergrößerung, Maßstab 100µm

3.2.2.3. Encystierungsprozeß nach sechs Stunden

Sind sechs Stunden nach der Infektion vergangen, zeigen sich von blasigen traubenförmig angeordneten Epithelzellen gebildete Cysten (s. Abb. 94). Zusätzlich kann man Vertiefungen im Kiemenepithel der Regenbogenforelle finden, an denen wahrscheinlich ein Encystierungsprozeß begonnen hatte, der Parasit jedoch abgeworfen wurde (s. Abb. 95). Möglicherweise wird die gesamte traubenförmige Cyste (s. Abb. 94) abgestoßen.

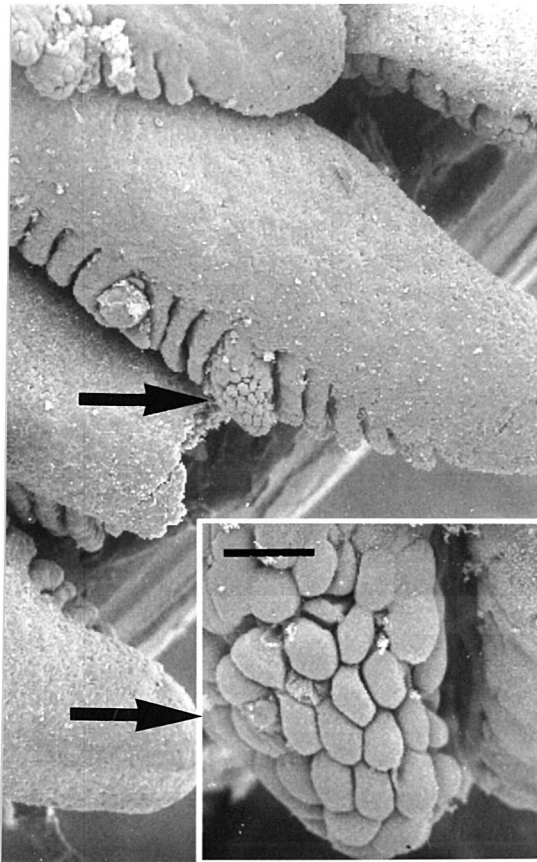


Abb. 94: *M. margaritifera* auf d. Regenbogenforelle = Pfeil, sechs Stunden nach der Infektion, Maßstab 20µm

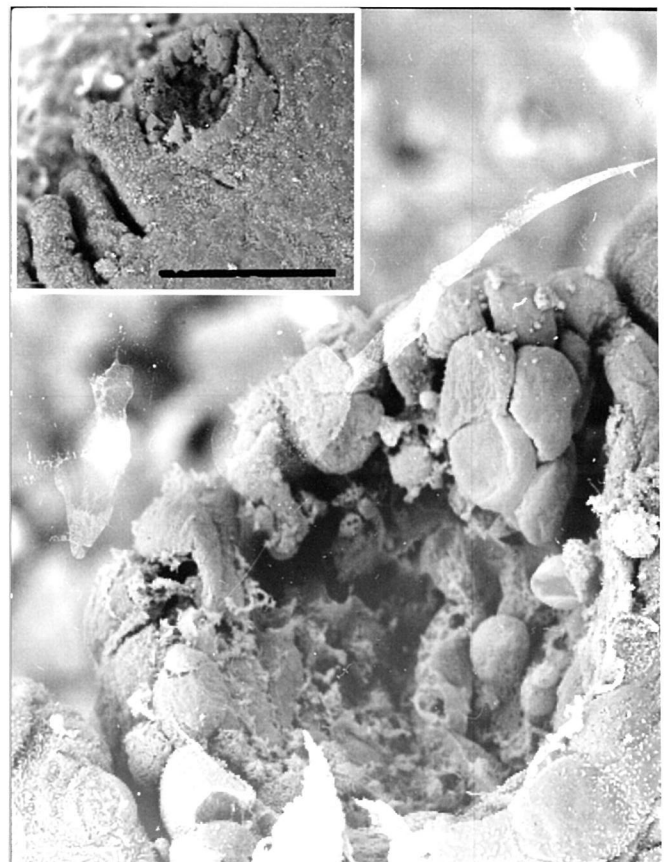


Abb. 95: Stelle einer abgestoßenen Cyste am Kiemenepithel der Regenbogenforelle sechs Stunden nach der Infektion, Maßstab 100µm

3.2.2.4. Encystierungsprozeß nach vierundzwanzig Stunden

Sind vierundzwanzig Stunden nach der Infektion vergangen, findet man auf der Regenbogenforelle nur noch wenige Cysten, die eine Margaritifera-Larve einschließen. Die Mehrzahl scheint abgestoßen worden zu sein und hinterläßt in der REM-Abbildung eine zunächst glatt wirkende Vertiefung (s. Abb. 96). Vergrößert man diesen Cystenrest 5.000fach, so erkennt man in seinem Inneren relativ große runde Zellen, bei denen es sich vermutlich um eingewanderte Leukozyten handelt (s. Abb. 97).

Neben diesen leeren Aushöhlungen kommen eingekrümmte Kiemenblättchen vor, vermutlich ebenfalls Cystenreste, deren Inhalt und Oberflächenanteil abgestoßen wurde. Auch in ihnen sind runde Zellen zu erkennen (s. Abb. 98).

Auf das Töten einer Regenbogenforelle nach 48 Stunden wurde verzichtet, weil am betäubten Fisch mit dem Stereomikroskop keine Glochidien mehr zu erkennen waren.

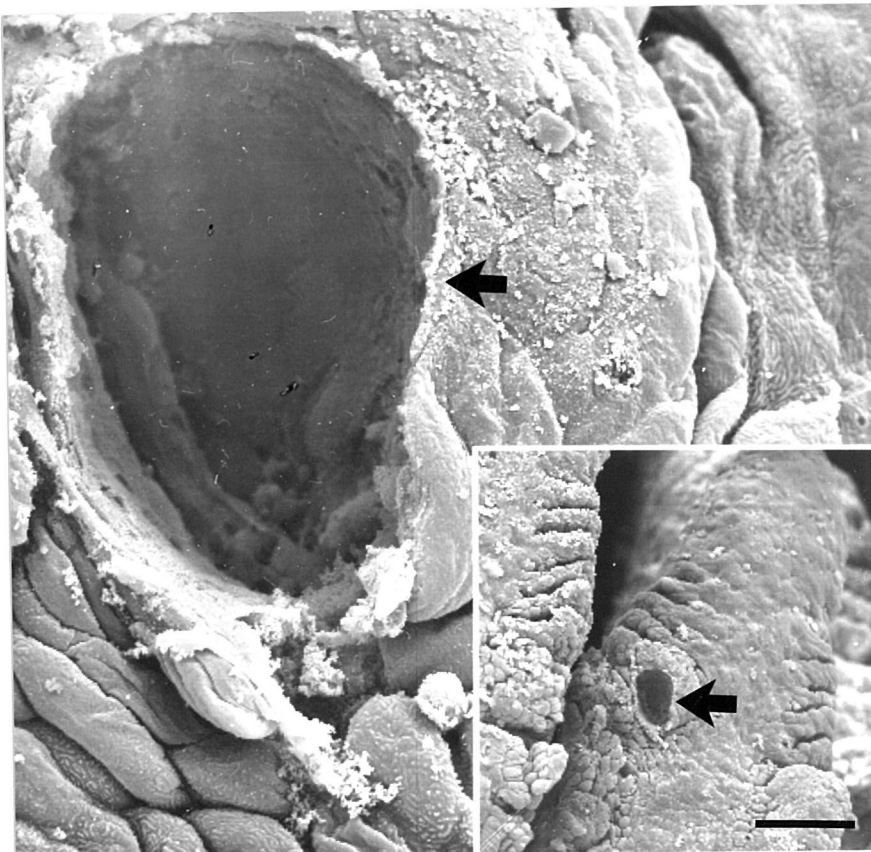


Abb. 96: Vertiefung im Kiemenepithel an der Regenbogenforelle durch abgestoßene Glochidiencyste von *Margaritifera* = Pfeil, Maßstab 100µm

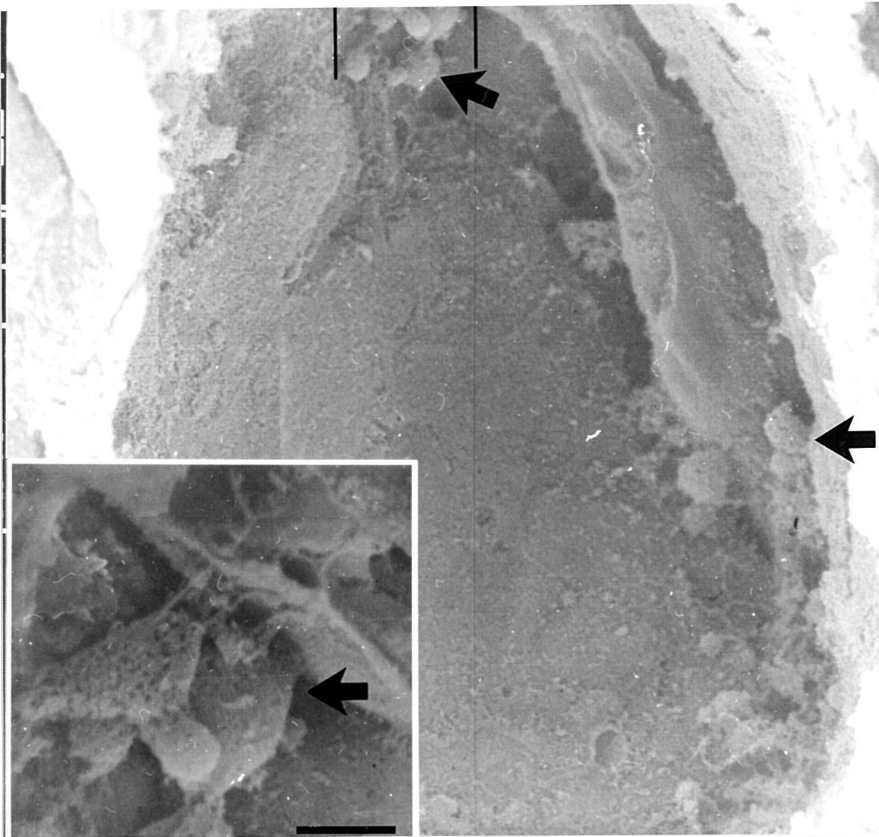


Abb. 97: Cystenrest aus Abb. 96, runde Zellen = Pfeil, Balken = Ausschnitt, Maßstab 2 μ m

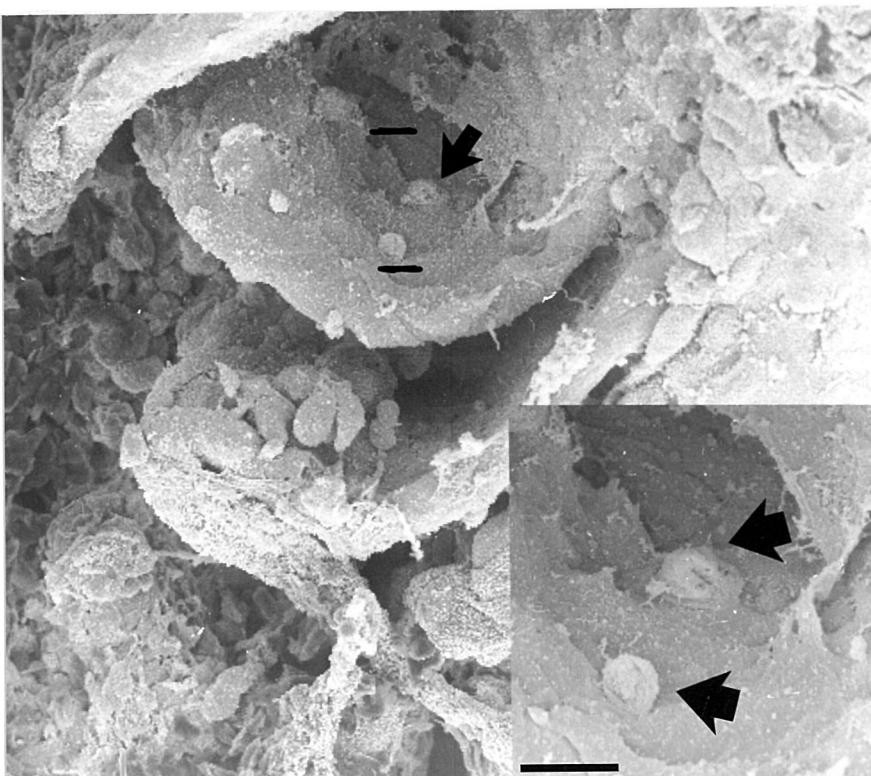


Abb. 98: eingekrümmte Kiemenblättchen 24h nach der Infektion, runde Zellen = Pfeil, Balken = Ausschnitt, Maßstab 10 μ m

3.3. Larvalentwicklung der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*) auf der Bachforelle (*Salmo trutta*) als Wirtsfisch

In dieser Arbeit wird durch detaillierte histologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen die Umwandlung des Glochidiums in eine Jungmuschel verfolgt. Für die ersten vier Wochen nach der Encystierung stand kein Material zur Verfügung, deshalb müßten Veränderungen, die in diesem Zeitabschnitt stattfinden, wie z.B. das Auflösen des larvalen Adduktors oder das Verschwinden der Cilienbüschel in einer anderen Arbeit mit der Technik der Transmissionselektronenmikroskopie dargestellt werden.

HERBERS schreibt 1914, daß man die Entwicklungsgeschichte eines Lebewesens auf zwei Arten beschreiben könne, "die erste Methode betrachtet ihn auf jeder Entwicklungsstufe in seiner Gesamtheit, die zweite zergliedert den Organismus in die einzelnen Organe und verfolgt nacheinander ihre Entwicklung". Ich möchte mit der zweiten anfangen und im Anschluß daran zusammenfassend fünf Differenzierungsstadien beschreiben, die sich nur ungenau einer bestimmten Entwicklungszeit zuordnen lassen. Die einzelnen Stadien werden ab 3.3.9. zusammengefaßt.

Die Histologie von der vierten bis zur achten Woche nach der Encystierung wurde ausschließlich mit der Semidünnschnitttechnik erstellt, im späteren Zeitverlauf kamen Metallmesserschnitte und beide elektronenmikroskopischen Techniken dazu.

3.3.1. Frisch encystierte Perlmuschellarven

Haftet die Glochidie sich am Kiemengewebe des Wirtsfischs an, so schnappen ihre Schalen um eine oder mehrere Zellen zu. Bisweilen scheint sogar eine Kiemenkapillare getroffen zu werden (s. Abb. 99). Das glochidiale Gewebe wirkt histologisch äußerst kompakt, Zellgrenzen, Zellkerne oder Plasma sind lichtmikroskopisch höchstens zu erahnen. Der larvale Adduktor schließt die Glochidie (s. Abb. 100).

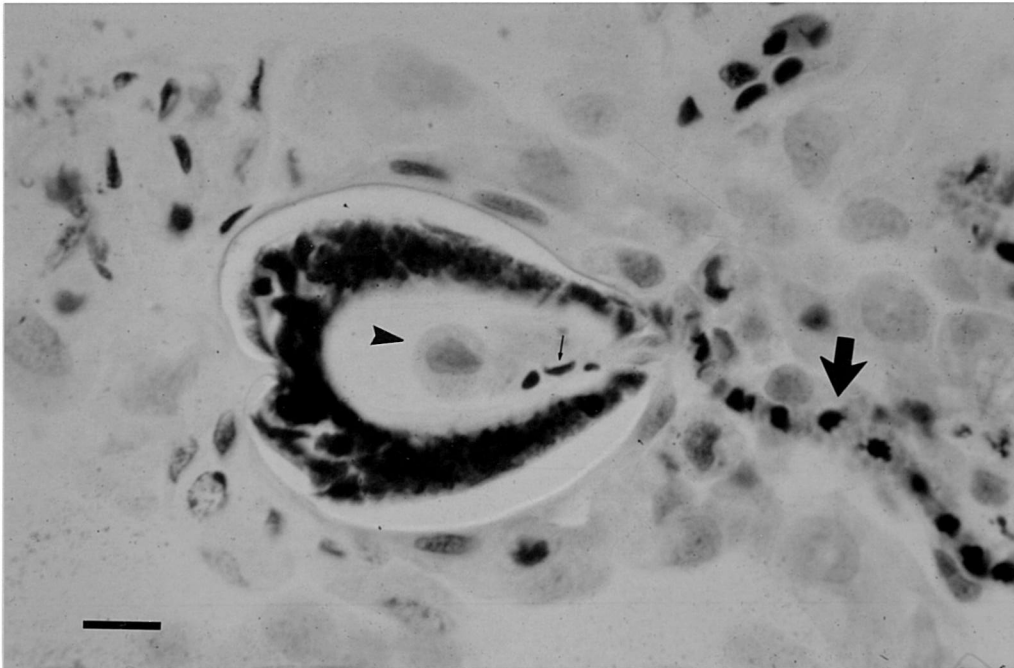


Abb. 99: frisch encystierte *M. margaritifera*, eingeschlossenes Fischgewebe = >, Fischerythrozyten = kleiner Pfeil, Kiemenkapillare = großer Pfeil, Maßstab 5µm

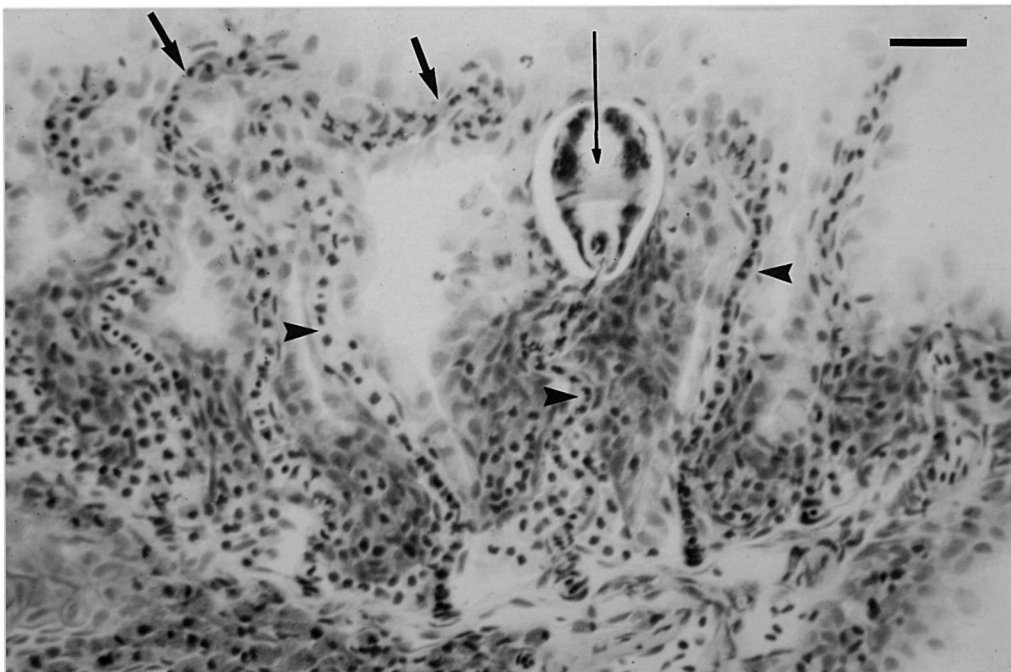


Abb. 100: frisch encystierte *Margaritifera*, larvaler Adduktor = Pfeil, Kiemenkapillaren = >, eingekrümmte Kiemenblättchen = kurzer Pfeil, Maßstab 15µm

3.3.2. Entwicklung des Mantels

Bei allen Najaden findet man kurz nach der Encystierung außerordentlich große Zellen, die den larvalen Mantel bilden. Sie kommen weder in Glochidien noch in anderen Organen der sich differenzierenden Muschel vor. Die körnigen Ansammlungen im Zytoplasma sprechen dafür, daß sie Nährstoffe direkt aufnehmen können (SCHIERHOLZ 1888, FAUSSEK 1895/1901, HERBERS 1914, AREY 1932, KORSCHOLT und HEIDER 1936). Nach der Entwicklung des Darmtrakts bilden sie den pilzförmigen Körper und verschwinden letztendlich (AREY 1932, HARMS 1907, HERBERS 1914, KUHFUß 1992).

3.3.2.1. Larvaler Mantel und Entstehen des definitiven Mantels

Nach vier- und sechswöchiger Encystierung zeigt der larvale Mantel außerordentlich große schwammig oder aufgebläht wirkende Zellen (s. Abb. 101). Sie schieben sich mit einer Länge von 20-25 µm ventral von jeder Schale in das Innere der Glochidie. Falls Zellkerne angeschnitten wurden, sieht man sie in Schalennähe liegen. Zellgrenzen erkennt man kaum. Die Oberflächen stellen histologisch halbkreisförmige Ausbuchtungen dar. Schon nach 4, aber spätestens nach 6 Wochen schieben sich vom Schalenrand ausgehend definitive Mantelzellen in dorsale Richtung (s. Abb. 101).

PAS-gefärbte Schnitte zeigen im Plasma beider Mantelzellformen und vor allem an den jeweiligen Zelloberflächen reichlich saure Mucopolysaccharide (s. Abb. 101).

Nach dreimonatiger Encystierung gelang es die Larven für die REM zu öffnen. Bei der Mehrzahl der untersuchten Glochidien zeigen die Mantelzellen halbkugelige Vorwölbungen die den größten Teil der Schalen ausfüllen (s. Abb. 102). Bei 4000facher Vergrößerung erkennt man, daß ihre Oberfläche dicht mit Mikrovilli besetzt ist (s. Abb. 103). Wurden Zellen mit dem Glasmesser längs angeschnitten, so stellt sich auch gerastert ihre blasige Struktur dar (s. Abb. 104).

Als definitiven Mantel erkennt man am Schalenrand einen Saum von flachen, ebenfalls mit Mikrovilli besetzten Zellen im Gewebsverband. Zellgrenzen und Furchen sind erkennbar (s. Abb. 102, 103, 104).

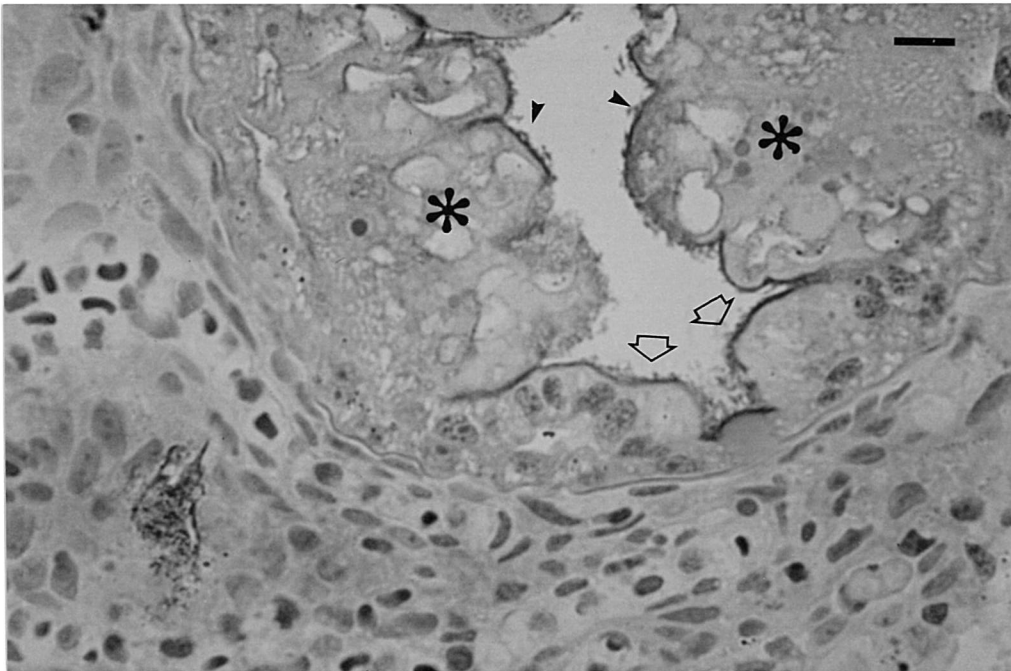


Abb. 101: Larvaler Mantel der 4 Wochen lang encystierten *Margaritifera* = Stern, definitiver Mantel = Pfeil, PAS positive Mukopolysaccharide an der Zelloberfläche = >, PAS-Färbung, Maßstab 5µm

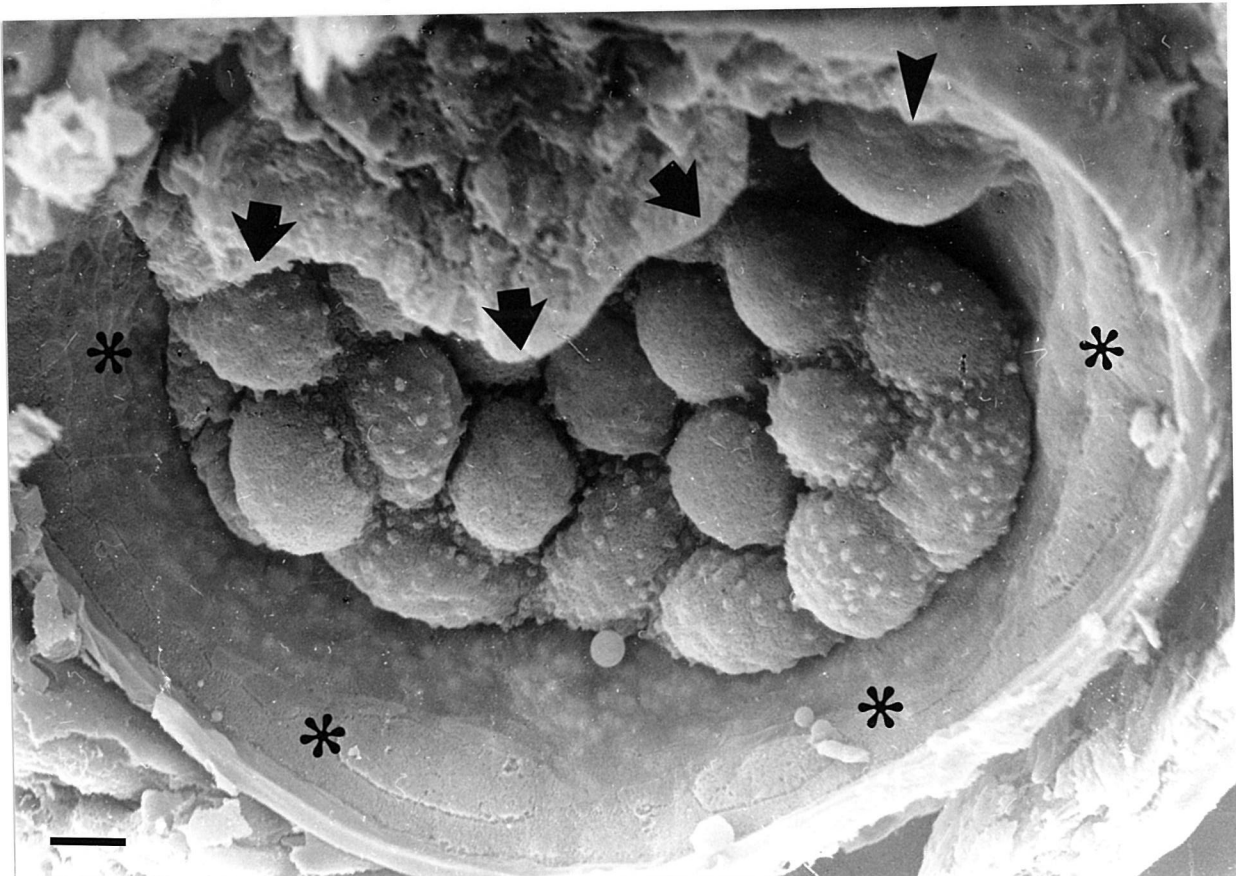


Abb. 102: linke Schalenhälfte einer 3 Monate lang encystierten Glochidie von *M. margaritifera*, larvaler Mantel = Pfeil, erste Kiemenpapille = *, definitiver Mantel = Stern, Maßstab 20µm

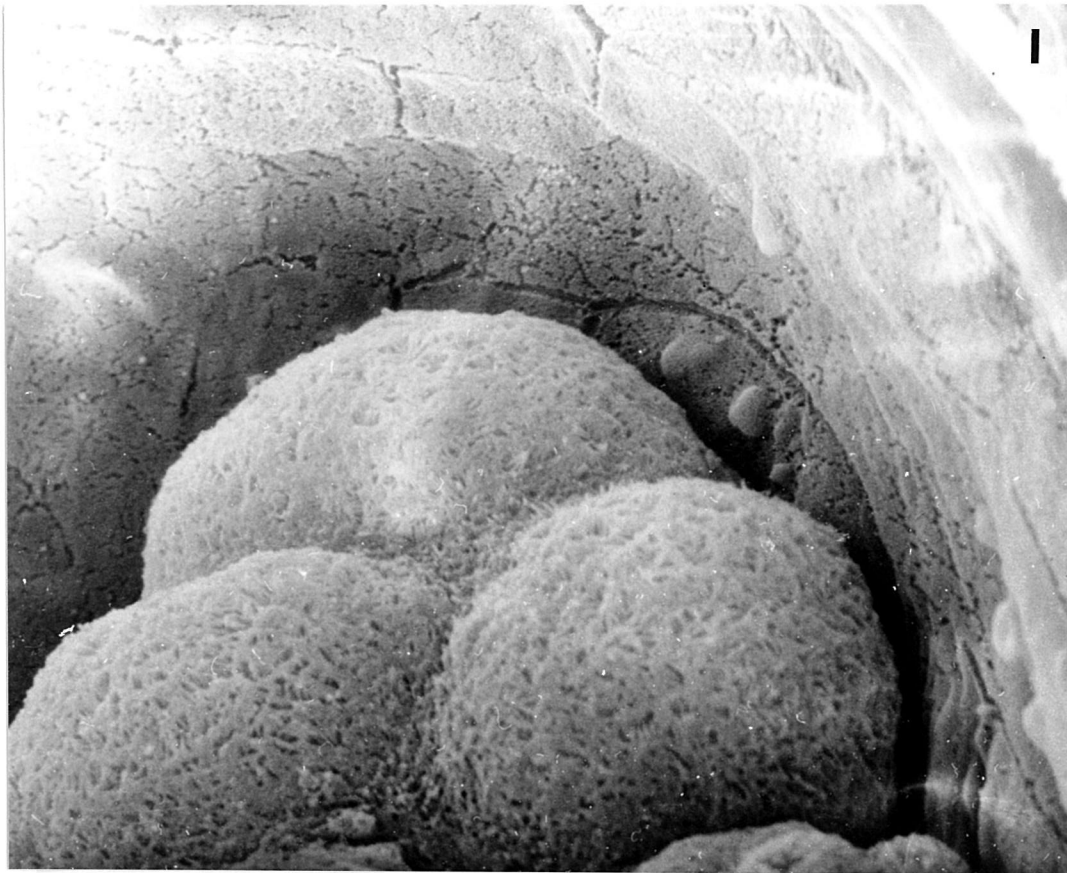


Abb. 103: Mikrovillibesatz beider Mantelzellformen von *M. margaritifera*, 6 Monate encystiert, Ausschnitt aus Abb. 104 Maßstab 1µm

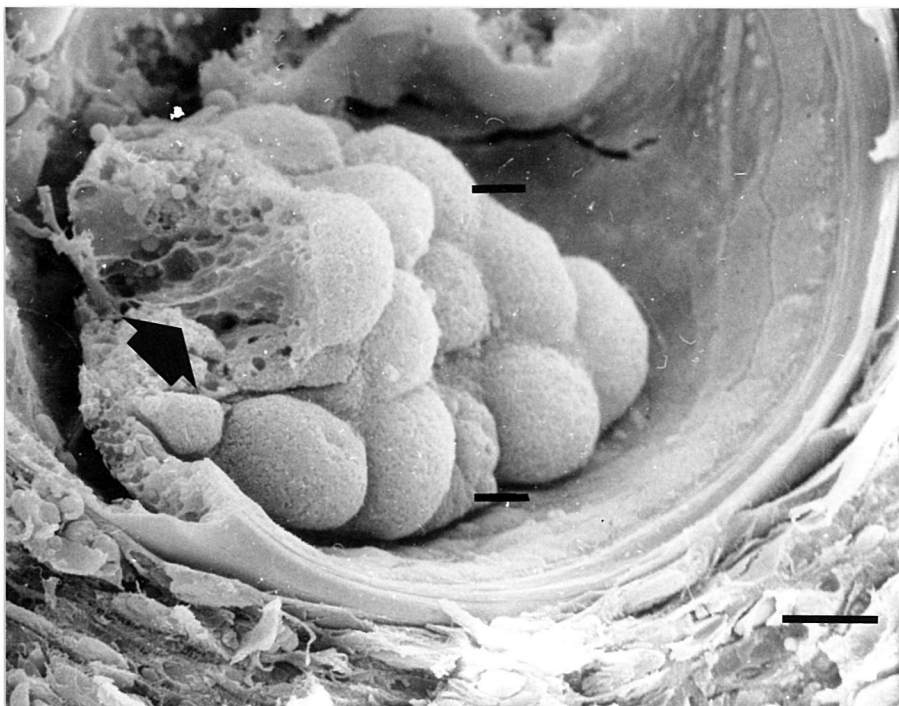


Abb. 104: beide Mantelzellformen einer 6 Monate lang encystierten Perlmuschellarve, längs angeschnittene larvale Zelle = Pfeil, Balken = Ausschnitt von Abb. 103, Maßstab 10µm

3.3.2.2. Beginnende Auflösung des larvalen Mantels und Entstehen der Cilienbänder am definitiven Mantel

Weil der Streifen von definitiven Mantelzellen am Schalenrand immer mehr Raum einnimmt, werden die larvalen Zellen nach dorsal abgedrängt. Gleichzeitig streckt sich das Entodermsäckchen zum Vorderende der Larve, und der Fußwulst lagert sich auf. Durch dieses Verschieben des larvalen Mantels in die Mitte der beiden Schalen entsteht seine im histologischen Schnitt von Anodonten als pilzförmiger Körper (HERBERS 1914, HARMS 1907 B, AREY 1932) bezeichnete Struktur. Gerastert zeigt diese Zellformation bei *Margaritifera* einen weit ins Innere der Larve hineinragenden Wulst, dessen Oberfläche noch immer aus halbkugeligen Ausstülpungen besteht (s. Abb. 105). Diese Gewebsformation läßt sich im Dezember, aber auch noch im Februar an den Perlmuschellarven beobachten.

Im gleichen Zeitraum fängt bei manchen Glochidien das larvale Mantelgewebe an flacher zu werden. Spätestens im Februar zeigten alle untersuchten Tiere dieses Phänomen. Partikel beginnen sich von den Zellen abzuschneiden, insbesondere an den Stellen, wo benachbarte aneinandergrenzen und wo sich das definitive Mantelgewebe unter das larvale schiebt (s. Abb. 106, 108).

Nach sechs bis sieben Monaten Encystierungsdauer, also beginnend im Februar, entstehen auf dem definitiven Mantel zwei Cilienbänder. Das eine befindet sich direkt am Schalenrand, das andere verläuft parallel zum Rand der larvalen Mantelzellen, dort wo im REM häufig Partikelabschnürungen zu sehen sind (s. Abb. 107 und 108). Relativ häufig kann man beobachten, wie auf beiden Flimmersäumen große runde Partikel von den Cilien umschlungen werden. Möglicherweise handelt es sich hier um Zelltransport, eventuell von Zellen, die larvales Mantelzellmaterial phagozytiert haben (s. Abb. 108, 109). Unter den Kiemenpapillen gehen beide Cilienbänder ineinander über (s. Abb. 153).

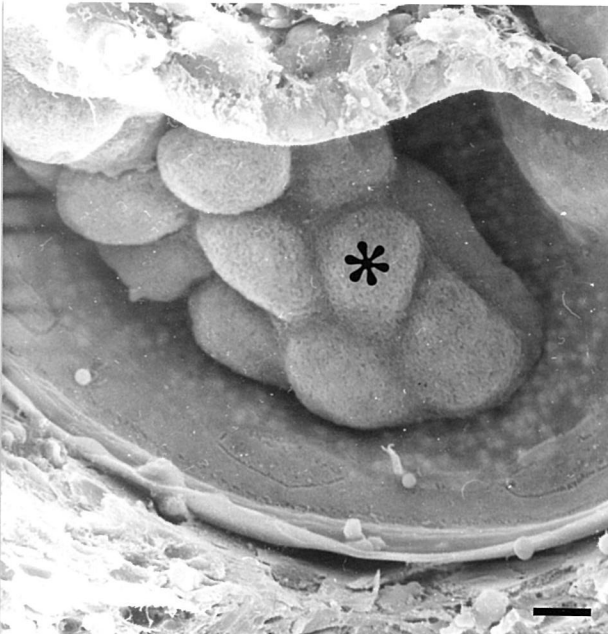


Abb. 105: larvaler Mantelzellwulst von *M. margaritifera*, auch pilzförmiger Körper genannt = Stern, 5 Monate auf dem Wirtsfisch, Maßstab 10µm

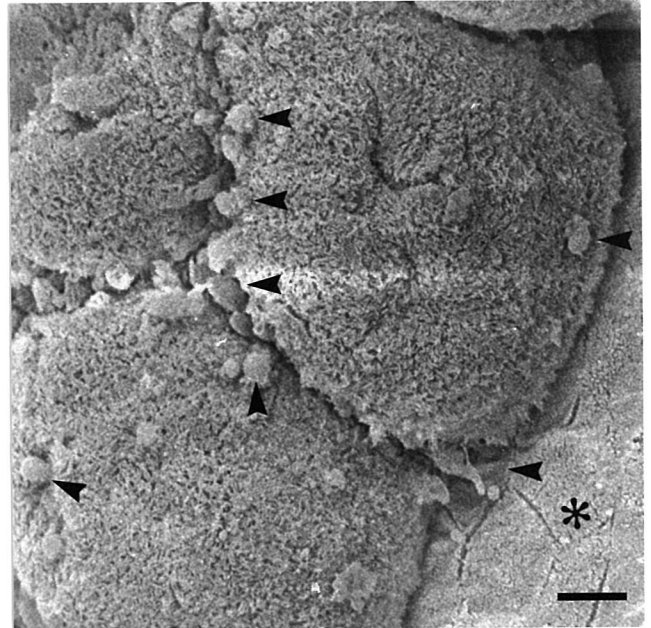


Abb. 106: abgeflachte larvale Mantelzellen von *M. margaritifera*, 5 Mo. n. Encyst., Partikelabschnürung = >, definitiver Mantel = Stern, Maßstab 5µm

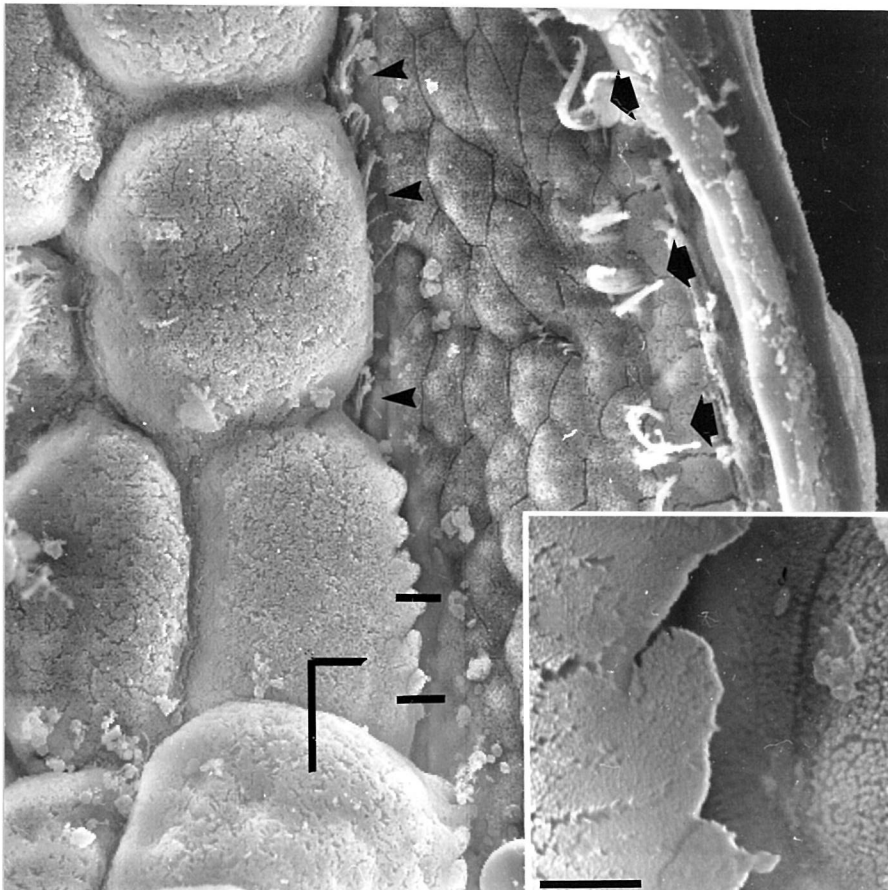


Abb. 107: *M. margaritifera* 6 Monate lang encystiert, Cilienband am Schalenrand = Pfeil, Cilien am Rand des larvalen Mantels = >, Balken = Ausschnitt im gleichen Photo, Winkel = Abb. 108, Maßstab 2µm

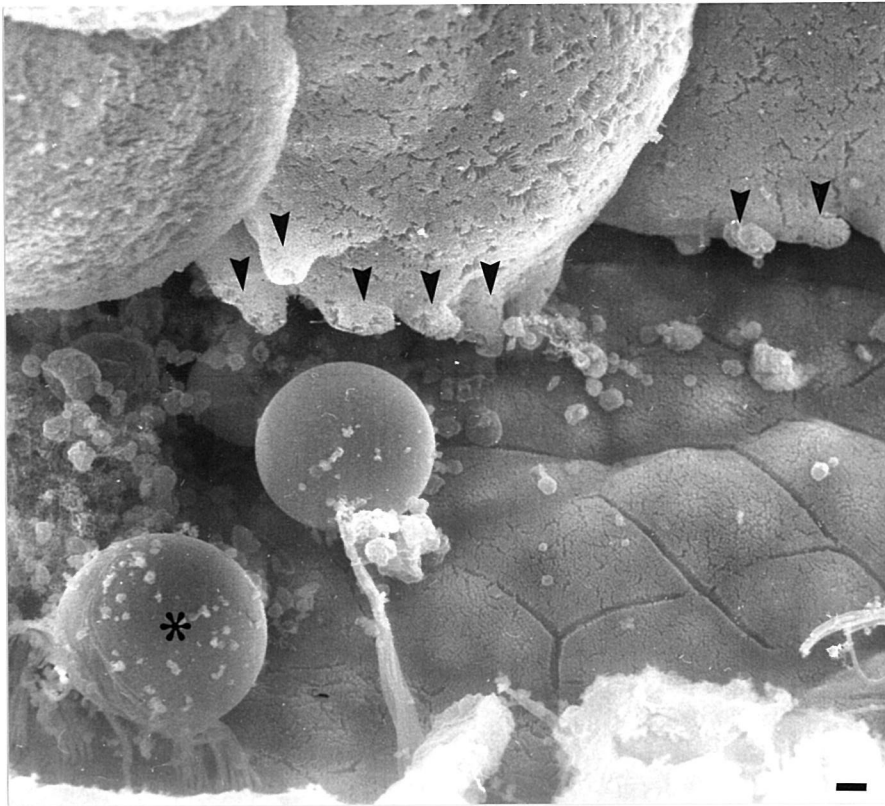


Abb. 108: *M. margaritifera* 6 Monate auf *Salmo trutta*, Partikelabschnürung der larvalen Mantelzellen = >, von Cilien umgebener Partikel = Stern, Ausschnitt aus Abb. 107, Maßstab 1µm

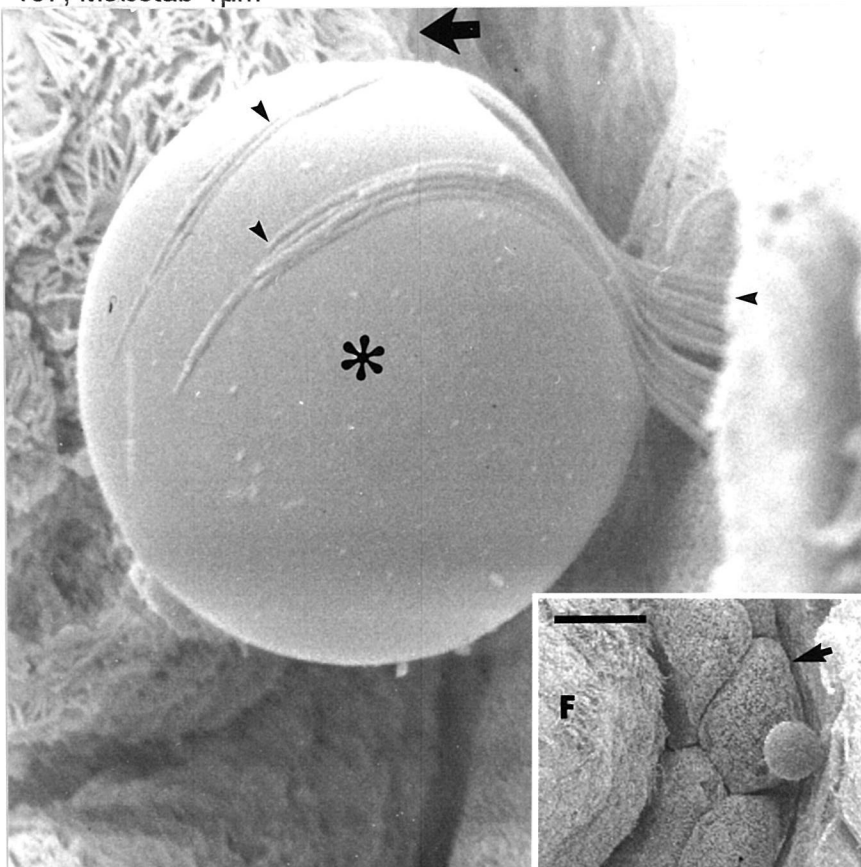


Abb. 109: Partikeltransport auf dem Cilienband am Rand des larvalen Mantels = Stern, Cilien = >, larvaler Mantel = Pfeil, Fuß = F, 7 Mo. n. Encyst., Maßstab 20µm

3.3.2.3. Definitiver Mantel

Ab April sind lediglich noch Reste der larvalen Mantelzellen vorhanden. Sie werden dorsal durch die definitiven Organe (s. Abb.110) und ventral durch den Jungmuschel-mantel verdrängt. Im histologischen Frontalschnitt scheinen die Kiemen direkt zwischen den larvalen Mantelzellen zu liegen (s. Abb. 111). Zum gleichen Zeitpunkt entsteht ein neues Cilienband. Es wird zwischen Schale und der bereits hier parallel verlaufenden Bewimperung angelegt (s. Abb.110).

An der ausgereiften Jungmuschel erscheint der Mantel als flacher, der Schale angeschmiegt Zellverband. Alle drei Cilienbänder bleiben in diesem Stadium erhalten, wenngleich auch die beiden randständigen fast ineinander übergehen. Zusätzlich ist am Hinterende der jungen Flußperlmuschel zwischen den Kiemen und dem Flimmer-saum, der ursprünglich am Rand des larvalen Mantels verlief, eine breite und dichte Bewimperung zu erkennen (s. Abb. 112). Am dorsalen Vorderende findet man im Jungmuschelstadium in einer Reihe parallel zum Schalenrand angeordnete Cilien-büschel ausgebildet, die als einzelne den Sinnesborsten der Glochidien anderer Unionacea ähneln (s. Abb. 113).

3.3.2.4. Zusammenfassung zur Entwicklung des Mantels

Im Differenzierungsstadium I: ab 4. Wo. larvaler Mantel vorhanden (Zeitpunkt der Fixierung), bestehend aus großen, blasig aufgetriebenen (20µm langen) Zellen

Im Differenzierungsstadium II: ab 6. Wo. definitiver Mantel als schmaler Streifen flacher Zellen ventral, larvaler Mantel nimmt den größten Raum der Mantel-höhle ein mit außerordentlich großen, halbkugelig aufgetriebenen Zellen

Im Differenzierungsstadium III: ab 4. Mo. larvaler Mantel als pilzförmiger Körper, wird vom flachen definitiven Mantel nach dorsal abgedrängt, beginnende Ausbildung von 2 Cilienbänder am Schalenrand und entlang des larvalen Mantels

Im Differenzierungsstadium IV: ab 6. Mo. Auflösung des larvalen Mantels, breiter Streifen definitiven Mantels, 2 gut ausgebildete Cilienbänder, ein drittes entsteht am Schalenrand

Jungmuschelstadium: ausschließlich definitiver Mantel mit drei Cilienbändern, starke Bewimperung am Hinterende, vorn ein Saum aus sinnesborstenartigen Gebilden



Abb.110: 8 Monate lang encystierte *M. margaritifera*, Reste des larvalen Mantels = Pfeil, zweites randständiges Cilienband = >, Kiemenpapillen = Stern, Maßstab 10µm

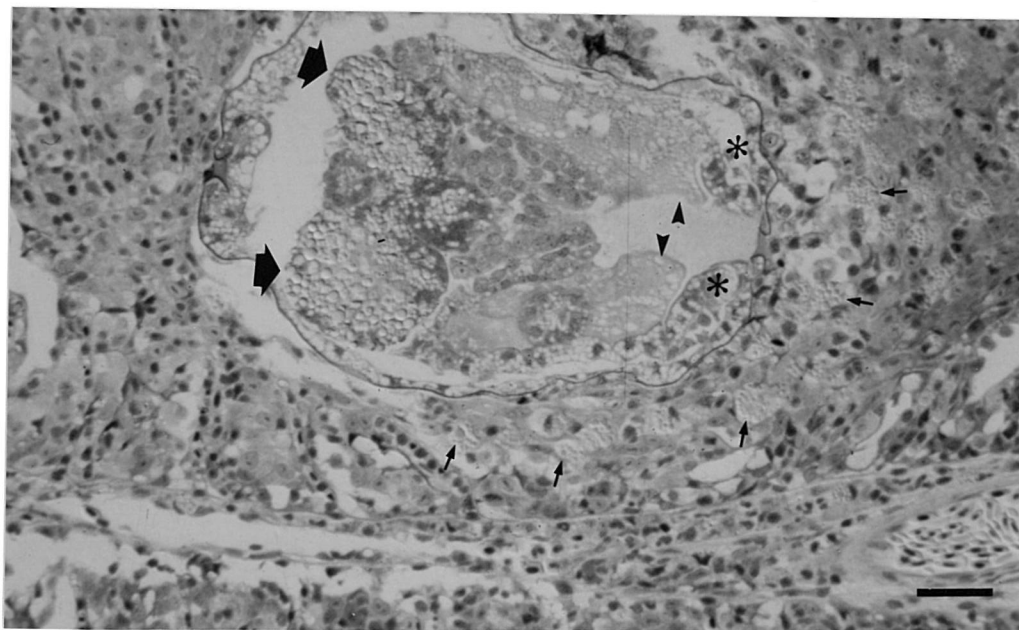


Abb. 111: Frontalschnitt durch das hintere Drittel von *M. margaritifera*, 7 Mo. encystiert, Mitteldarmdrüse = Pfeil, larvaler Mantel = >, definitiver Mantel = Stern, Phagozyten = kleine Pfeile, Maßstab 30µm

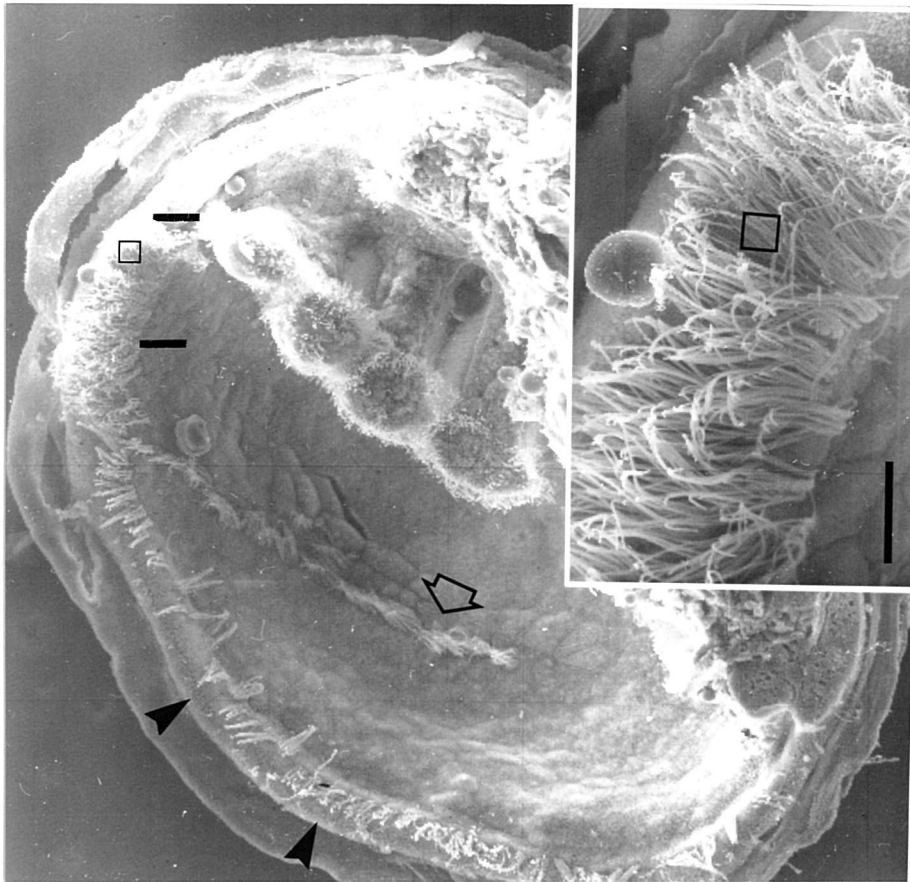


Abb. 112: frisch abgefallene *Margaritifera*-Jungmuschel, definitiver Mantel mit Bewimperung am Schalenrand = >; Cilienband, das am Rand des larvalen Mantels verlief = Pfeil, dichte Bewimperung am Hinterende = Quadrat, Striche = Ausschnitt, Maßstab 10µm

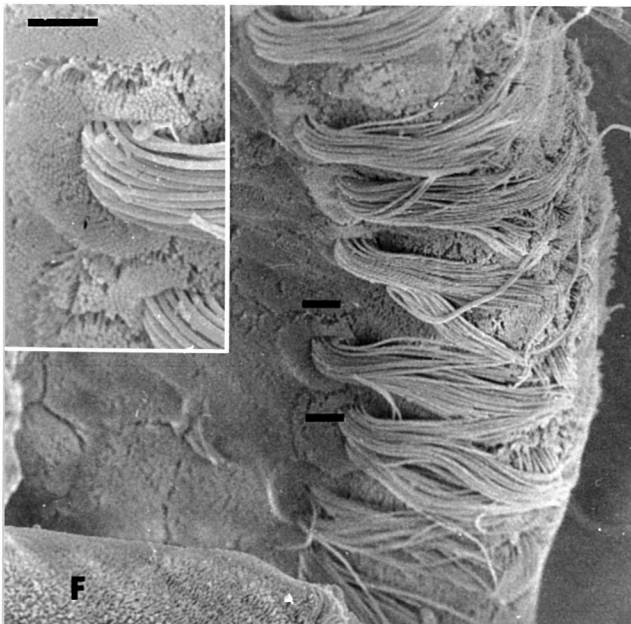


Abb. 113: Reihe von Cilienbüscheln am dorsalen vorderen Schalenrand, Striche = Ausschnitt, F = Fuß, Maßstab 2µm

3.3.3. Entwicklung des Magen- Darmkanals

3.3.3.1. Das Darmrohr und die Anlage der Mitteldarmdrüse

Vier Wochen nach der Encystierung zeigt sich auf Serienschnitten dorsal in der Larve gelegen ein in etwa rundes Lumen, das von einem einschichtigen Zylinderepithel umgeben wird (s. Abb. 114). Nach weiteren zwei Wochen flacht dieses Lumen in der Mitte des Tieres ab und wird breit. Die Zellkerne des Epithels sind deutlich basal angeordnet (s. Abb. 115, 116).

Nach acht bis zehnwöchiger Encystierungsdauer verschmilzt das lange flache Lumen in seiner Mitte im vorderen Drittel der Larve, so daß zwei paarig angeordnete Öffnungen, möglicherweise die Anlage der Mitteldarmdrüse, entstehen (s. Abb. 116). In allen Lumenformen können mit der PAS-Färbung Mukopolysaccharide nachgewiesen werden.

In der drei Monate lang encystierten Larve erkennt man unter dem breiten Mundschild deutlich die Mundöffnung (s. Abb. 117). Ob auch der Enddarm bereits nach außen durchgebrochen war, konnte nicht nachgewiesen werden. Bei Larven, die mit dem Glasmesser günstig geöffnet werden konnten, stellte sich die Mitteldarmdrüse in der Außenaufsicht als bohnenförmiges Gebilde dar, dessen Zellen blasig aufgetrieben waren (s. Abb. 118).

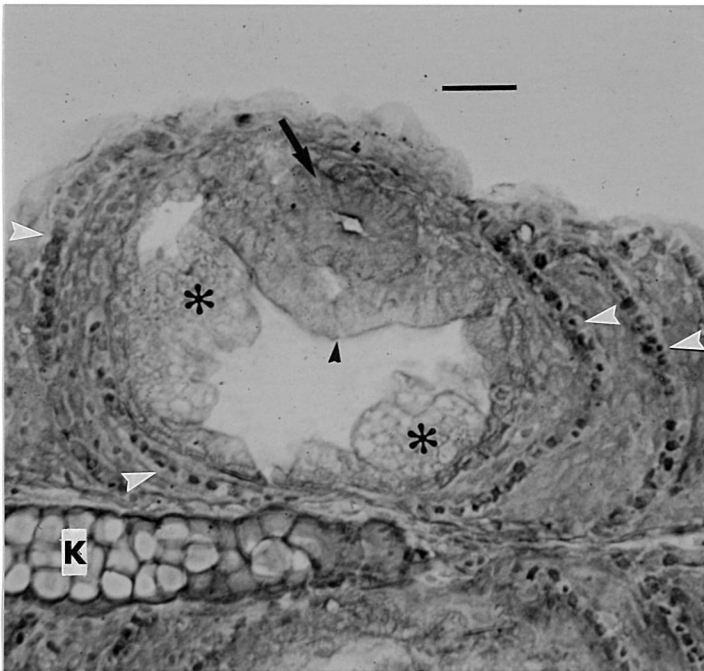


Abb. 114: Frontalschnitt, 4 Wo. n. Encyst., Darmrohr = Pfeil, Fußwulst = >, larvaler Mantel = Stern, K = Knorpel der Fischkieme, Kapillaren = weiße >, Versilberung nach Gömmöri, Maßstab 30µm

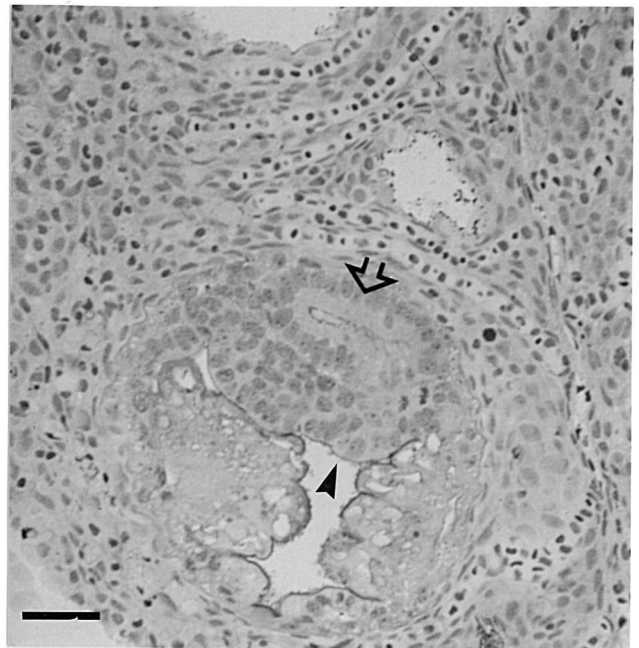


Abb. 115: Frontalschnitt 6 Wo. n. Encyst., vorderes Darmrohr = Pfeil, Fußwulst = >, PAS-Färbung, Maßstab 30µm

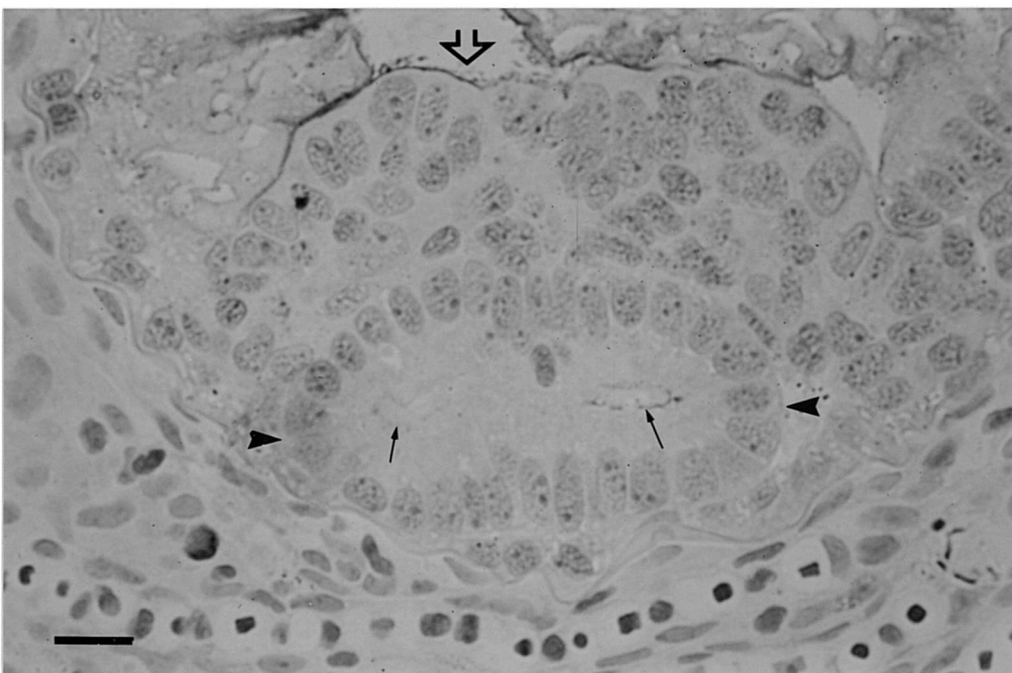


Abb. 116: Frontalschnitt 8 Wo. nach der Encystierung, zweilumiges Darmrohr = dünne Pfeile, basal angeordnete Zellkerne = >, Fußwulst = Pfeil, PAS-Färbung, Maßstab 5µm

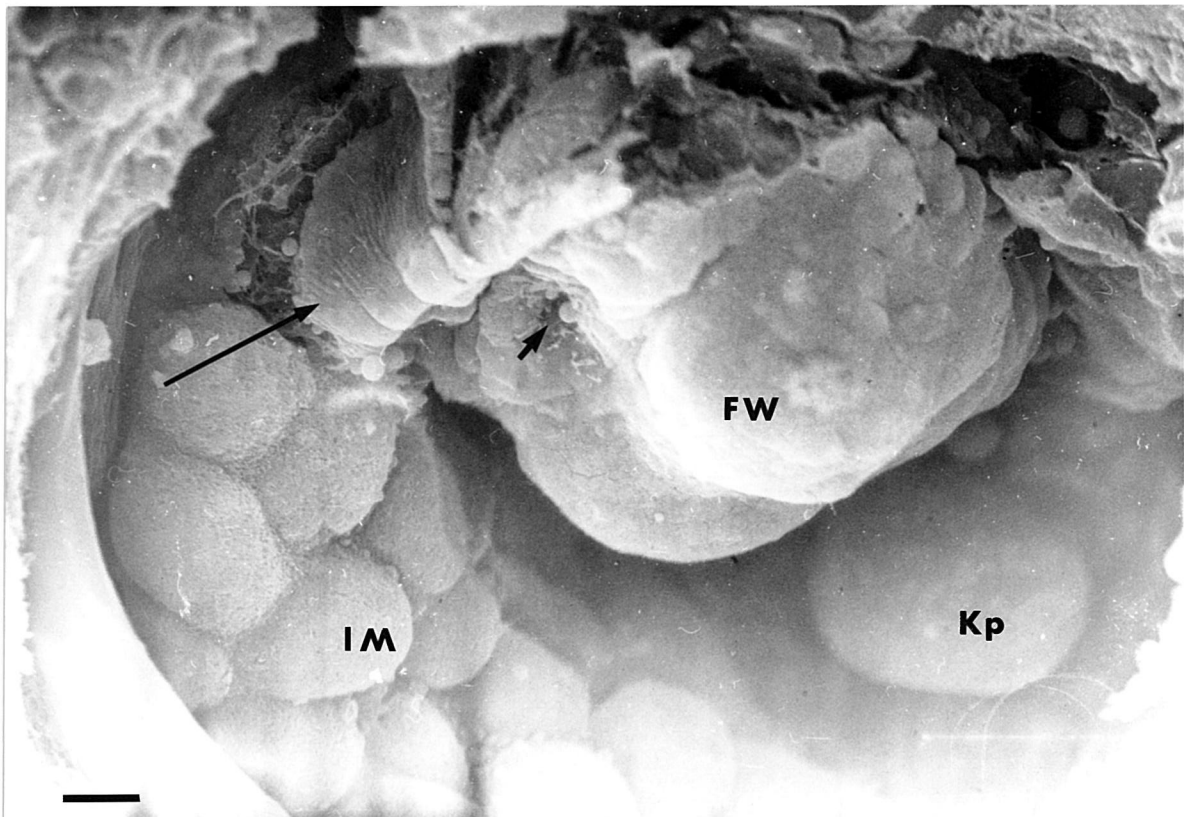


Abb. 117: Vorderende einer Larve von *M. margaritifera* 3 Mo. n. Encyst.
Mundöffnung = kurzer Pfeil, Mundschild = Pfeil, FW = Fußwulst, IM =
larvaler Mantel, Kp = Kiemenpapille, Maßstab 10µm

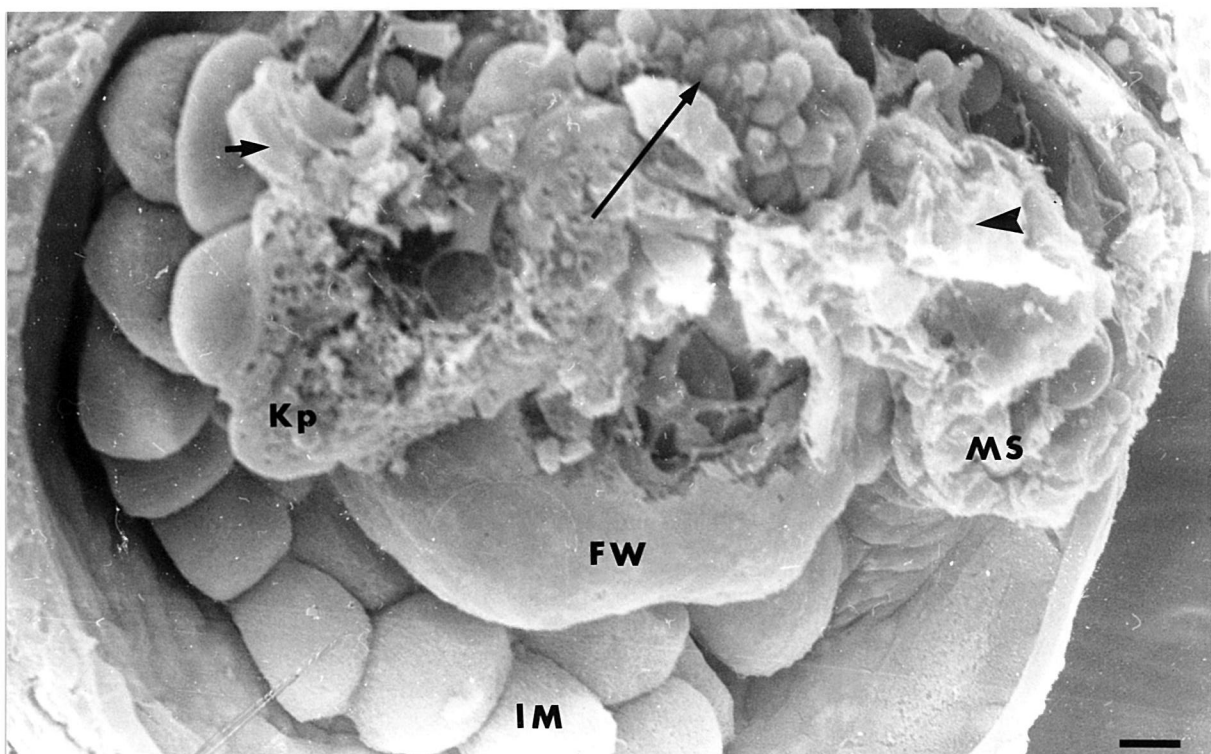


Abb. 118: Längsschnitt rechts am Fuß, Mitteldarmdrüse = Pfeil, vorderer
Schließmuskel = >, hinterer Schließmuskel = kurzer Pfeil, MS =
Mundschild, Kp = Kiemenpapille, FW = Fußwulst, IM = larvaler Mantel,
Maßstab 10µm

3.3.3.2. Darmanlagen während der Wintermonate

In den Präparaten der Winterfixierungen zeigen sich Ösophagus und Darmrohr stets als englumige Gebilde, die von einschichtigem Zylinderepithel umgeben werden. Die Magenanlage unterscheidet sich davon lediglich durch ein etwas größeres Lumen, das hinter der Mitteldarmdrüse gelegen ist (s. Abb. 158). Diese wies bei allen untersuchten Larven bereits ihre typische aus dreieckigen Lappen bestehende und mit runden Einlagerungen durchsetzte Struktur auf (s. Abb. 119, 120). Zwischen ihren beiden Hälften hat sich ein Ganglion gebildet (s. Abb. 119).

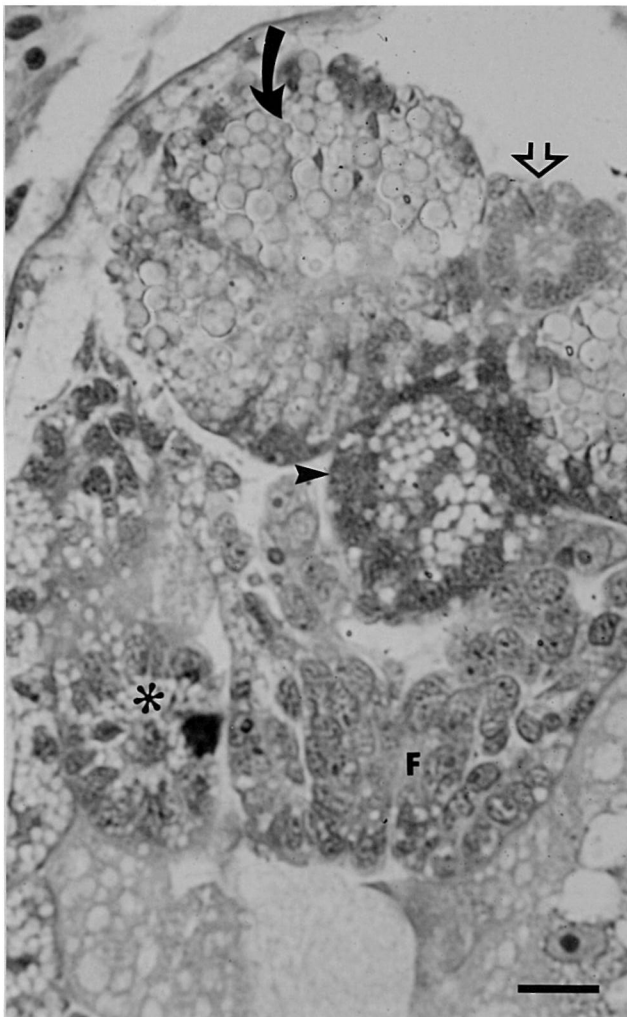


Abb. 119: Frontalschnitt 5 Mo. n. Encyst., Mitteldarmdrüse = Pfeil, Darmrohr = kurzer Pfeil, Kiemenpapille = Stern, Ganglion = >, F = Fuß, Giemsa-Färbung, Maßstab 15µm

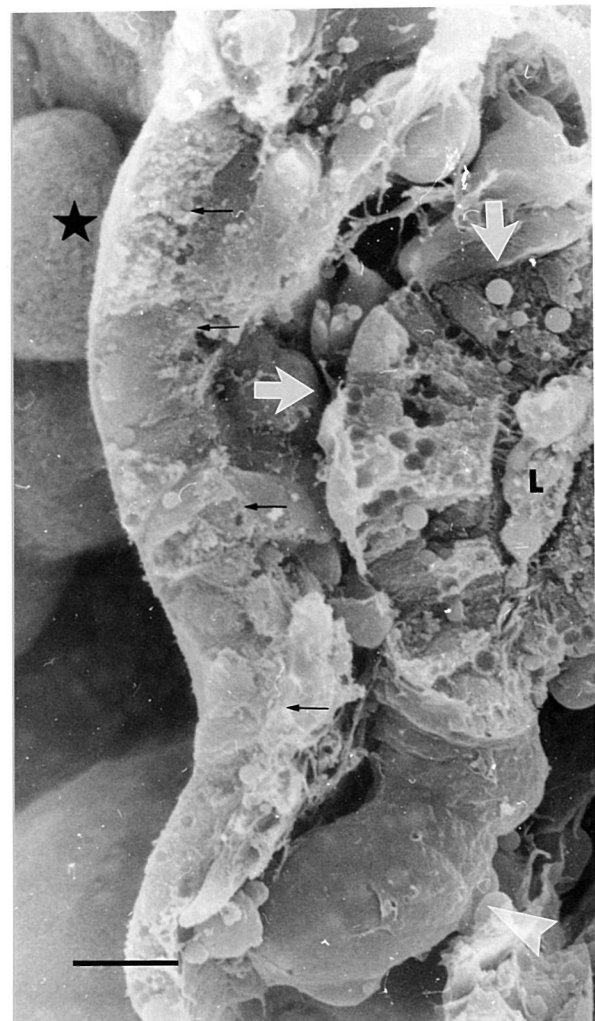


Abb. 120: Sagittalschnitt 6 Mo. n. Encyst., Mitteldarmdrüse = L, Epithel im Querschnitt = dünne Pfeile, Ösophagus = >, larvaler Mantel = Stern, Maßstab 10µm

3.3.3.3. Weiterentwicklung des Verdauungstrakts bis zum Jungmuschelstadium

Nach siebenmonatiger Encystierungszeit kann die Magenanlage als großlumiges Gebilde zwischen dem hinteren Anteil der beiden Hälften der Mitteldarmdrüse nachgewiesen werden (s. Abb. 121). Mundschild und Mundlappen bilden sich weiter aus (s. Abb. 122) und tragen im Jungmuschelstadium einen dichten Cilienbesatz, bei dem häufig Partikeltransport nachgewiesen werden konnte (s. Abb. 123).

Die Mitteldarmdrüse vergrößert sich erheblich, die Zellen ihrer äußeren Oberfläche haben sich abgeflacht und scheinen von einem netzartigen Gebilde umhüllt zu sein (s. Abb. 124). Histologisch bleiben die runden Einlagerungen erhalten. Auf Ultradünnschnitten der Mitteldarmdrüse bei frisch vom Wirtsfisch abgefallenen Jungmuscheln stellen sich diese Grana ganz unterschiedlich groß und verschieden elektronendicht dar (s. Abb. 125, 126, 127). Bei 10.000facher Vergrößerung sind dort fädige Strukturen zu erkennen, die bisweilen in unmittelbarem Kontakt zu den elektronendichtesten Einschlüssen stehen (s. Abb. 126).

Der Magen der Jungmuschel zeigt ein zum Fuß hin abgeflachtes Lumen, das auf der rechten unteren Seite geringfügig ausgesackt ist. Von hier schräg gegenüber und dorsal befindet sich eine bei kleinen Vergrößerungen homogen wirkende Wandverdickung (s. Abb. 127). Bei 12.000facher Vergrößerung stellt sich diese als Oberflächenvergrößerung durch Mikrovilli und mit Cilien durchsetzt dar (s. Abb. 128). Im Magenlumen kommen stets runde, grau kontrastierte Partikel vor. Neben diesen treten kleine blasige Gebilde auf, die sich manchmal in der Nähe von Kanälchen der eigentlichen Magenwand befinden (s. Abb. 127, 128, 129).

3.3.3.4. Zusammenfassung zur Entwicklung des Verdauungstrakts

Im Differenzierungsstadium I: Darmrohr aus einschichtigem Epithel und rundem Lumen bestehend

Im Differenzierungsstadium II: Magen-Darmkanal als flaches breites Lumen im vorderen Drittel der Larve oder dort doppellumig, im Hinterende rund

Im Differenzierungsstadium III: Mitteldarmdrüse angelegt, Magen als Rohr mit etwas größerem Durchmesser erkennbar, Mund und Mundschild vorhanden

Im Differenzierungsstadium IV: bewimperte Mundlappen vorhanden, große Mitteldarmdrüse mit runden Einlagerungen, Magen großlumig mit homogenem Inhalt, Ösophagus und Enddarm kleinlumig

Jungmuschelstadium: Mundschild und Mundlappen stark bewimpert, große Mitteldarmdrüse mit reichlich eingelagerten Konglomeraten, Magen mit Aussackung unten rechts und Wandverdickung links und oben, das Lumen ventral abgeflacht

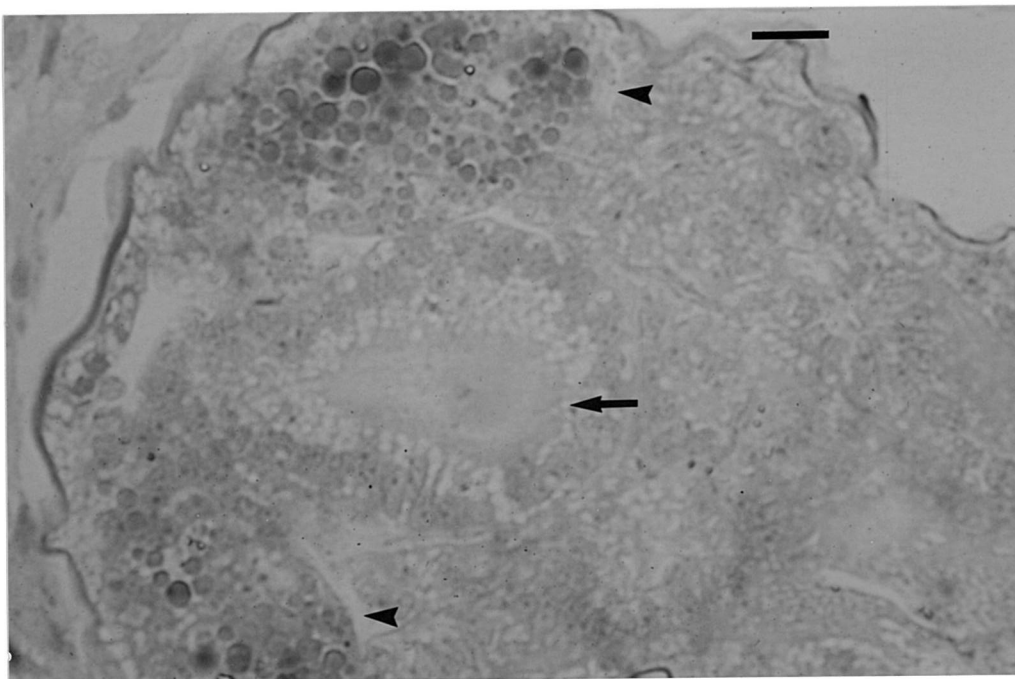


Abb. 121: Frontalschnitt 7 Mo. nach der Encystierung, Magen = Pfeil, Mitteldarmdrüse = >, Ziehl-Neelsen, Maßstab 12,5µm

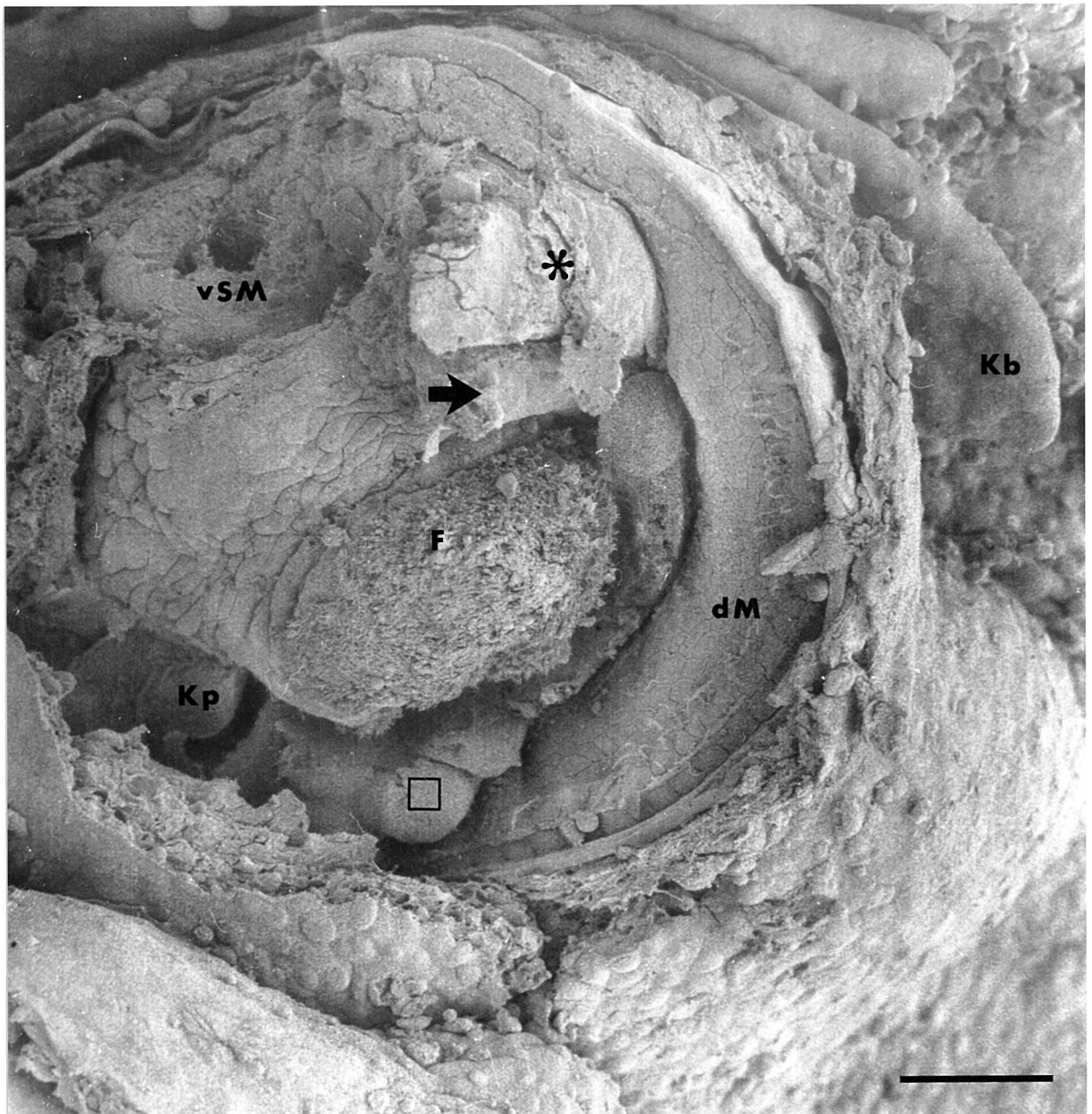


Abb. 122: Perlmuschellarve 7 Mo. n Encyst., Mundlappen = Pfeil, Mundschild = Stern, larvaler Mantel = Quadrat, definitiver Mantel = dM, Fuß = F, Kiemenpapille = Kp, vorderer Schließmuskel = vSM, Kiemenblättchen Fisch = Kb, Maßstab 50µm

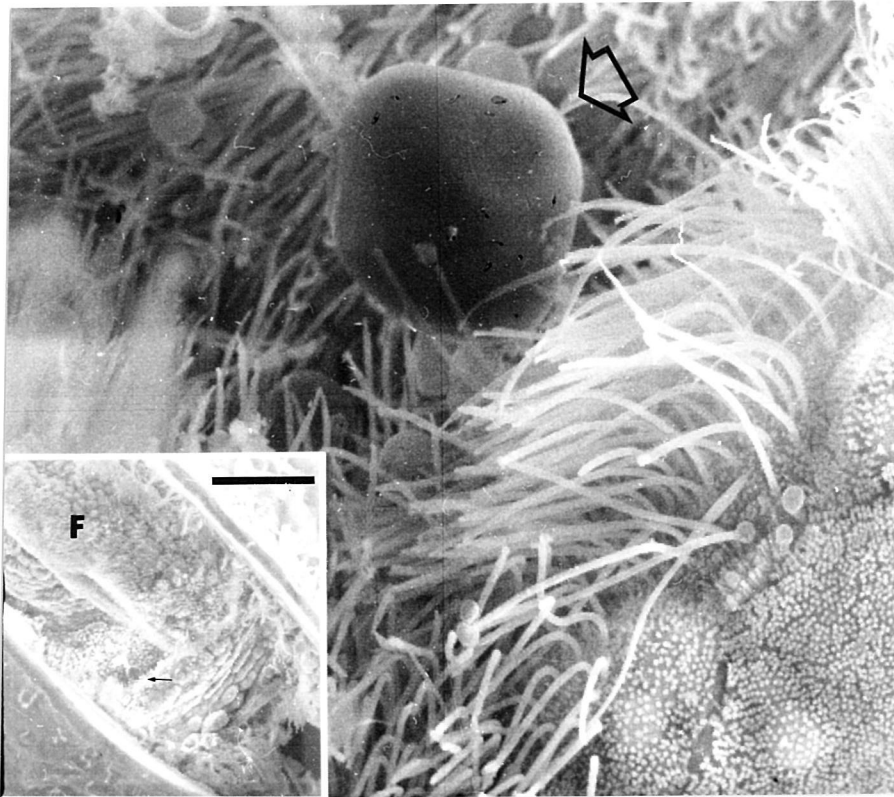


Abb. 123: Cilien an Mundschild und Mundlappen einer Jungmuschel, Partikeltransport = Pfeil, F = Fuß, Maßstab 50µm

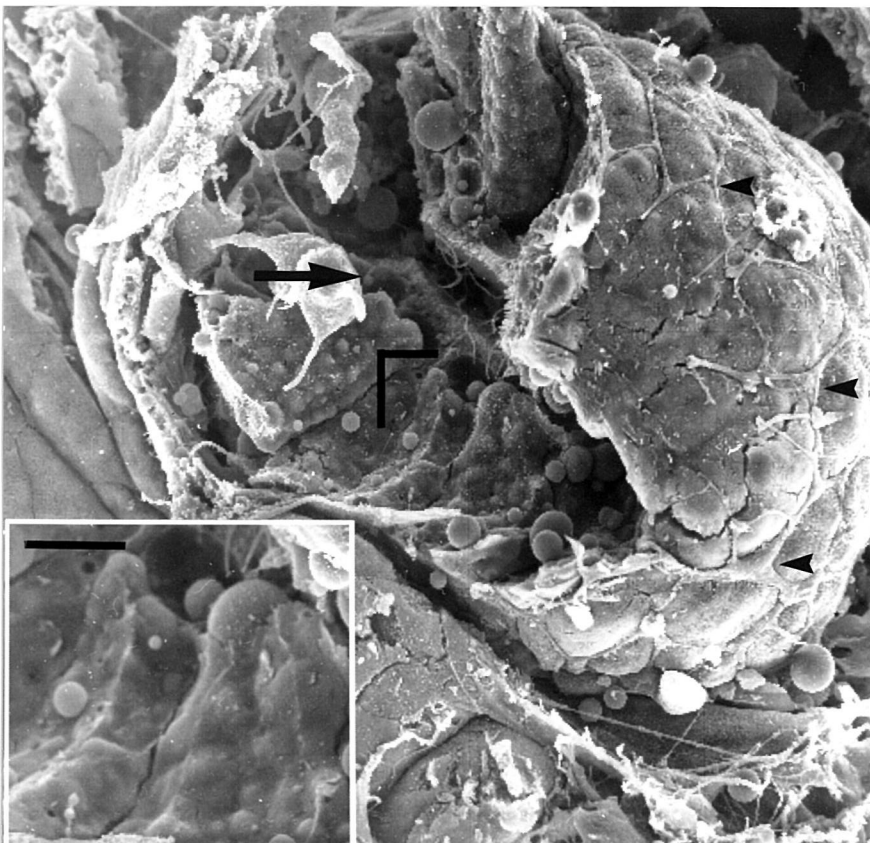


Abb. 124: Mitteldarmdrüse einer Larve kurz vorm Verlassen des Wirtsfischs, Lumen = Pfeil, netzartiges Gebilde = >, Winkel = Ausschnittsbegrenzung, Maßstab 5µm

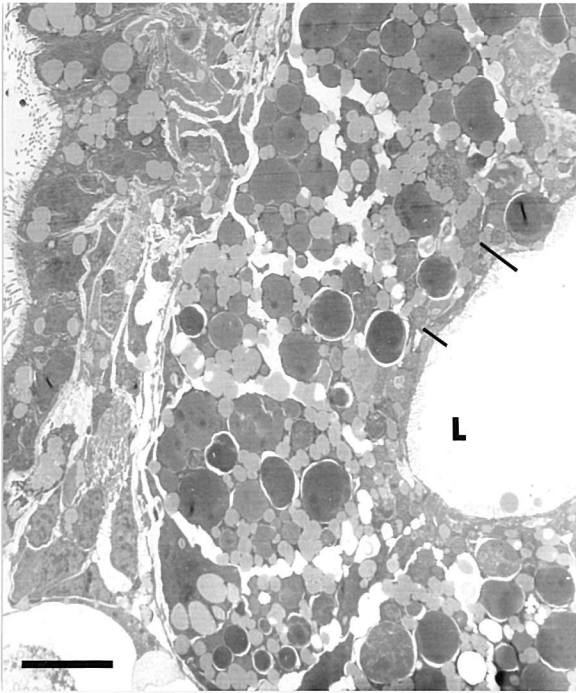


Abb. 125: Querschnitt der Mitteldarmdrüse einer Jungmuschel mit unterschiedlich elektronendichten und verschieden großen runden Einschlüssen, L = Lumen, Balken = Ausschnitt Abb. 126, Maßstab 10µm

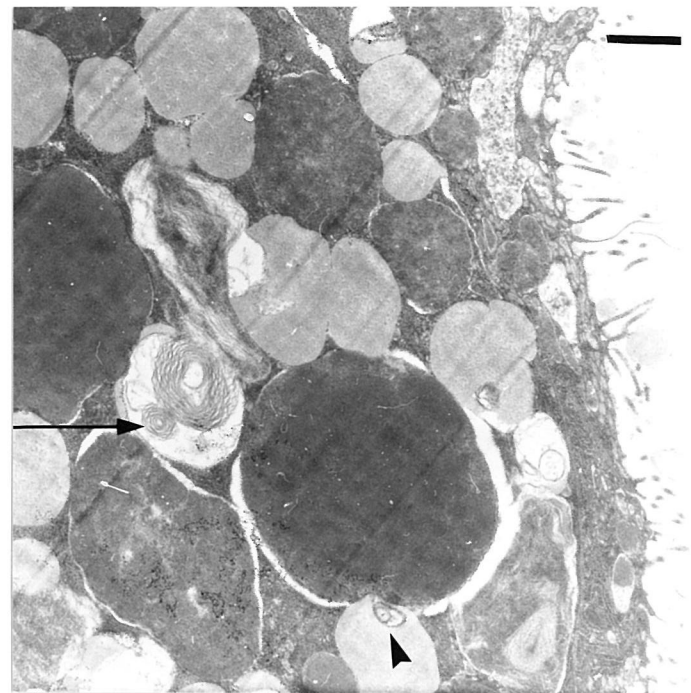


Abb. 126: Ausschnitt aus Abb. 125, fädige Strukturen = Pfeil, fädige Struktur am elektronendichten Konglomerat = >, Maßstab 1µm

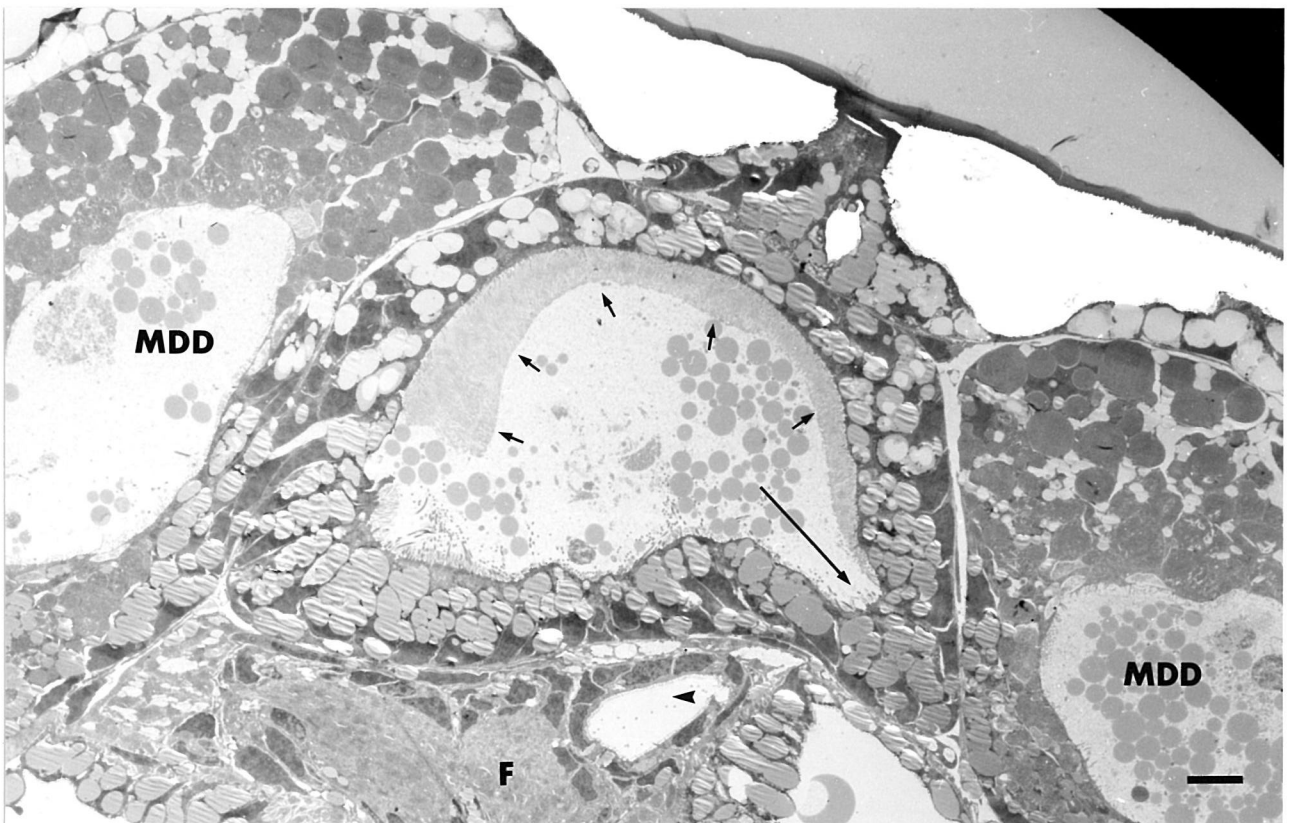


Abb. 127: Querschnitt des Magens einer Jungmuschel frisch vom Fisch, Aussackung = Pfeil, "Wandverdickung" = kurzer Pfeil, MDD = Mitteldarmdrüse, Statocyste = >, F = Fuß, Maßstab 10µm

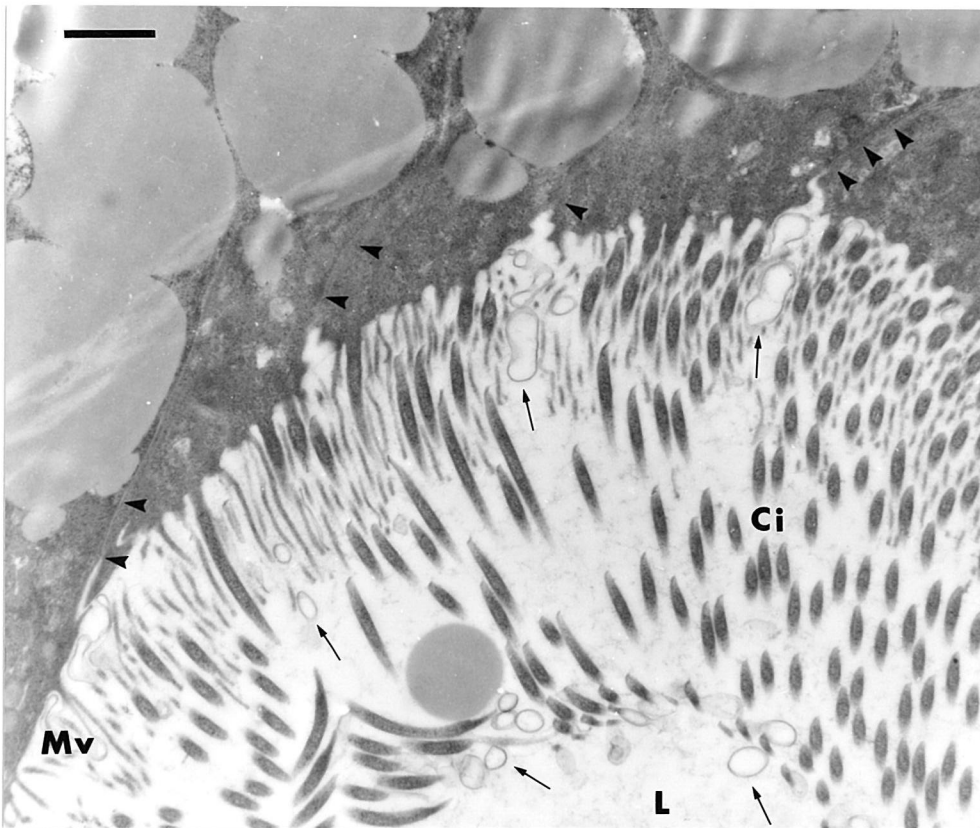


Abb. 128: "wandverdickter" Anteil der Magenwand einer Jungmuschel frisch vom Fisch, blasige Gebilde = dünne Pfeile, Kanälchen = >, Cilien = Ci, Magenlumen = L, Mikrovilli = Mv, Maßstab 1µm

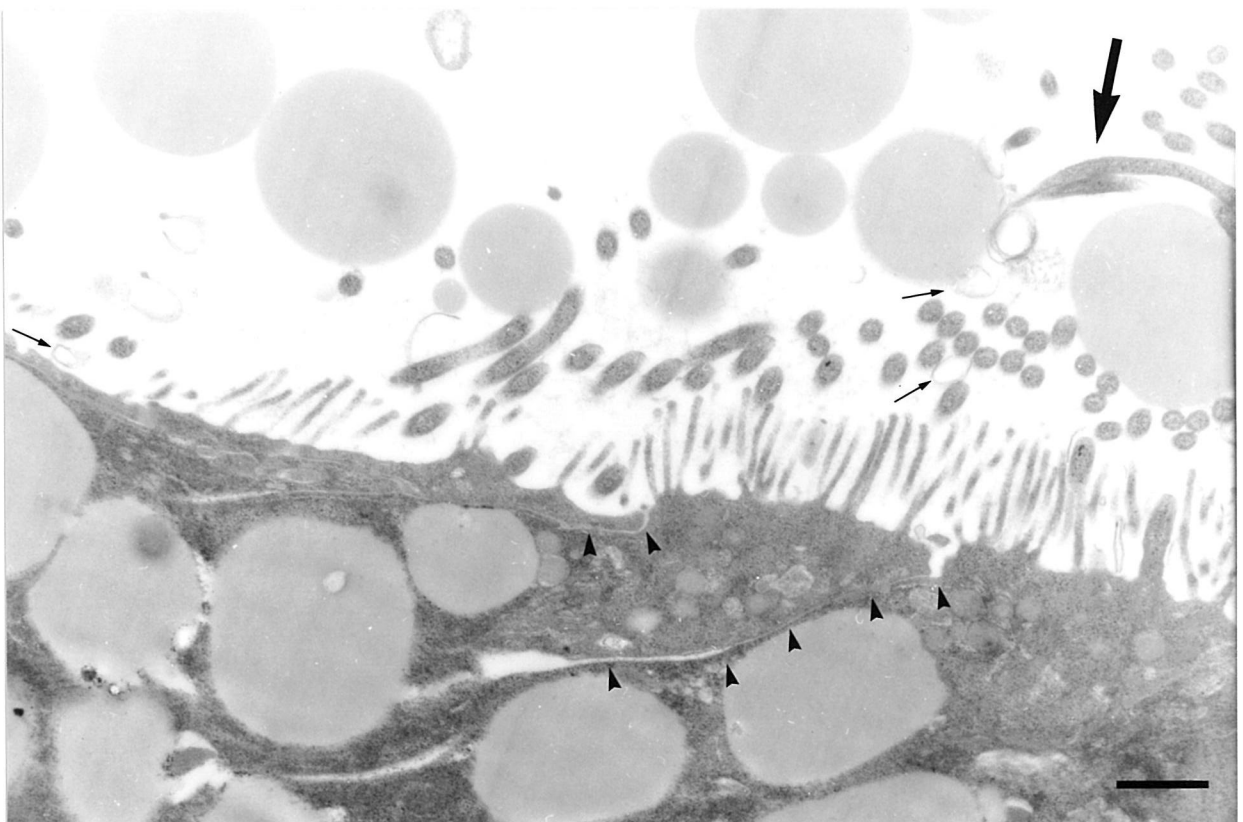


Abb. 129: ventraler Anteil der Magenwand, blasige Gebilde = dünne Pfeile, Kanälchen = >, Cilien beim Partikeltransport = Pfeil, Maßstab 1µm

3.3.4. Herz, Pericard und Niere

Die Herz-, Pericard- und Nierenanlage konnten nicht deutlich als solche dargestellt werden. Zur Klärung könnten hier dorsal gelegte, horizontale Ultradünnschnitte dienen. Lediglich im hinteren Drittel der Jungmuschel erschienen im TEM winzige "Röhrchen", die in ihrem Lumen Cilien zeigten. Möglicherweise handelt es sich bei diesen Gebilden um Exkretionsanlagen.

3.3.5. Entwicklung des Fußes

Zu Beginn der parasitären Phase von Glochidien beginnt sich das am Hinterende der Larven liegende Entodermsäckchen nach vorn zu strecken, ihm sitzt der Fußwulst auf. Durch Einstülpungen aus dem Ektoderm des Fußes entstehen die Pedalganglien und Statocysten (HERBERS 1914, KORSCHOLT UND HEIDER 1936, MAAß 1987).

3.3.5.1. Entstehen des Fußwulstes

In der vierten bis sechsten Woche nach der Encystierung vom Margaritifera-Glochidium stellt sich dorsal gelegen folgende Zellstruktur dar. Unter der Schale beginnt sich der Eingeweidesack (nach HERBERS 1914) aus dem Entodermsäckchen zu bilden, auf dem relativ deutlich abgegrenzt ein- bis zweischichtiges Zylinderepithel ventral aufsitzt (s. Abb. 130).

Im Verlauf von zwei weiteren Wochen verschwindet die Zylinderepithelstruktur, ein wulstartiger Zellverband ist zu sehen (s. Abb. 131). Bei histologischen Serienschnitten werden hier häufig Mitosespindeln getroffen (s. Abb. 132).

Nach dreimonatiger Encystierungszeit konnte der Fußwulst mit dem REM erfaßt werden. Er stellt sich nun als pflaumenförmiges Gebilde dar, das breitbasig dem dorsal liegenden Gewebe aufsitzt und ventral eine längsgerichtete Einbuchtung trägt (s. Abb. 133, 117). In diesem Wulst zeigen histologische Schnitte rundliche Zellansammlungen, die sich am unteren Rand der Mitteldarmdrüse anlagern (s. Abb. 134), an der Stelle, wo in der Jungmuschel die Statocyste nachgewiesen werden konnte (s. Abb. 140). Dieses Stadium der Fußentwicklung ist in etwa im November oder Dezember erreicht. Vereinzelt kommt es im Februar noch vor.

Ein deutliches Längenwachstum des Fußwulstes schließt sich an. Der Fuß erreicht allmählich (z.T. schon ab Ende November) den ventralen Schalenrand. Die zukünftige Kriechsohle wirkt nun aufgetrieben, eine längs verlaufende mediane Rinne kann festgestellt werden (s. Abb. 135). Die Bewimperung ist noch sehr spärlich und nur an der Fußspitze immer vorhanden (s. Abb. 136). Beide abgebildeten Fußformen, mit und ohne Längsrinne, kommen von November bis zum Februar, selten auch noch einen Monat später vor. Über dem vorderen Anteil des Fußes befindet sich nun ein Ganglion (s. Abb. 119). Ab März setzt eine zunehmend dichter werdende Bewimperung des seitlichen Fußes ein, die Epithelien wirken noch rund aufgetrieben (s. Abb. 137).

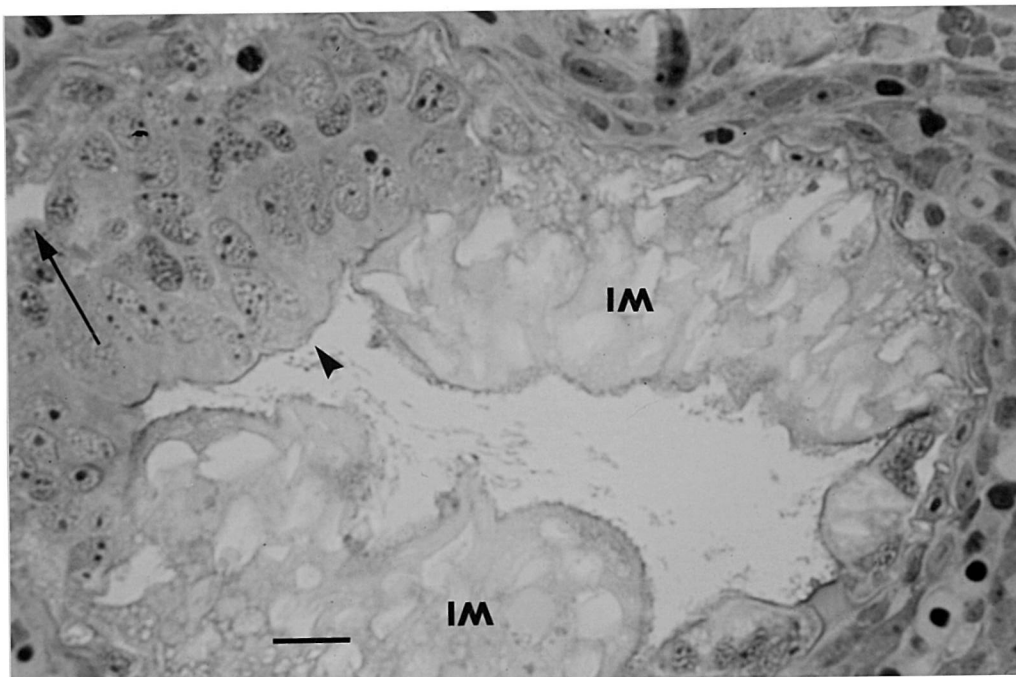


Abb. 130: Querschnitt, 4 Wo. n. Encystierung, Fußwulst = >, Darmrohr = Pfeil, IM = larvaler Mantel, Methyleneblau-Azur-Eosin, Maßstab 15µm

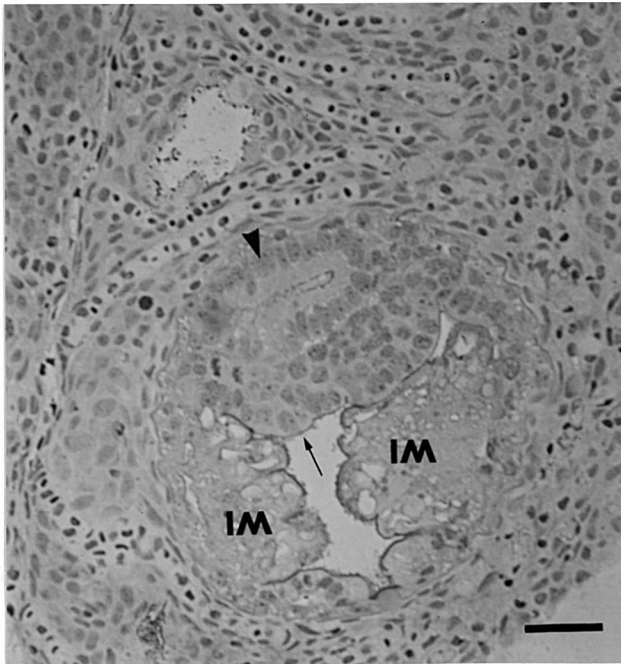


Abb. 131: *M. margaritifera* acht Wochen nach der Encystierung, Fußwulst = Pfeil, IM = larvaler Mantel, Magen- Darmanlage = >, Methylenblau-Azur-Eosin, Maßstab 30µm

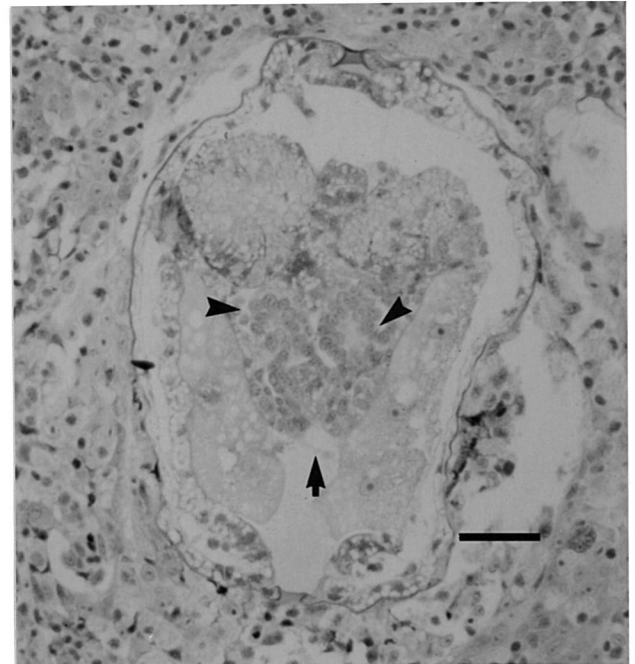


Abb. 134: Fronalschnitt 6 Mo. n. Encyst., Fußwulst = Pfeil, vermutliche Anlagen der Statocysten = >, HE, Maßstab 30µm

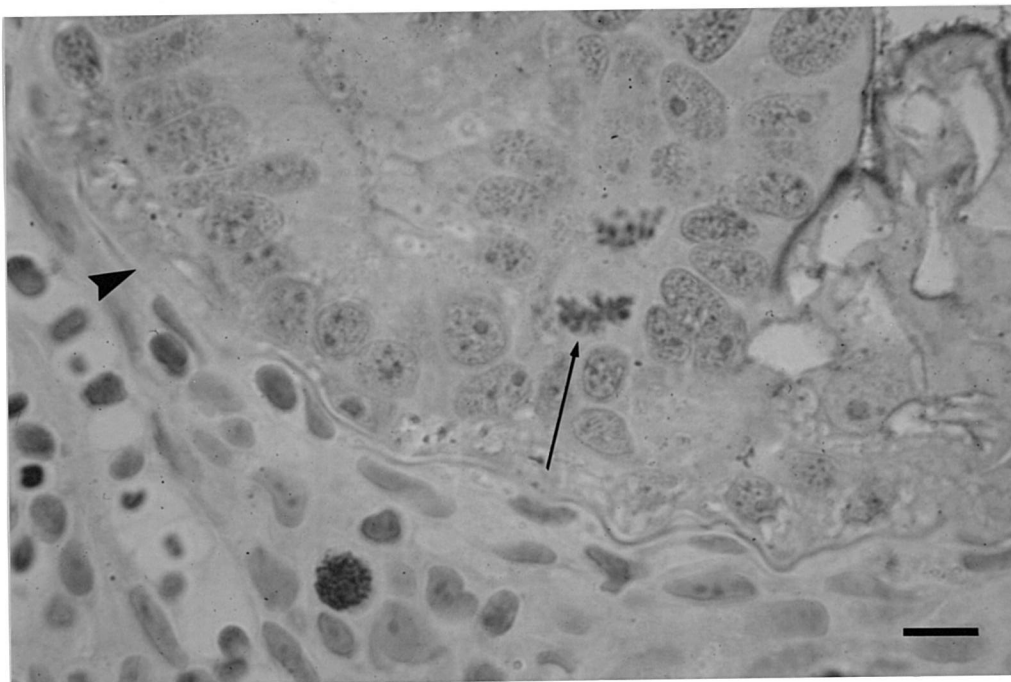


Abb. 132: 8 Wochen nach der Encystierung, Mitosespindel am seitlichen Fußwulst = Pfeil, Magen- Darmanlage = >, Methylenblau-Azur-Eosin, Maßstab 6µm

Abb. 133 nächste Seite

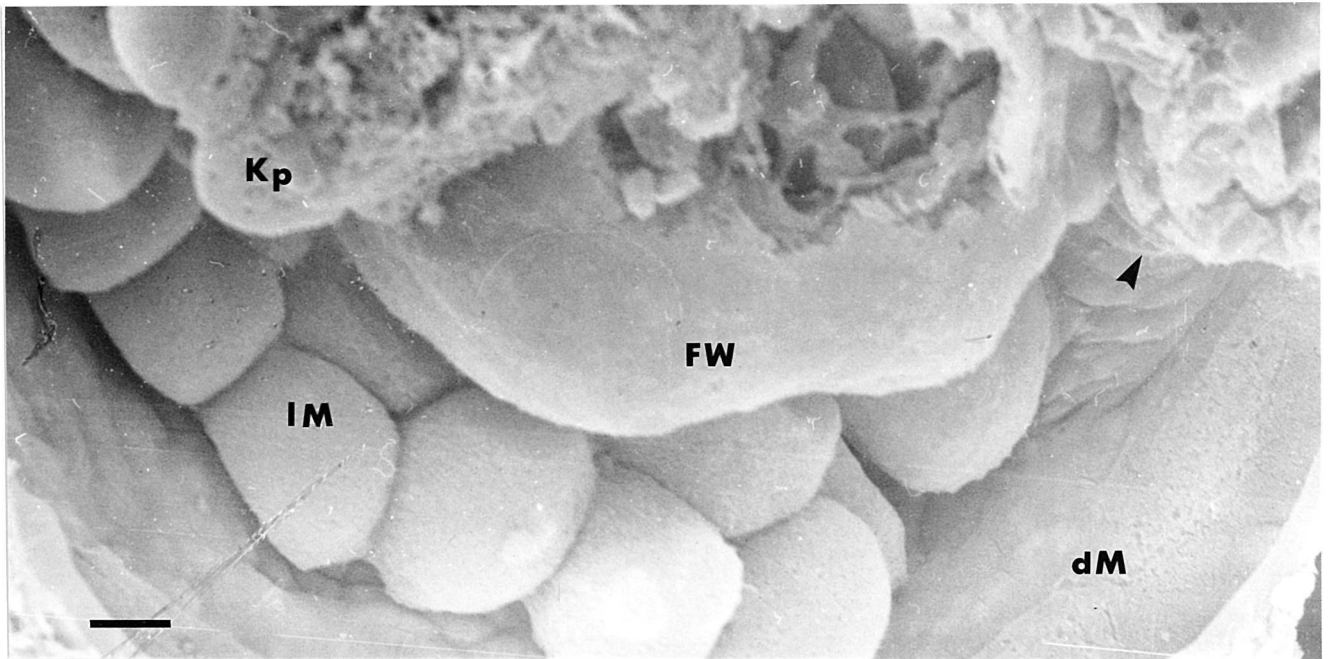


Abb. 133: Perlmuschellarve 3 Mo. n. Encyst, Fußwulst = FW Mundlappen = >, Kp = Kiemenpapille, IM = larvaler Mantel, definitiver Mantel = dM, Maßstab 10µm

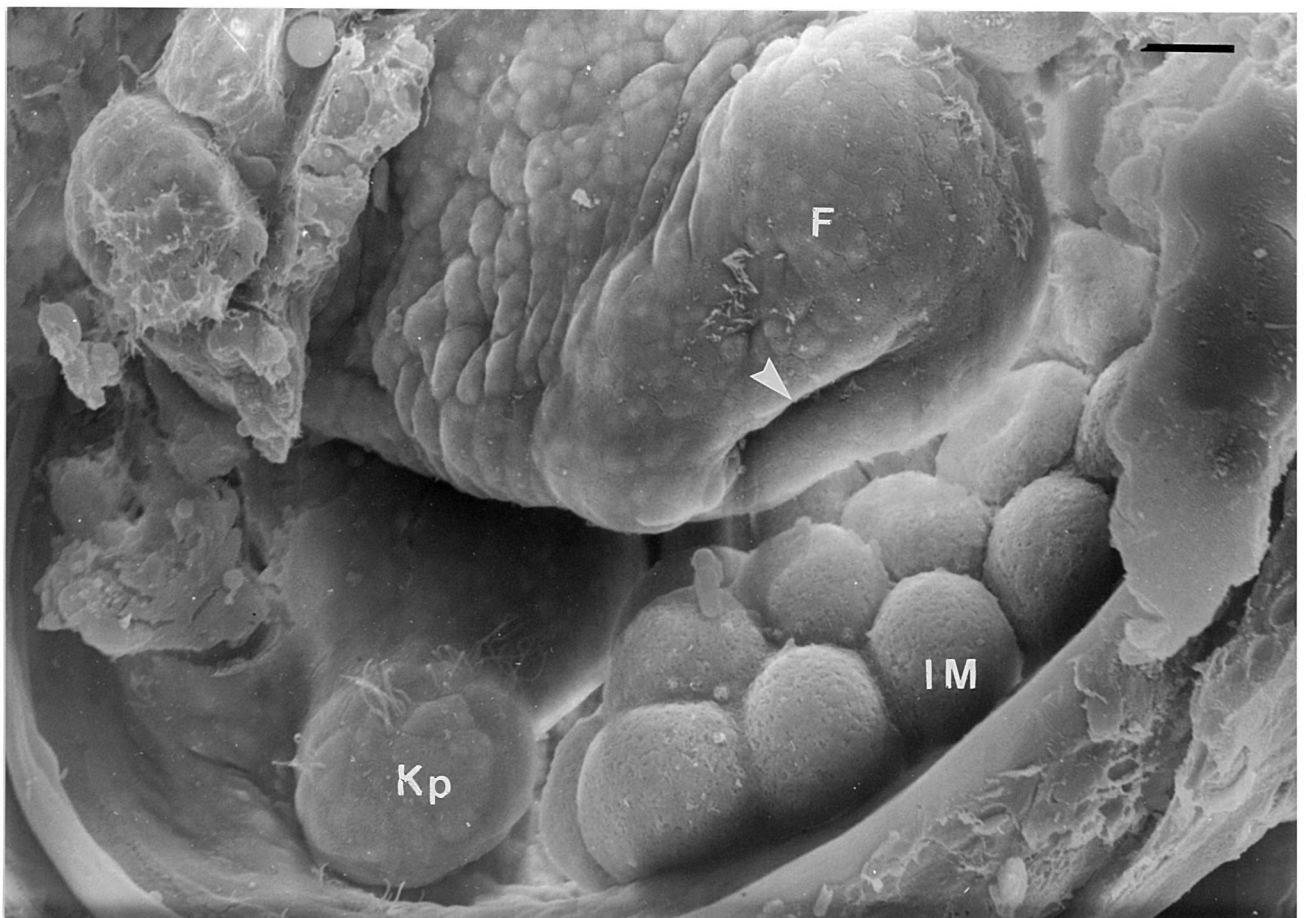


Abb. 135: Perlmuschellarve 4 Mo. n. Encystierung, larvaler Fuß = F, mittlere Rinne = >, Kp = Kiemenpapille, IM = larvaler Mantel, Maßstab 10µm

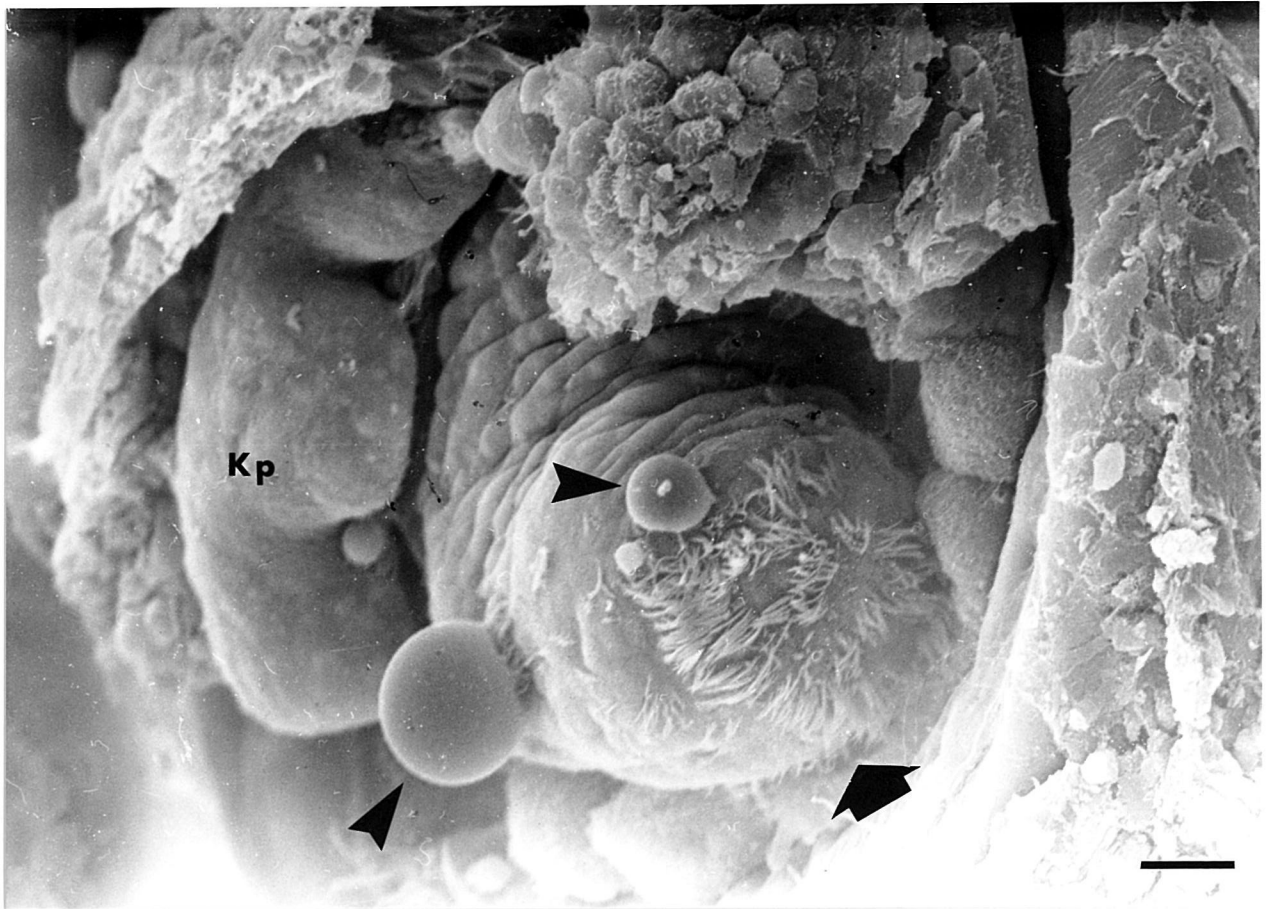


Abb. 136: larvaler Fuß von *M. margaritifera*, Novemberfixierung, bewimperte Fußspitze = Pfeil, angehaftete Zellen = >, Kp = Kiemenpapille, Maßstab 10µm

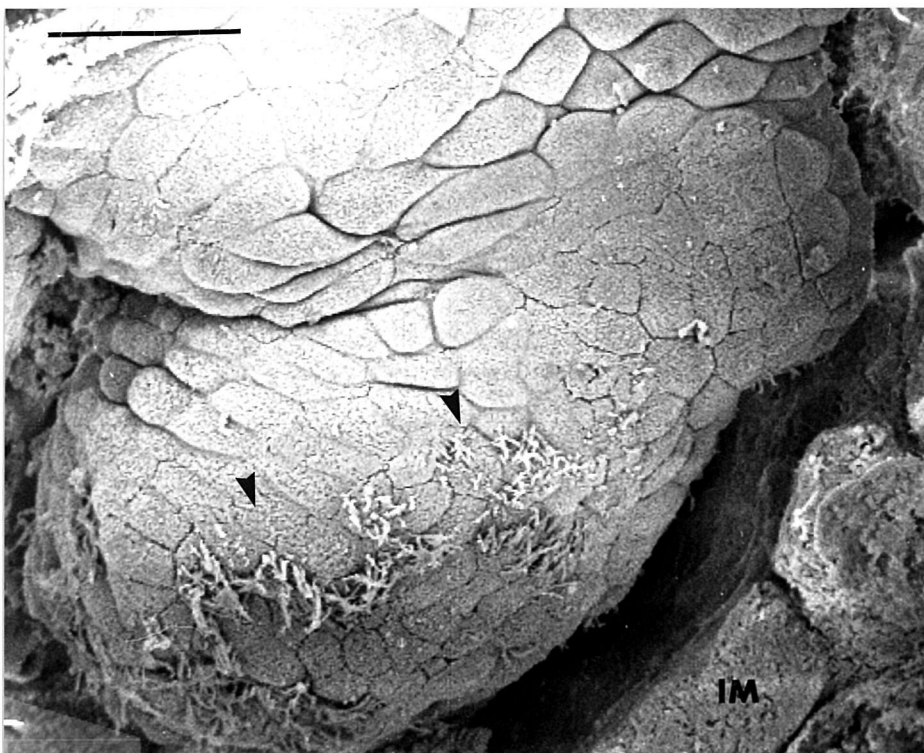


Abb. 137: larvaler Fuß 6 Monate nach der Encystierung, beginnende seitliche Bewimperung = >, IM = larvaler Mantel, Maßstab 20µm

3.3.5.2. Definitiver Fuß

Bereits kurz vor Verlassen des Wirtsfisches (etwa Mai - Juni) nimmt der Fuß der Jungmuschel bei geschlossener Schale den größten Raum ein. Seine Sohle zeigt sich pelzartig dicht bewimpert, wobei eine längs verlaufende mittlere Partie davon ausgespart bleibt (s. Abb. 138). Die Bewimperung zieht sich als breites Band sowohl um den seitlichen Fuß als auch um dessen Spitze (s. Abb. 139).

Solange die Flußperlmuschel parasitiert, liegt der Fuß eingezogen zwischen den Schalenhälften. In frontalen semi- und ultradünnen Serienschnitten erkennt man, daß seine Oberfläche im unbewimperten Teil stark eingefaltet ist (s. Abb. 140). Paarige Statocysten sind im dorsalen Fußanteil eingelagert. Im Ultradünnschnitt zeigen sie im Querschnitt eine ovale Form, deren Innenraum elektronendurchlässig ist. In diesem „Hohlraum“ befindet sich ein grau kontrastiertes Gebilde, das aus konzentrischen Ringen aufgebaut erscheint (s. Abb. 141). In der Aufsicht von außen stellt sich die Statocyste rund und mit einer glatten Kapsel umgeben dar (s. Abb. 142).

In allen untersuchten Exemplaren, sowohl in denjenigen, die noch auf dem Wirtsfisch parasitierten, als auch in den Jungmuscheln waren rudimentäre Byssusdrüsen vorhanden (s. Abb. 143). Unter dieser zeigten sich elektronenoptisch stets dunkel kontrastierte runde Konglomerate eingelagert (s. Abb. 143).

3.3.5.3. Zusammenfassung der Fußentwicklung

Im Differenzierungsstadium I: Fußwulst als ein- bis zweischichtiges Zylinderepithel

Im Differenzierungsstadium II: flacher Fußwulst aus 3-4 Zellschichten

Im Differenzierungsstadium III: in der Aufsicht pflaumenförmiger Fußwulst mit längs gerichteter Einsenkung, innen unpaare runde Zellansammlung zwischen den beiden Anteilen der Mitteldarmdrüse, die als Anlage des Pedalganglions gedeutet werden könnte; paarig ähnliche Gebilde dorsal im Fuß, vermutlich Anlagen der Statocysten

Im Differenzierungsstadium VI: beginnender Cilienbesatz an der Sohle, Statocysten als blasige Gebilde nachweisbar, Pedalganglion vorhanden

Jungmuschelstadium: unterer Teil mit starker Bewimperung, die an der Kriechsohle hinten in der Mitte ausgespart ist, rudimentäre Byssusdrüse, Pedalganglion, paarige Statocysten

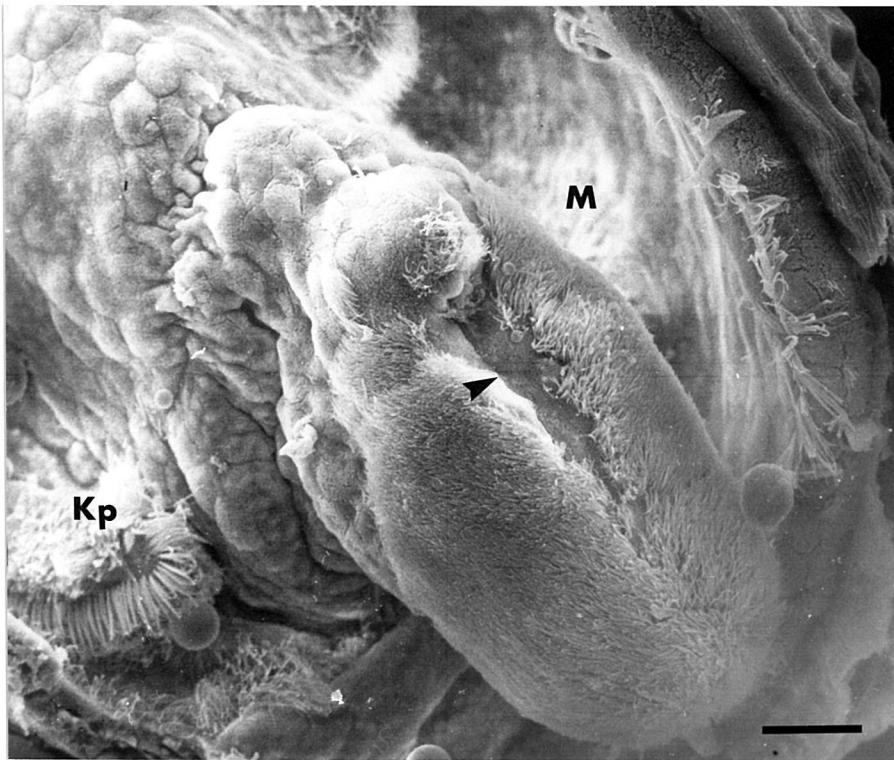


Abb. 138: Fußsohle von *M. margaritifera* 9 Monate nach der Encystierung, mittlere wimpernfreie Rinne = >, M = definitiver Mantel, Kp = Kiemenpapillen, Maßstab 20µm

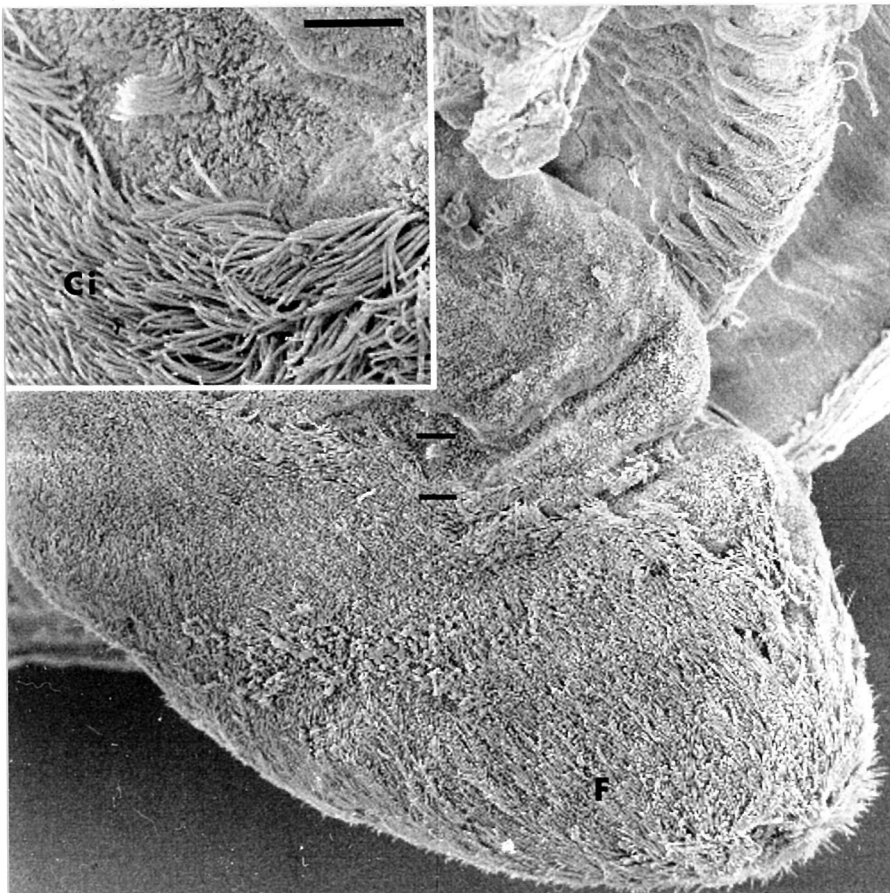


Abb. 139: definitiver Fuß = F von rechts einer *Margaritifera*-Jungmuschel, Ci = Cilien, Striche = Ausschnitt, Maßstab 5µm



Abb. 140: Frontalschnitt ultradünn vom Fuß von *M. margaritifera*, 9 Monate nach der Encystierung, Einfaltung der Oberfläche = >, Byssusdrüse = Pfeil (s. auch Abb. 143), S = Statocyste, Kp = Kiemenpapille, Maßstab 10µm

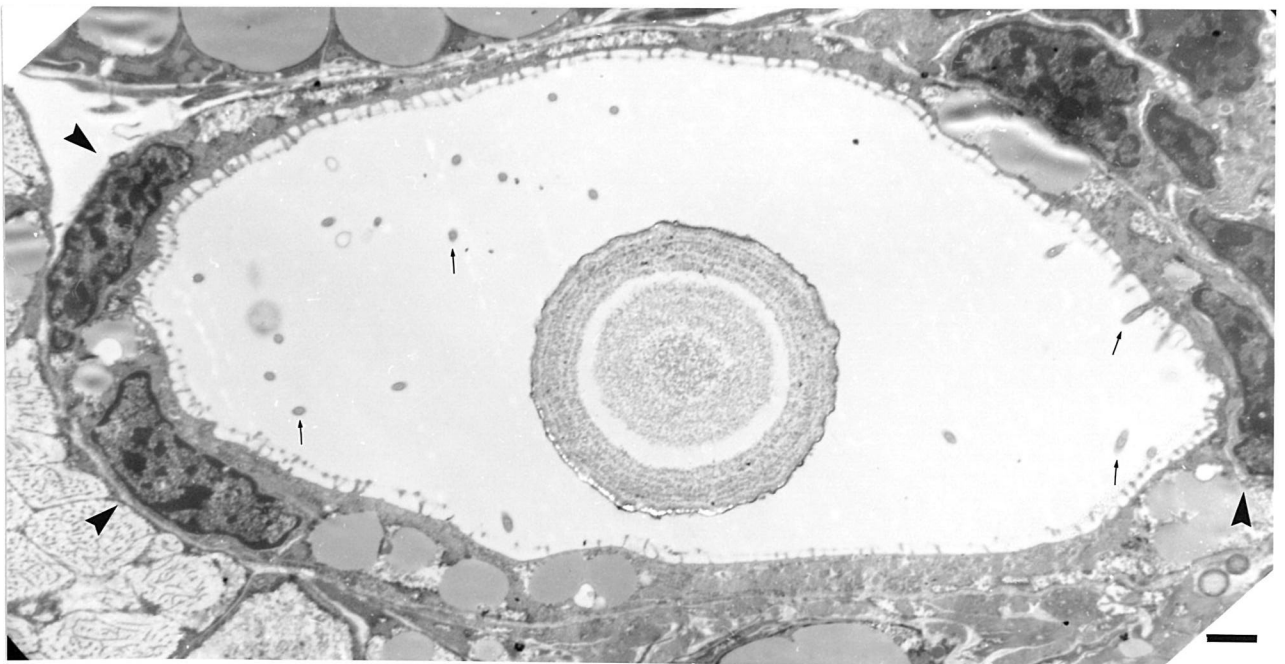


Abb. 141: frontaler Ultradünnschnitt einer Jungmuschelstatocyste, Cilien = Pfeil, Zellkerne der Kapsel = >, Maßstab 1µm

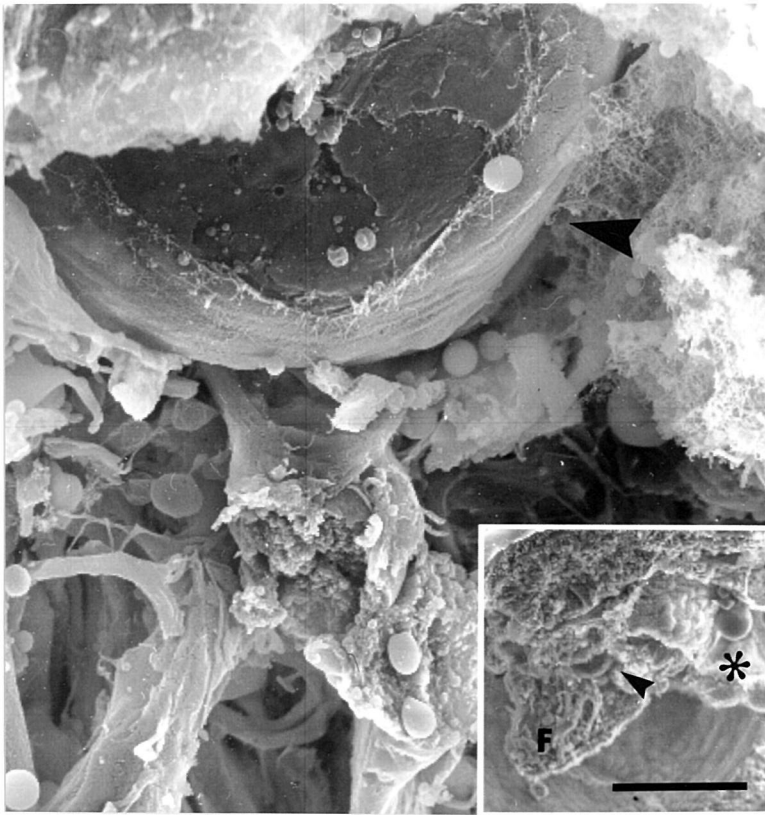


Abb. 142: rechte Stathocyste = > einer 9 Monate lang encystierten *M. margaritifera* im längs geöffneten Fuß = F, Kiemenpapillen = Stern, Maßstab 100µm

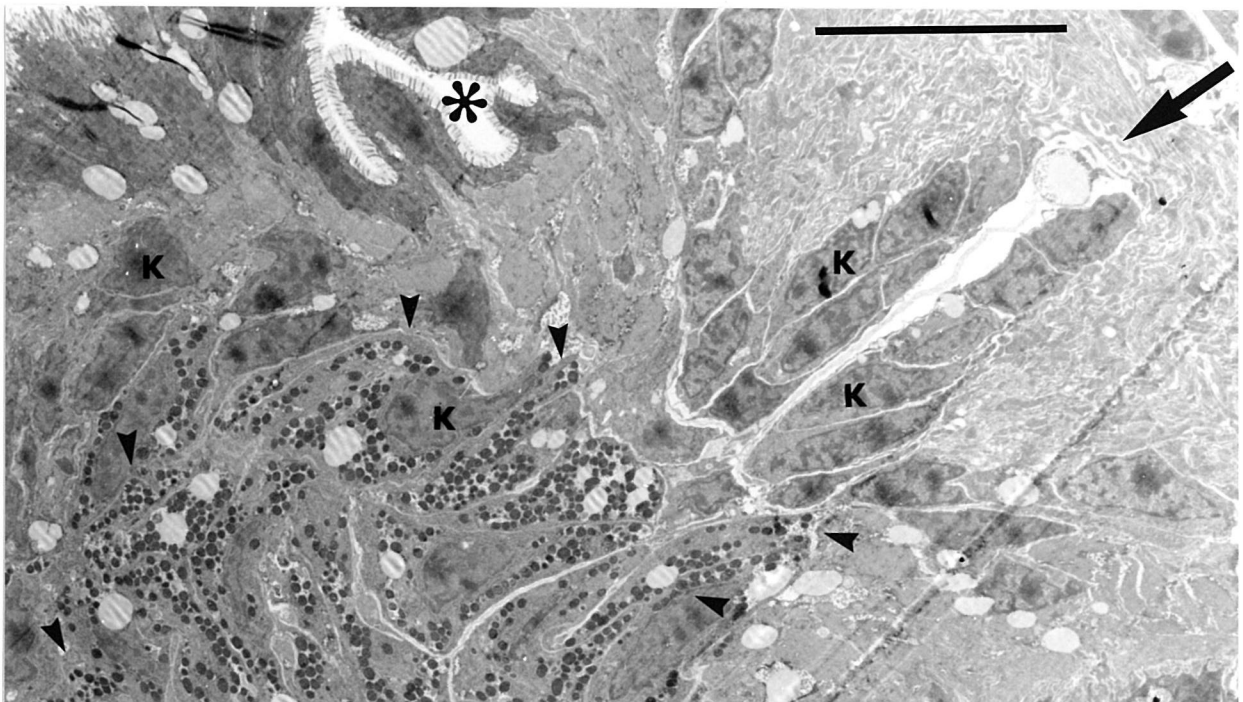


Abb. 143: Byssusdrüse aus Abb. 140 = Pfeil, elektronendichte Konglomerate = >, seitliche Einfaltungen des Fußes = Stern, Zellkerne = K, Maßstab 5µm

3.3.6. Entwicklung der Kiemen

Am Außenrand der seitlichen Gruben differenzieren sich aus dem Gewebe die ersten Kiemenpapillen (HERBERS 1914, KORSCHULT UND HEIDER 1936).

3.3.6.1. Das erste Paar Kiemenpapillen

Nach vier- bis sechswöchiger Encystierungszeit sind auf Semidünnschnitten im hinteren Drittel der Perlmuschellarven paarige halbrunde Zellansammlungen zu erkennen. Sie schmiegen sich dem Epithel an, das der Schale aufsitzt und berühren den larvalen Mantel. Wegen ihrer Form und Lage ist zu vermuten, daß es sich hierbei um die Anlagen der ersten beiden Kiemenpapillen handelt (s. Abb. 144). In der sechsten bis achten Woche erscheinen sie histologisch als tropfenförmige Gewebsstruktur. Sie scheinen sich zwischen Fuß und larvalen Mantel zu drängen. Der "Tropfen" zeigt kreisförmig angeordnete Zellen, die sich um ein gering angefärbtes Zentrum lagern (s. Abb. 145). Diese histologische Struktur bleibt auch nach sechsmonatiger Encystierungsdauer erhalten, in ihrer Mitte befindet sich jedoch eine runde Zelle (s. Abb. 146).

Die drei Monate alte geöffnete Larve zeigt im Scanner hinter dem Fuß und über den larvalen Mantelzellen auf jeder Schale je eine fast halbkugelige Kiemenpapille (s. Abb. 147). Auch nach sechs Monaten konnte diese Struktur noch beobachtet werden.

Die Mehrheit der untersuchten Flußperlmuschellarven besaß aber in den Fixierungen vom dritten bis zum sechsten Monat nach der Encystierung eher einen Papillenwulst, an dem eine quer verlaufende Eindellung bisweilen zu erkennen war. Während dieser Zeit waren die Zelloberflächen dicht mit Mikrovilli besetzt. Cilien kamen in geringer Anzahl vor (s. Abb. 148).



Abb. 144: Frontalschnitt durch das hintere Drittel der Perlmuschellarve, 6 Wo. n. Encyst., Kiemenpapille = Pfeil, Darmrohr = >, Schalenepithel = kurzer Pfeil, IM = larvaler Mantel, FW = Fußwulst, Methyl- Azur B, Maßstab 6µm

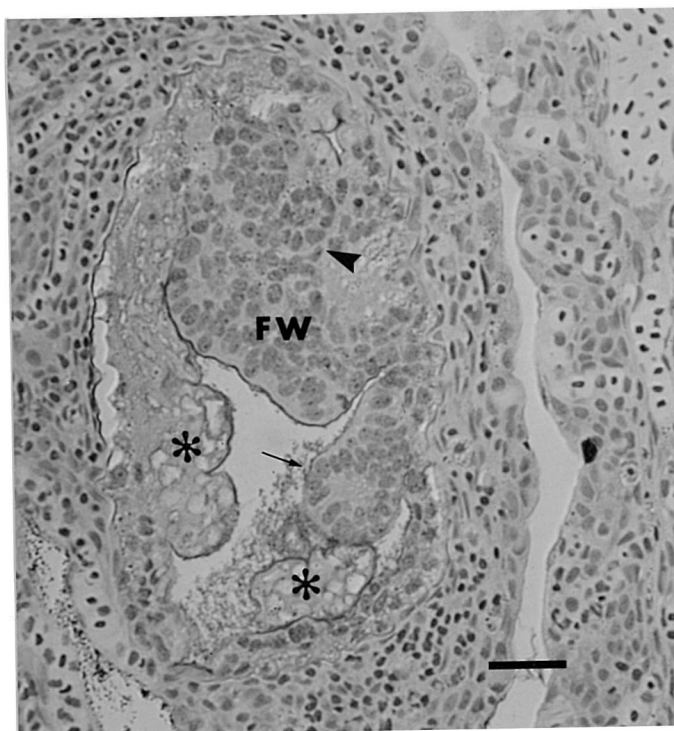


Abb. 145: schräg frontaler Semidünnschnitt, 6 Wo. n. Encyst., Kiemenpapille = Pfeil, Darmrohr = >, larvaler Mantel = Stern, FW = Fußwulst, PAS, Maßstab 30µm

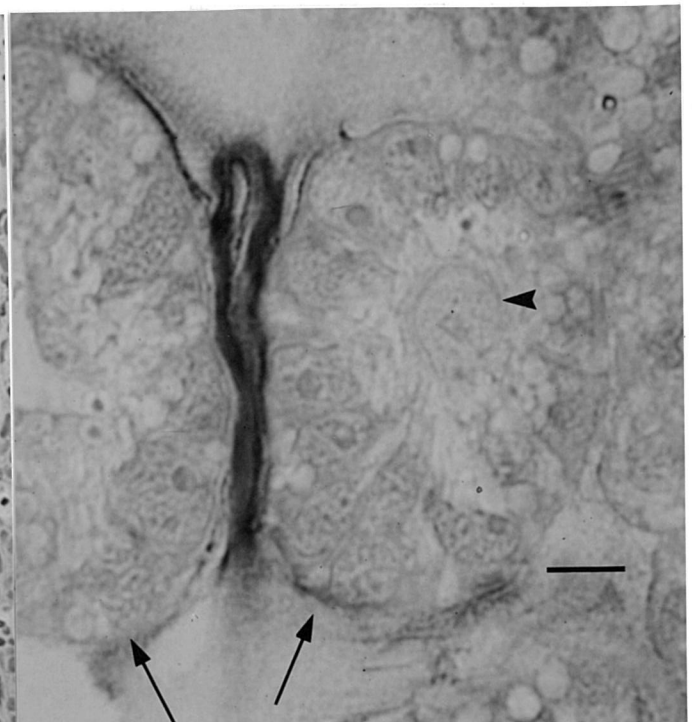


Abb. 146: Querschnitt durch die Kiemenpapille, 6 Mo. n. Encyst., Kiemenpapillen = Pfeil, hinterer Schließmuskel = kurzer Pfeil, mittlere Zelle = >, Ziehl-Neelsen, Maßstab 6µm

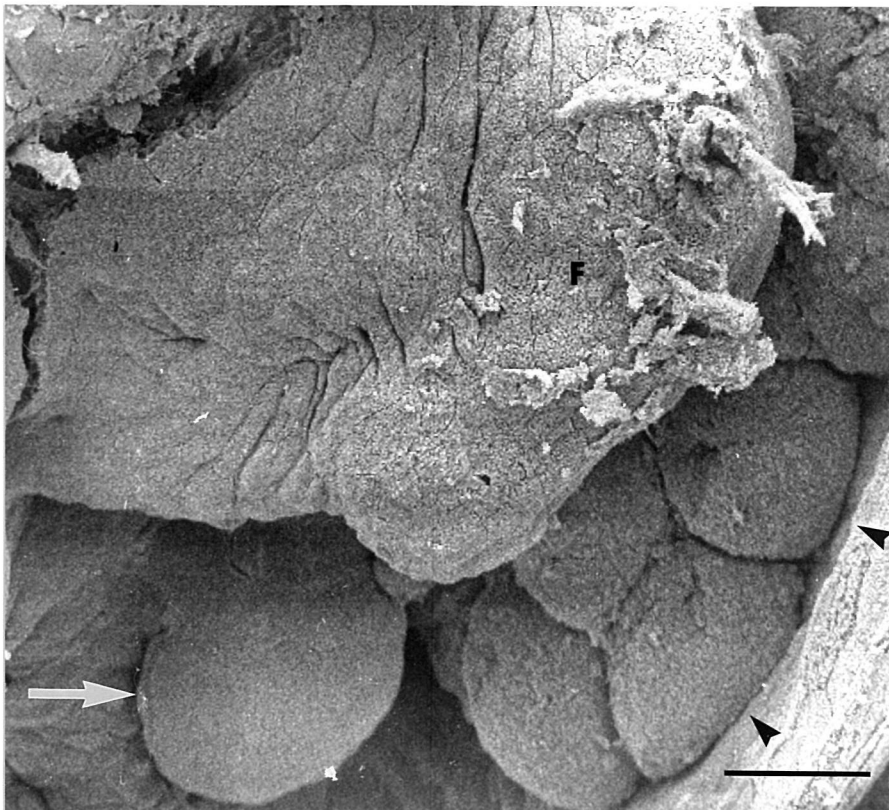


Abb. 147: Larve von *M. margaritifera* 3 Monate nach der Encystierung, Kiemenpapille = Pfeil, Fuß = F (durch Auflagerungen verunreinigt), die > zeigen auf die larvalen Mantelzellen, Maßstab 20µm

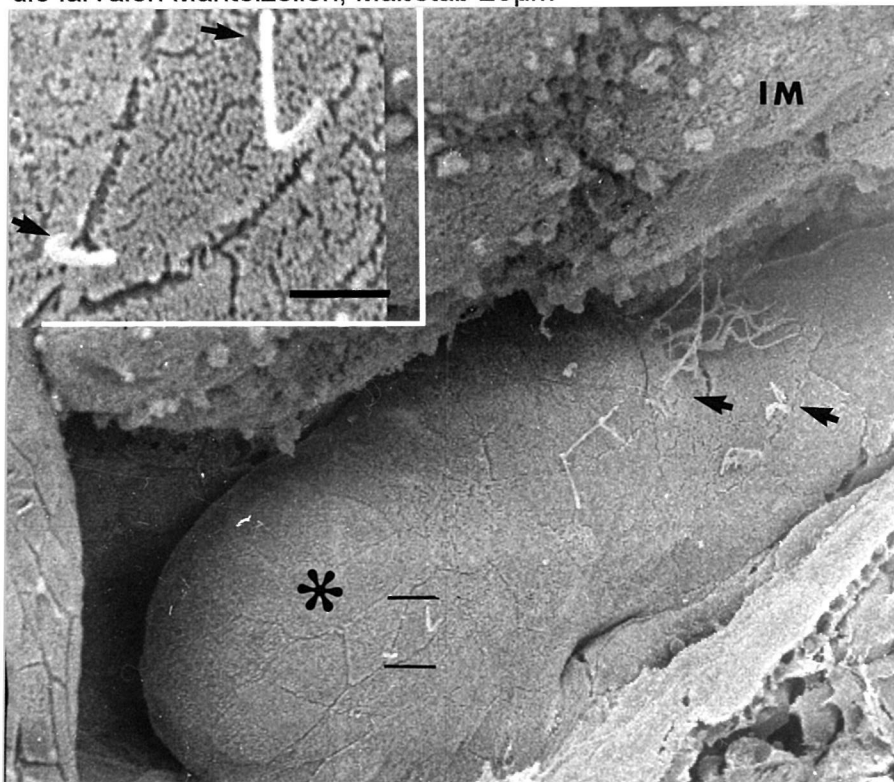


Abb. 148: wulstförmige Kiemenpapille, wie sie vom 3. - 6. Mo. n. Encyst. vorkommt = Stern, (hier Januarfixierung), IM = larvaler Mantel, Cilien = Pfeil, Striche = Ausschnitt, Maßstab 2µm

3.3.6.2. Entstehen weiterer Kiemenpapillen

Ab Februar bis in den April hinein entstehen nun drei bis vier kompakte, fast halbkugelige Kiemenpapillen auf jeder Seite.

Zunächst beginnen aus den oben beschriebenen Wülsten zwei längs zur Körperachse angeordnete Ausstülpungen hervorzuwachsen. In Querschnitten zeigen diese Gebilde, daß sich um eine mittlere Zelle kreisförmig mit randständigen Kernen Zylinderepithel anordnet (s. Abb. 146). Gleichzeitig entsteht um die Spitze der ersten Papille, die zur Mitte der Larve hin lagert, ein spärlicher Cilienkranz. Die Seiten zum Hinter- und Vorderende der Larve werden ebenfalls bewimpert (s. Abb. 149, 150).

Anschließend streckt sich die zweite, hintere Kiemenpapille, und an ihrem Ende stülpt sich eine weitere nach hinten hinaus (s. Abb. 150). Bei diesen Wachstumsprozessen flacht der Mikrovillibesatz ab und verschwindet an manchen Stellen der Zelloberflächen gänzlich (s. Abb. 151, 152). Vermutlich vergrößern sich die Zellen zunächst, wodurch die Mikrovilli flacher werden bzw. verschwinden, um sich anschließend zu teilen.

Bei der Mehrzahl der untersuchten Larven bildet sich auf dieselbe Weise ein viertes Paar Kiemenpapillen hinten aus dem dritten (s. Abb. 153), ein geringerer Anteil verläßt den Wirtsfisch mit je drei Kiemenanlagen auf jeder Seite.

Sind die Kiemenpapillen angelegt, verdichtet sich der Cilienkranz an ihrer Spitze und tritt in Kontakt zum am Schalenrand gelegenen Wimpernband des definitiven Mantels (s. Abb. 154).

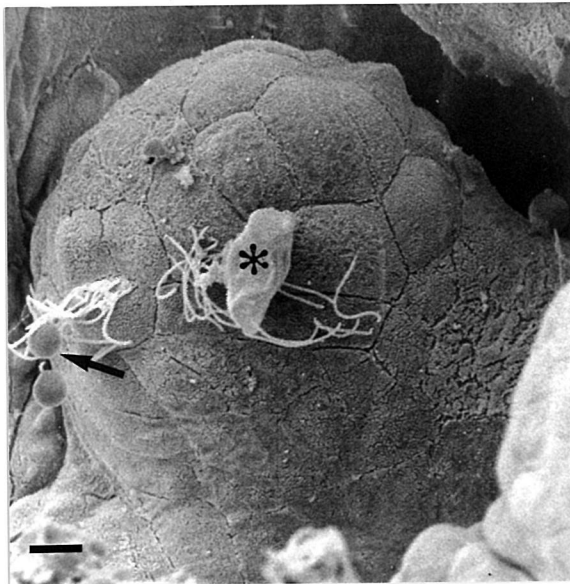


Abb. 149: Kiemenpapille des ersten Paares (zur Mitte der Larve hin gelagert), Partikeltransport = Pfeil, 7 Mo. nach der Encystierung, vermutlich Verunreinigung = Stern, Maßstab 5µm

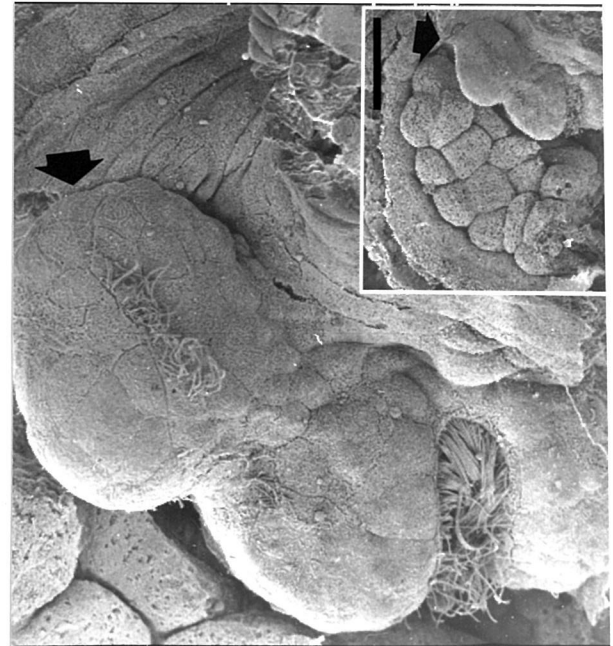


Abb. 150: Aufsicht von innen auf die rechten Kiemenpapillen 7 Mo. nach der Encystierung, Ausstülpung für die 4. Kiemenpapille = Pfeil, Maßstab 50µm

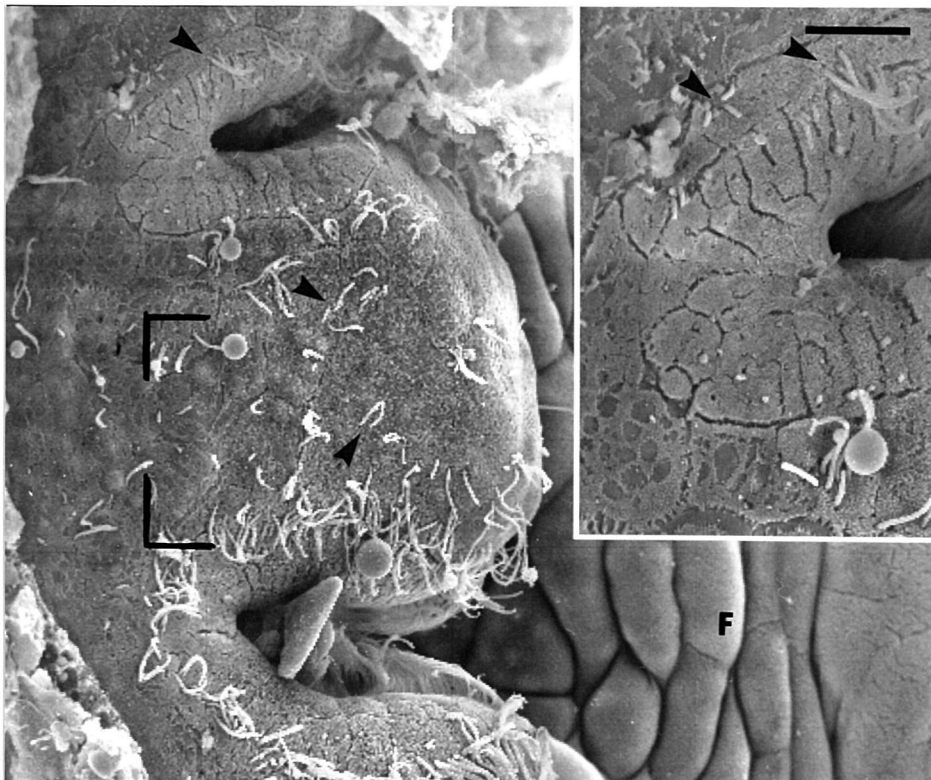


Abb. 151: Aufsicht von außen auf Kiemenpapillen von *M. margaritifera*, 7 Mo. nach der Encystierung, beginnende Bewimperung = >, F = Fuß, Winkel s. Abb. 152, Maßstab 5µm

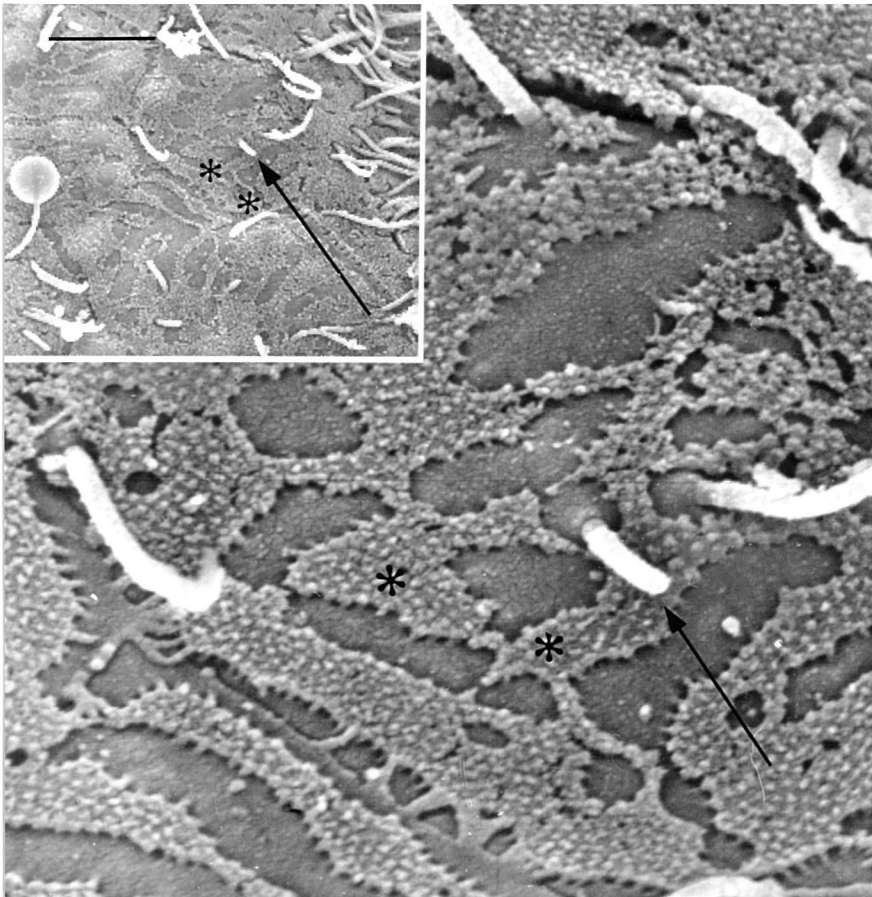


Abb. 152: Ausschnitt aus Abb. 151, kurze Mikrovilli = Stern, dazwischen glatte Zelloberfläche, die beiden Pfeile markieren dieselbe Cilie in der Abb. und der Übersicht im Kasten oben re., Maßstab 5µm

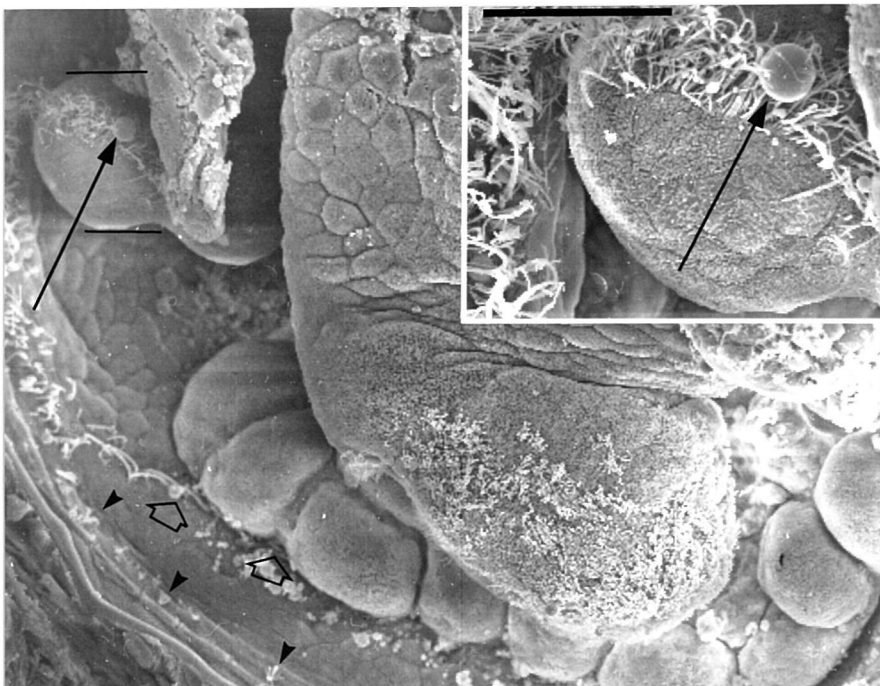


Abb. 153: Partikeltransport auf dem Cilienkranz der Kiemenpapillen = Pfeil, Wimperband des Schalenrandes = >, Wimperband am larvalen Mantel = kurzer Pfeil, 7 Mo. n. Encyst., Striche = Ausschnitt, Maßstab 20µm

3.3.6.3. Entstehen der Jungmuschelkiemen

Nachdem sich drei bis vier Kiemenpapillen geformt haben - dieser Prozeß endet im siebten bis achten Monat nach der Encystierung - beginnt ihr Längenwachstum Richtung Schalenrand. Vom larvalen Mantel sind ab April lediglich noch Reste vorhanden, die von den Kiemenanlagen verdrängt werden. Der Cilienkranz um ihre Spitze wird dichter, starke Bewimperung zwischen den Papillen und zur Außenseite zum Mantel hin entsteht.

Reife Larven von *M. margaritifera* kurz vor dem Verlassen des Wirtsfischs und Jungmuscheln zeigen folgendes Bild. Drei bis vier Paare von langgestreckten Kiemenpapillen sind vorhanden. Ihre Innenseite trägt Mikrovillibesatz und einen Cilienkranz am ventralen Ende (s. Abb. 154, 155). Die zum Mantel gerichtete Seite und die zur Nachbarpapille zeigt Bewimperung (s. Abb. 156). Auf den äußeren seitlichen Kanten ist sie in besonderer Weise angeordnet. Quer zum Kantenverlauf zeigen sich mehrere Cilien hintereinander aufgereiht, und ihre Enden krümmen sich - zumindest in fixiertem Zustand - stets zum Mantel hin (s. Abb. 157).

3.3.6.4 Zusammenfassung zur Kiemenentwicklung

Im Differenzierungsstadium I: Kiemenanlagen nicht nachweisbar

Im Differenzierungsstadium II: Kiemenpapillenanlagen als halbkreisförmige paarige Zellansammlung im hinteren Drittel vorhanden

Im Differenzierungsstadium III: Kiemenanlagen als paarige Papillen vorhanden, die tropfenförmig oder als Wulst ausgebildet sein können

Im Differenzierungsstadium IV: Kiemenanlagen in Form von drei bis vier paarigen Kiemenpapillen vorhanden, Cilienkranz an ihrem apikalen Ende

Jungmuschelstadium: drei bis vier Kiemenpapillen, die zum Mantel hin dichte Bewimperung tragen, Cilienkranz am apikalen Ende

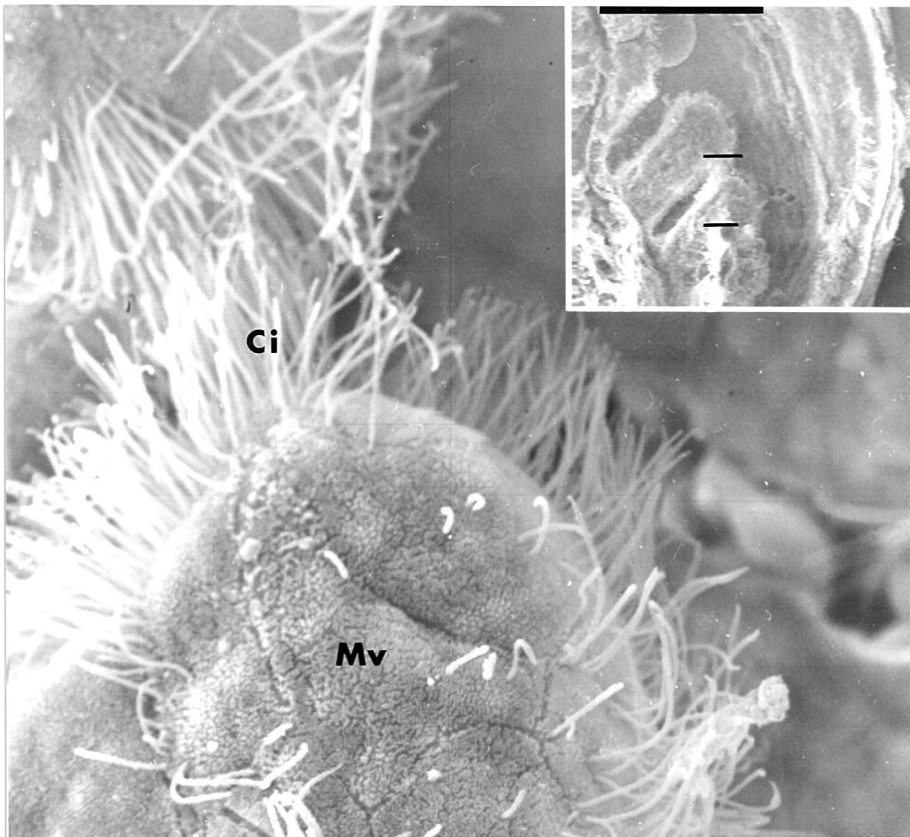


Abb. 154: Spitze der Kiemenpapille von *M. margaritifera* kurz vor Ende der parasitären Phase, Mikrovilli = Mv, Cilien = Ci, Maßstab 100µm

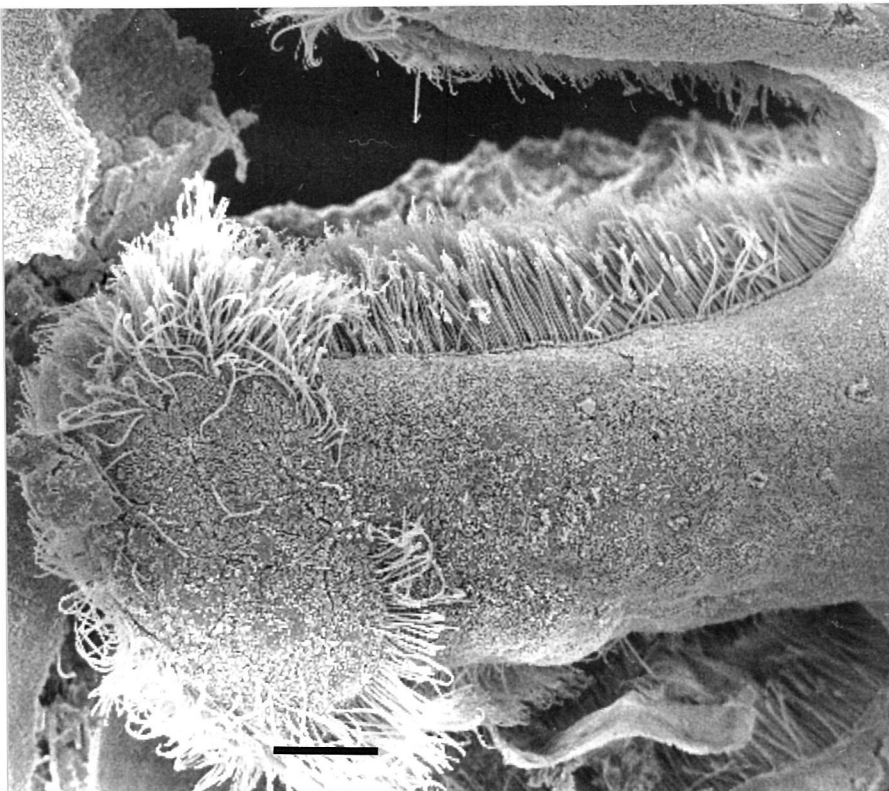


Abb. 155: Aufsicht von innen auf eine Kiemenpapille einer *Margaritifera*-Jungmuschel, Maßstab 10µm

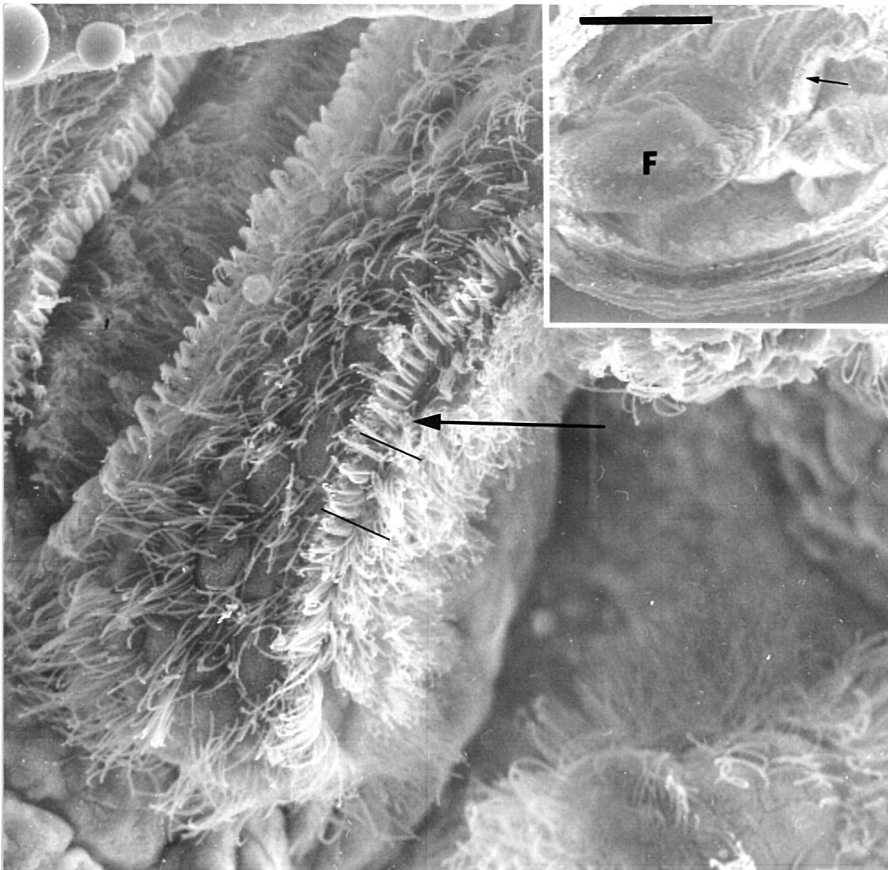


Abb. 156: Aufsicht auf die Außenseite der rechten Kieme einer Jungmuschel, gekrümmte Cilien der seitlichen Außenränder = Pfeil, Fuß = F, Striche siehe Abb. 157, Maßstab 100µm

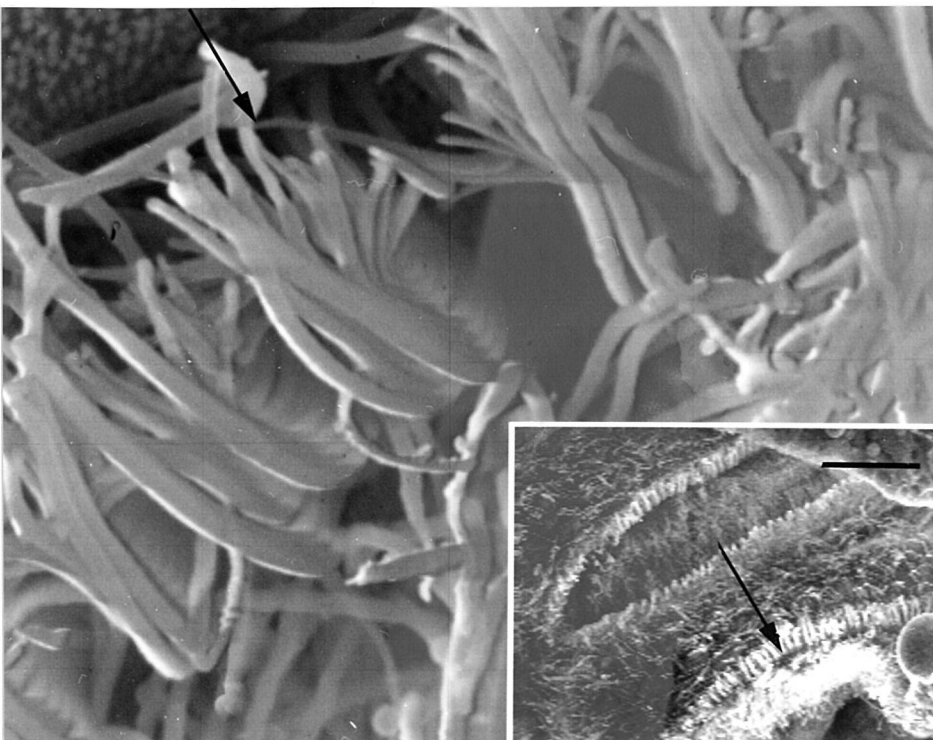


Abb. 157: Ausschnitt aus Abb. 156, gekrümmte Cilienreihen der seitlichen Außenränder = Pfeil, Maßstab 20µm

3.3.7. Vorderer und hinterer Schließmuskel, Schalenrandregion

Schnappt die Glochidie am Kiemenblättchen zu, so befinden sich wenige Zellen in der Larve und die Schalenränder haften im Wirtsgewebe (s. Abb. 99). Der glochidiale Schließmuskel stellt sich als kräftiger Strang dar (s. Abb. 100), der bald nicht mehr nachzuweisen ist.

3.3.7.1. Vorderer und hinterer Schließmuskel

In den ersten Wochen nach der Encystierung lassen sich die beiden Schließmuskeln histologisch nicht erfassen. Nach dreimonatigem Parasitieren stellt sich der Vordere als relativ großer runder Strang und der Hintere als schmales Band dar (s. Abb. 158). Dieser Größenunterschied hebt sich im Verlauf der Metamorphose auf. Schneidet man die Muschellarve längs zwischen den Schalen auf, dann durchtrennt man die Schließmuskeln quer. So durchteilt und im REM dargestellt, zeigen sich beide in mehreren Strängen gebündelt (s. Abb. 118). In der Jungmuschel zeigt er unter der abgetrennten Schale in der Aufsicht von außen netzartig verbundene Zellen, die den Muskelzellen aufsitzen und vermutlich eine Haftfunktion zu dieser ausüben (s. Abb. 158).

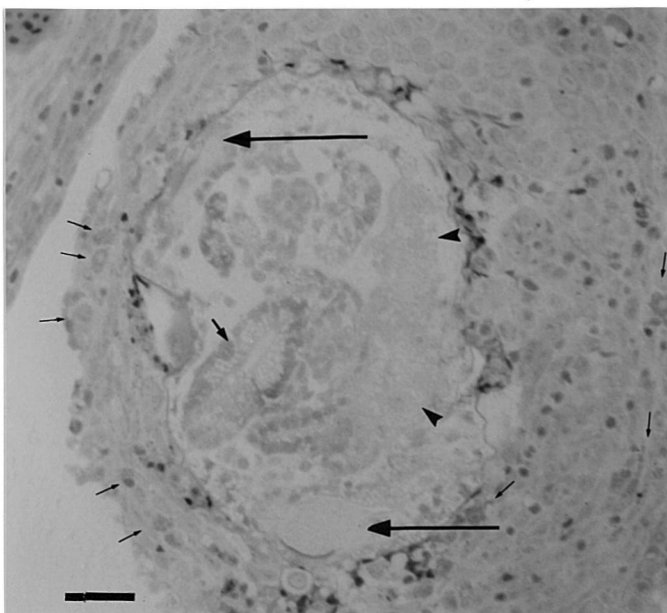


Abb. 158: 3 Mo. n. Encyst., vorderer (größerer) und hinterer Schließmuskel = Pfeil, larvaler Mantel = >, Mitteldarmdrüse = kurzer Pfeil, Granulozyten = dünne Pfeile, Ziehl-Neelsen, Maßstab 30µm

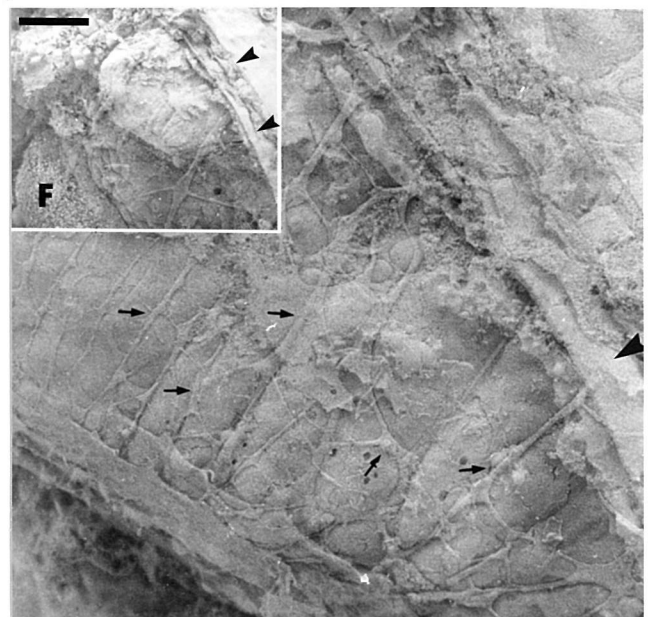


Abb. 159: vorderer Schließmuskel der Jungmuschel bei abgetrennter Schale, netzartiges Gewebe = Pfeil, Schalenanschnitt = >, Fuß = F, Maßstab 50µm

3.3.7.2. Homogenes Material zwischen den beiden Schalenrändern

Wie bereits erwähnt "beißt" die Perlmuschellarve bei der Encystierung ins Kiemengewebe hinein und eine oder mehrere Zellen bleiben zwischen ihren Schalenrändern eingeklemmt. Auch im weiteren Verlauf der parasitären Phase von *Margaritifera margaritifera* sind in diesem Bereich, der Kontaktstelle zum Wirtsfisch, Vorgänge zu beobachten.

Bereits nach sechswöchiger Encystierungszeit zeigt sich am ventralen Schalenrand auf Frontalschnitten eine Art Pfropf, der sich PAS positiv anfärbt (s. Abb. 101). Dieses Gebilde ist in unterschiedlicher Dicke während der gesamten parasitären Phase der Flußperlmuschel zu beobachten (s. Abb. 160).

3.3.7.3. Partikelabschürung vom Schalenrand

Sechs Monate nach der Encystierung können histologisch im Längsschnitt tropfenförmige Partikelabschnürungen ins Innere der Perlmuschellarve beobachtet werden (s. Abb. 161). Rasterelektronenmikroskopisch stellen sich diese Gebilde als relativ große, 10 bis 15 μm messende Tropfen dar (s. Abb. 162). Histologisch nicht nachweisbar, aber im Raster häufig zu sehen, sind wesentlich kleinere Partikel, die sich zwischen den beiden Schalen nach innen abzusondern scheinen. Sie treten vom dritten bis zum neunten Encystierungsmonat auf, also auch im Dezember und Januar. Ihr Durchmesser beträgt 1-2 μm , und sie stehen häufig in Kontakt zum Cilienband des Schalenrandes (s. Abb. 163).

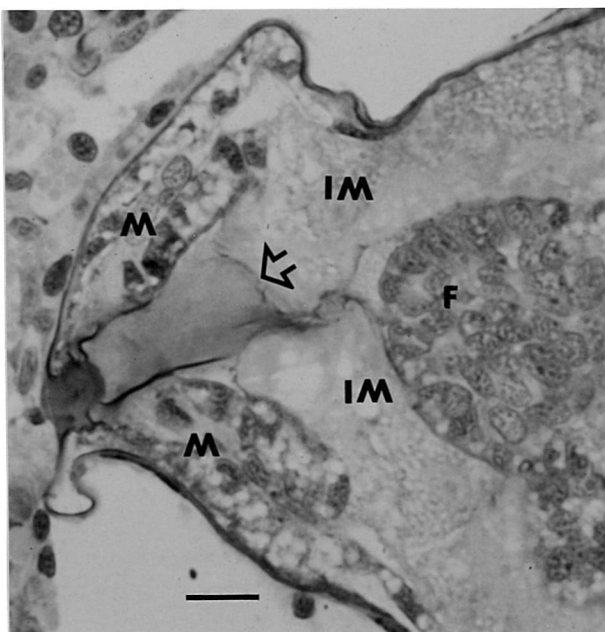


Abb. 160: Frontalschnitt, 7 Mo. n. Encyst., Pfropf = Pfeil, F = Fuß, IM = larvaler Mantel, M = definitiver Mantel, Pappenheim, Maßstab 15 μm

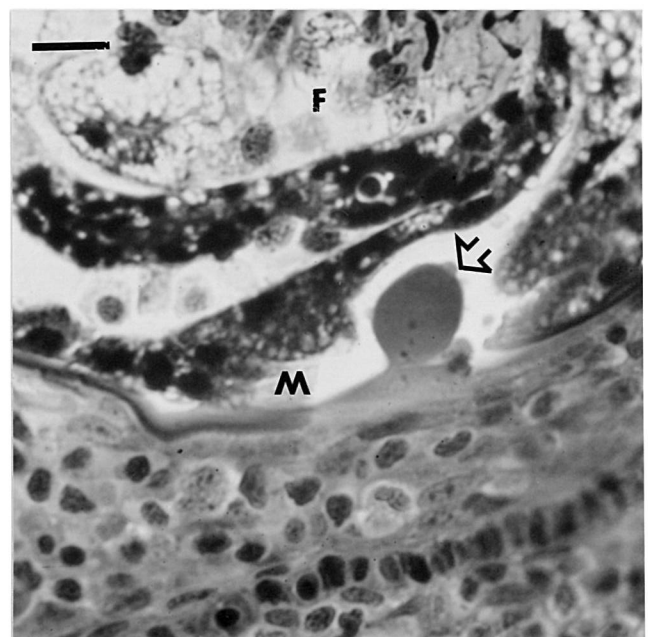


Abb. 161: Längsschnitt, 7 Mo. n. Encyst., Partikelabschnürung = Pfeil, M = definitiver Mantel, F = Fuß, Maßstab 15 μm

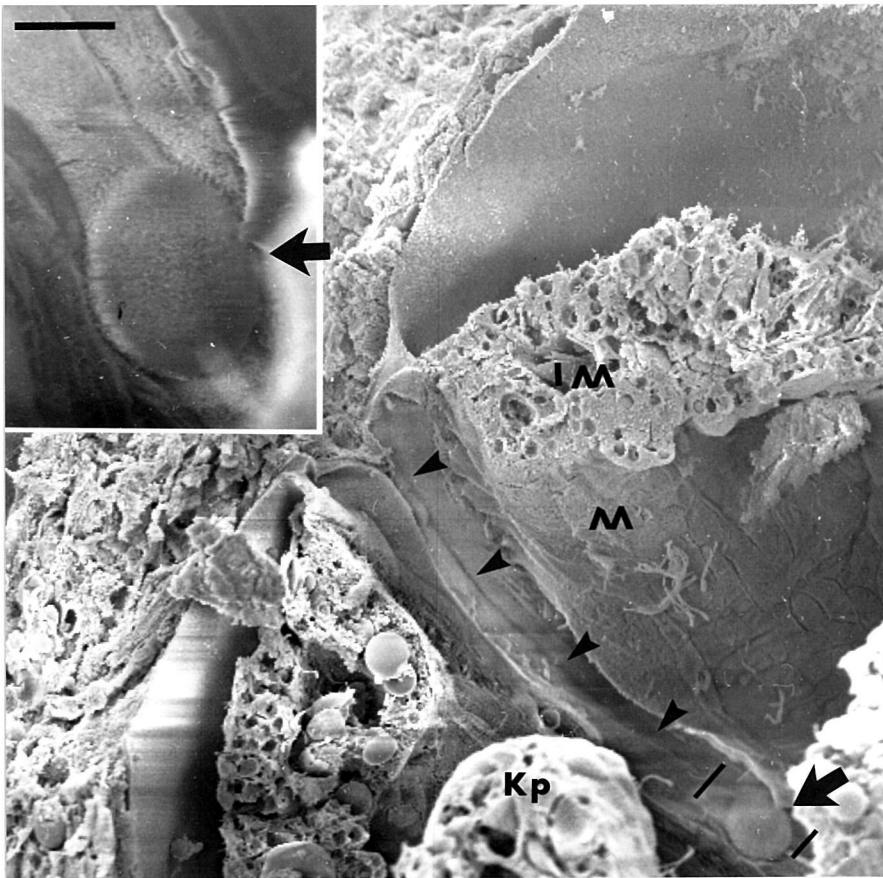


Abb. 162: Spalt zwischen den beiden Schalen = >, 6 Mo. n. Encyst., tropfenförmiges Gebilde = Pfeil, Kp = Kiemenpapille, larvaler Mantel = IM, definitiver Mantel = M, Maßstab 5µm

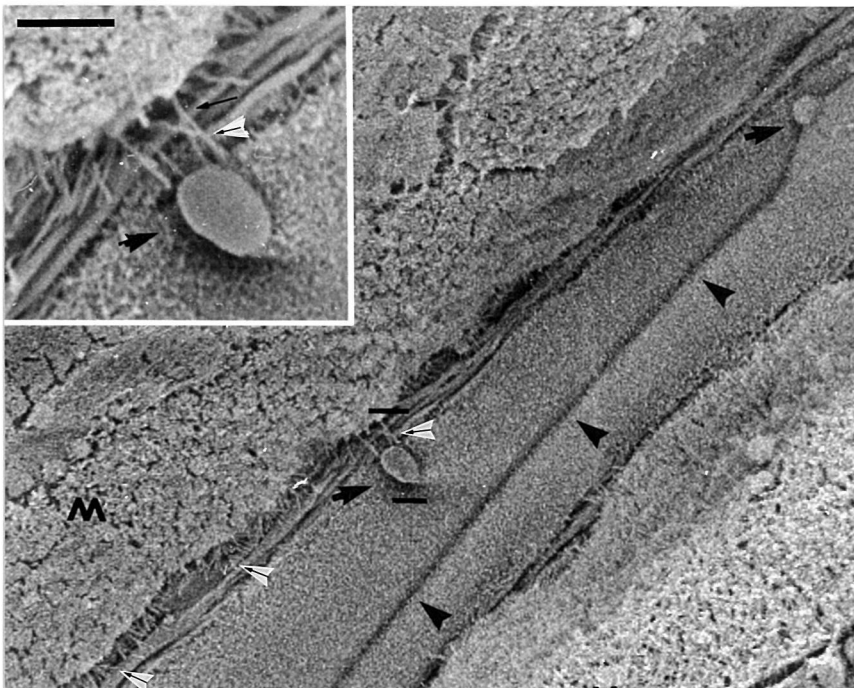


Abb. 163: 5 Mo. n. Encyst., Spalt zwischen den Schalen = >, sich abschnürende Partikel = kurze Pfeile, Balken = Ausschnitt, Cilien = dünne Pfeile weiß unterlegt, M = definitiver Mantel, Maßstab 2µm

3.3.8. Reaktionen des Wirtsgewebes

Wie bereits unter 3.2.1.6. beschrieben bildet das Kiemengewebe zwei Formen von Cysten aus. Der an den Kiemenblättchen entstehende Typus, bei dem die Glochidien gleichsam eingewickelt werden, stellt schon deswegen den häufigsten dar, weil die Blättchen in ihrer Gesamtheit die weitaus größere Anhaftfläche bieten.

3.3.8.1. Granulozyten in der Nähe der Margaritifera-Larven

In beiden Cystenformen treten vermehrt große granuliert Zellen im Fischgewebe auf (s. Abb. 111), deren Granula sich mit der Ziehl-Neelsen-Färbung intensiv rot anfärben (s. Abb. 158, 164) und deshalb als Makrophagen gedeutet werden können (UHR 1992 mdl.). Genauso große und genauso angefärbte Granula findet man bisweilen an der Schale und am Schalenrand der Margaritifera-Larve aufgereiht (s. Abb. 164). Auf beide Phänomene, nämlich vermehrt Granulozyten in der Nähe der Perlmuschellarven und an deren Schale angeschmiegte Granula, trifft man im gesamten Verlauf ihrer parasitären Phase. Ultradünn geschnitten ist bisweilen zu beobachten, daß sich Granulozyten in Richtung Parasit durch das Cystengewebe schieben (s. Abb. 165). Bei 9400facher Vergrößerung kann man an manchen Präparaten sehen, daß ein solcher Leukozyt offenbar einen Teil seines Plasmas durch einen „Engpaß“ schiebt, um vermutlich danach den Anteil des Zellkörpers, der den Kern enthält, nachzuziehen (s. Abb. 166).

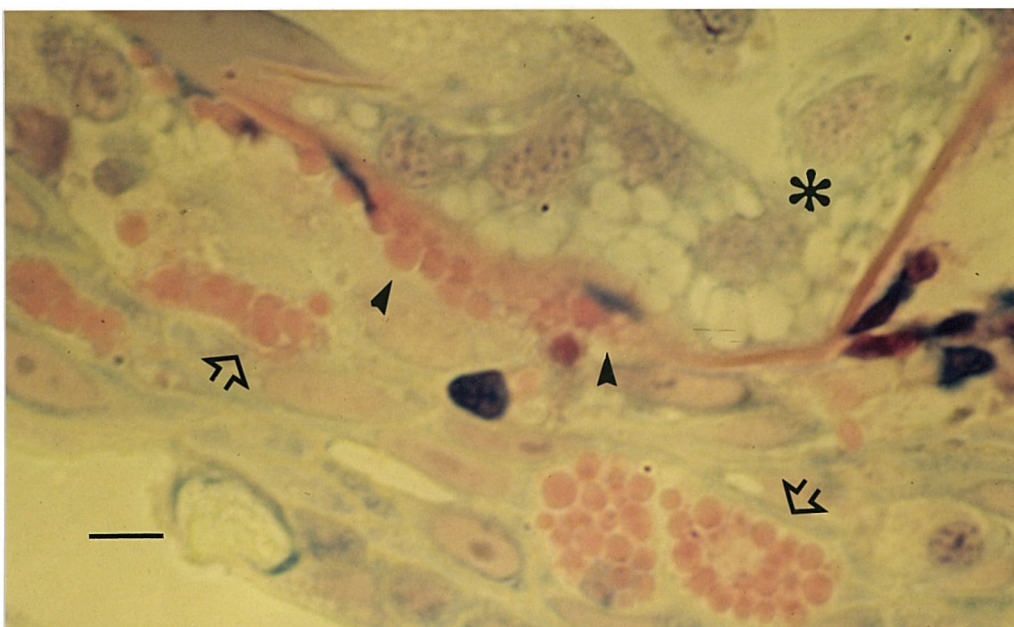


Abb. 164: Schalenrand einer *Margaritifera*-Larve 3 Mo. n. Encyst., Granulozyten im Wirtsfischgewebe = Pfeil, Granula aufgereiht am Schalenrand = >, Gewebe der *Margaritifera*-Larve = Stern, Maßstab 6µm

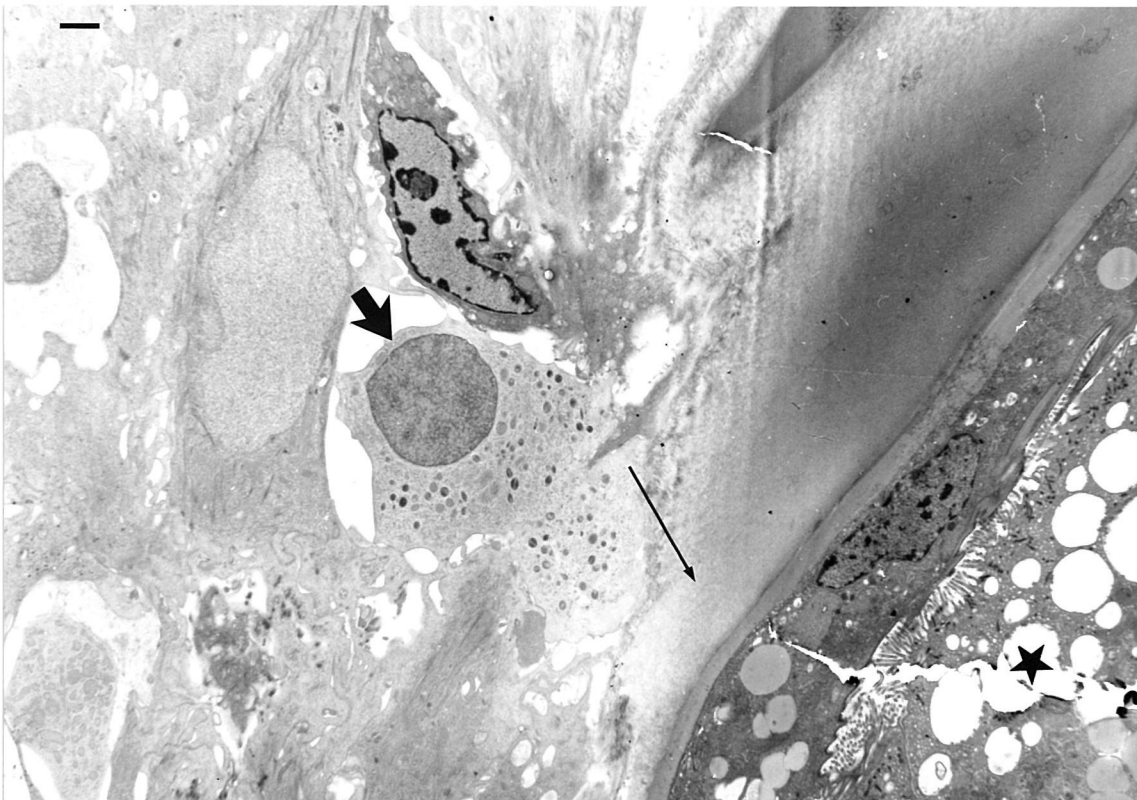


Abb. 165: Ultradünnschnitt der Cyste 3 Mo. n. Encyst. der Perlmuschellarve, Granulocyt = Pfeil, Perlmuschellarve = Stern, vermutliche Bewegungsrichtung des Granulocytens = dünner Pfeil, Maßstab 5 μ m

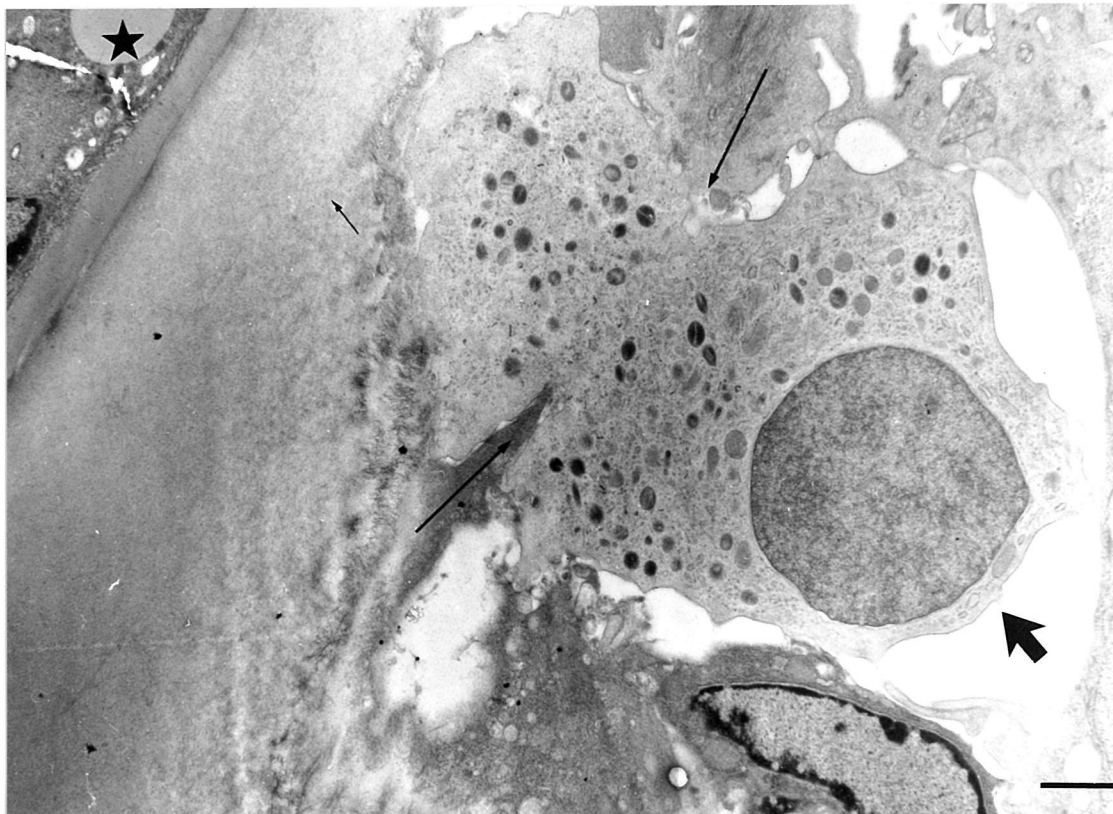


Abb. 166: dieselbe Zelle wie in Abb. 165 = Pfeil, Perlmuschellarve = Stern, vermutliche Bewegungsrichtung des Granulocytens = kleiner dünner Pfeil, Einschnürungen im Zelleib = lange dünne Pfeile, Maßstab 10 μ m

3.3.8.2. Aufreißen der Cyste und deren Rest am Ende der parasitären Phase

Kurz bevor die junge Flußperlmuschel den Wirtsfisch verläßt, bekommt die Cyste regelrecht Risse. Relativ große Epithelverbände scheinen sich fetzenartig abzutrennen. An manchen Perlmuschellarven scheinen schuppenartig die Fischepithelien haften zu bleiben (s. Abb. 167).

Hat die Jungmuschel die Kieme des Wirts verlassen, bleibt lediglich eine glatte Einbuchtung zurück, deren Ränder etwas zerfetzt erscheinen (s. Abb. 168).



Abb. 167: aufgerissene Cysten am Ende der parasitären Phase der Flußperlmuschel, Risse im Fischepithel = Pfeil, Jungmuschel = Stern, Abrißrand des Fischepithels = >, Epithelreste auf der Jungmuschel = E, Maßstab 50µm

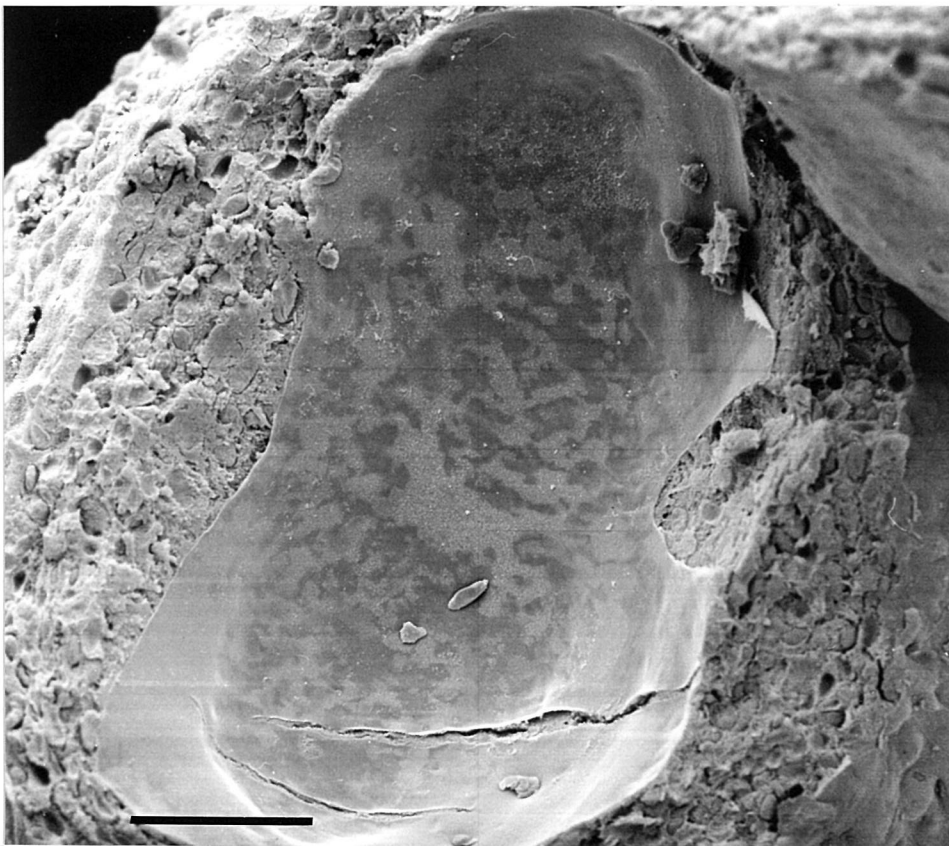


Abb. 168: Cystenrest bei bereits abgefallener Jungmuschel, Maßstab 50µm

3.3.9. Zusammenfassung der Larvalentwicklung von *Margaritifera margaritifera*

Trotz individueller Schwankungen lassen sich im Entwicklungsverlauf 5 Stadien unterscheiden:

3.3.9.1. Differenzierungsstadium I:

Zeitraum: vierte bis sechste Woche nach der Encystierung

Mantel: hauptsächlich larvaler Mantel, wenige definitive Zellen am Schalenrand

Magen-Darmkanal: Darmrohr aus einschichtigem Epithel und rundem Lumen

Fuß: Fußwulst als ein- bis zweischichtiges Zylinderepithel

Kiemen: nicht nachweisbar

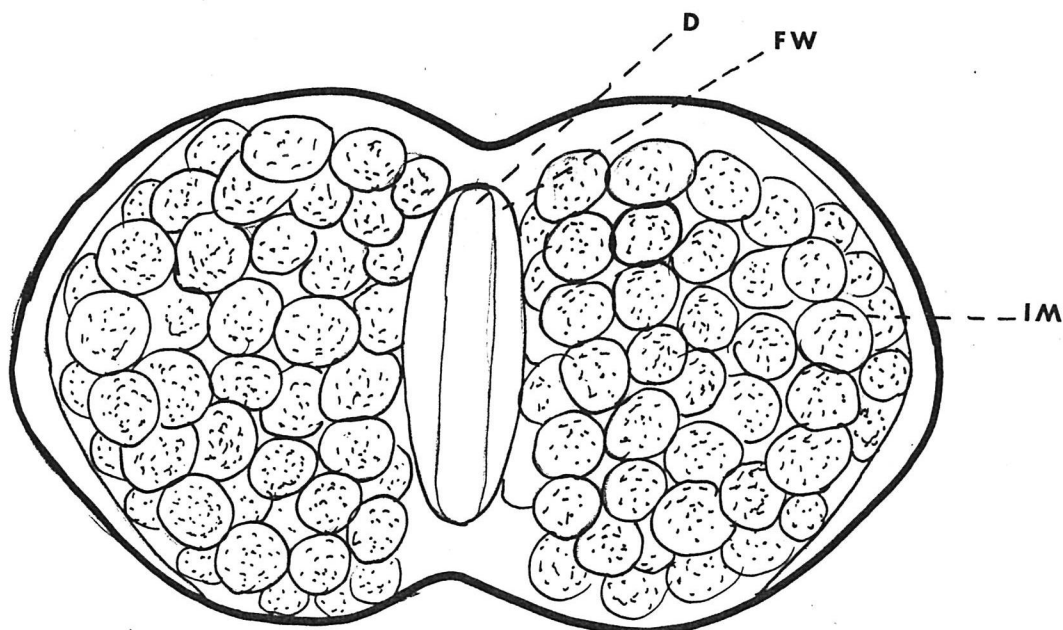


Abb. 169: *Margaritifera* - Larve, Stadium I, D = Darmrohr, FW = Fußwulst, IM = larvaler Mantel

3.3.9.2. Differenzierungsstadium II

Zeitraum: sechste bis achte Woche häufig, seltener bis zum 3. Monat nach der Encystierung

Mantel: hauptsächlich larvaler Mantel, Streifen von definitiven Mantelzellen am Schalenrand

Magen-Darmkanal: flaches breites Lumen im vorderen Drittel der Larve oder dort doppellumig

Fuß: flacher Fußwulst aus 3-4 Zellschichten

Kiemen: Papillenanlage als halbkreisförmige Zellansammlung im hinteren Drittel vorhanden

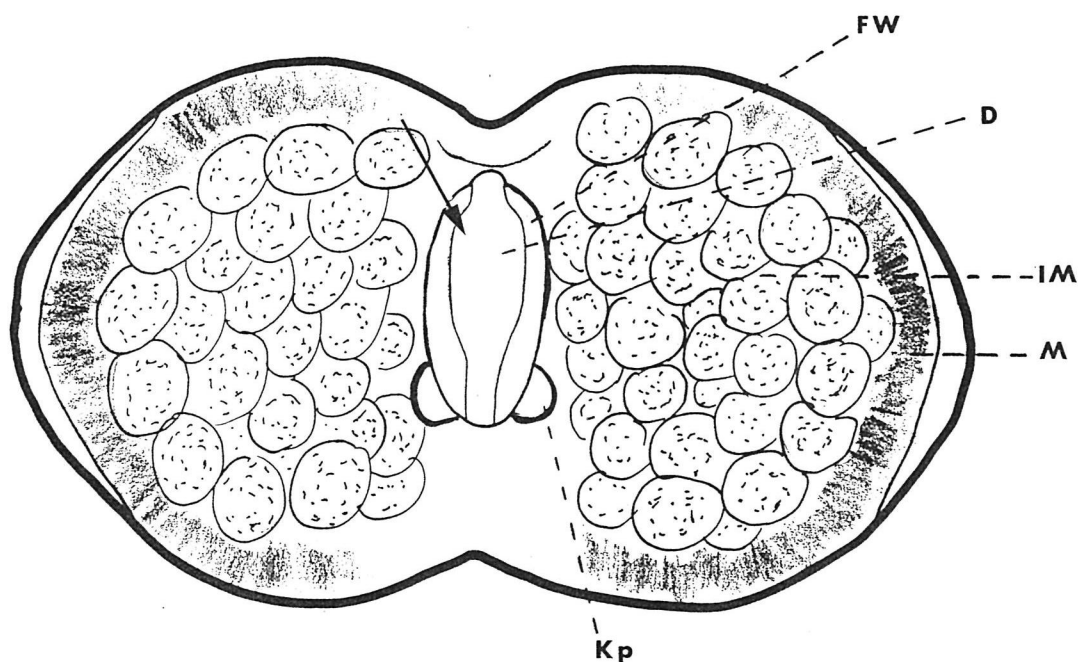


Abb. 170: *Margaritifera* - Larve, Stadium II, verbreitertes oder doppellumiges Darmrohr als Anlage von Mitteldarmdrüse und Magen = D, FW = Fußwulst, Kp = Kiemenpapille, IM = larvaler Mantel, M = definitiver Mantel

3.3.9.3. Differenzierungsstadium III

Zeitraum: reichlich vorkommend nach 3 Mo. Encystierungszeit, seltener auch noch im Februar auftretend

Mantel: larvaler Mantel beginnt sich zum pilzförmiger Körper umzubilden, definitiver Mantel als Streifen am Schalenrand, zwei Cilienreihen

Magen-Darmkanal: Mitteldarmdrüse ausgebildet, Magen als Rohr mit etwas größerem Durchmesser erkennbar, Mund und Mundschild vorhanden

Fuß: pflaumenförmiger Fußwulst mit längs gerichteter Einsenkung, unpaare runde Zellansammlung zwischen den beiden Anteilen der Mitteldarmdrüse, die als Anlage des Pedalganglions gedeutet werden könnte; paarig ähnliche Gebilde dorsal im Fuß, vermutlich Anlagen der Statocysten

Kiemen: paarige Kiemenpapillen, die tropfenförmig oder als Wulst ausgebildet sein können

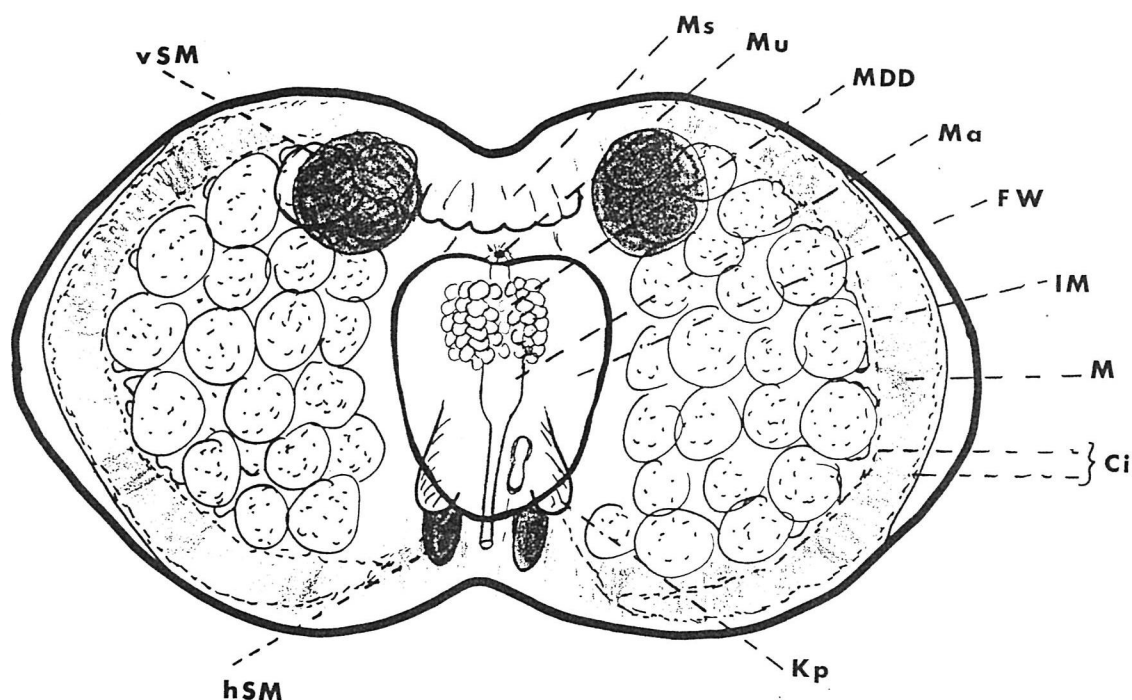


Abb. 171: *Margaritifera* - Larve, Stadium III, Ci = Cilienbänder des definitiven Mantels, FW = Fußwulst, Kp = Kiemenpapille, IM = larvaler Mantel, Ma = Magen, M = definitiver Mantel, MDD = Mitteldarmdrüse, Ms = Mundschild, Mu = Mund, hSM = hinterer Schließmuskel, vSM = vorderer Schließmuskel

3.3.9.4. Differenzierungsstadium IV

Zeitraum: häufig 6-7Mo. nach der Encystierung vorkommend, seltener noch im 8. Mo.

Mantel: larvaler Mantel als pilzförmiger Körper oder zusammengedrückt zwischen Kiemenpapillen, Fuß und definitivem Mantel als Rest noch vorhanden; definitives Mantelgewebe als breiter Streifen, 3 Cilienbänder kommen vor, einer am Rand des larvalen Mantelgewebes, zwei parallel am Schalenrand

Magen-Darmkanal: beflimmerte Mundlappen vorhanden, große Mitteldarmdrüse mit runden Einlagerungen, Magen großlumig mit homogenem Inhalt, Ösophagus und Enddarm kleinlumig

Fuß: beginnender Cilienbesatz an der Sohle, Statocysten als blasige Gebilde nachweisbar, Pedalganglion vorhanden

Kiemen: drei bis vier Kiemenpapillen vorhanden, Cilienkranz an ihrem apikalen Ende

Zwei miteinander in Verbindung stehende Bläschen können in der hinteren Hälfte der Larve und dort an die Mitte des Tieres angrenzend nachgewiesen werden. vermutlich handelt es sich hier um die Herz-, Pericard-, Nierenanlage.

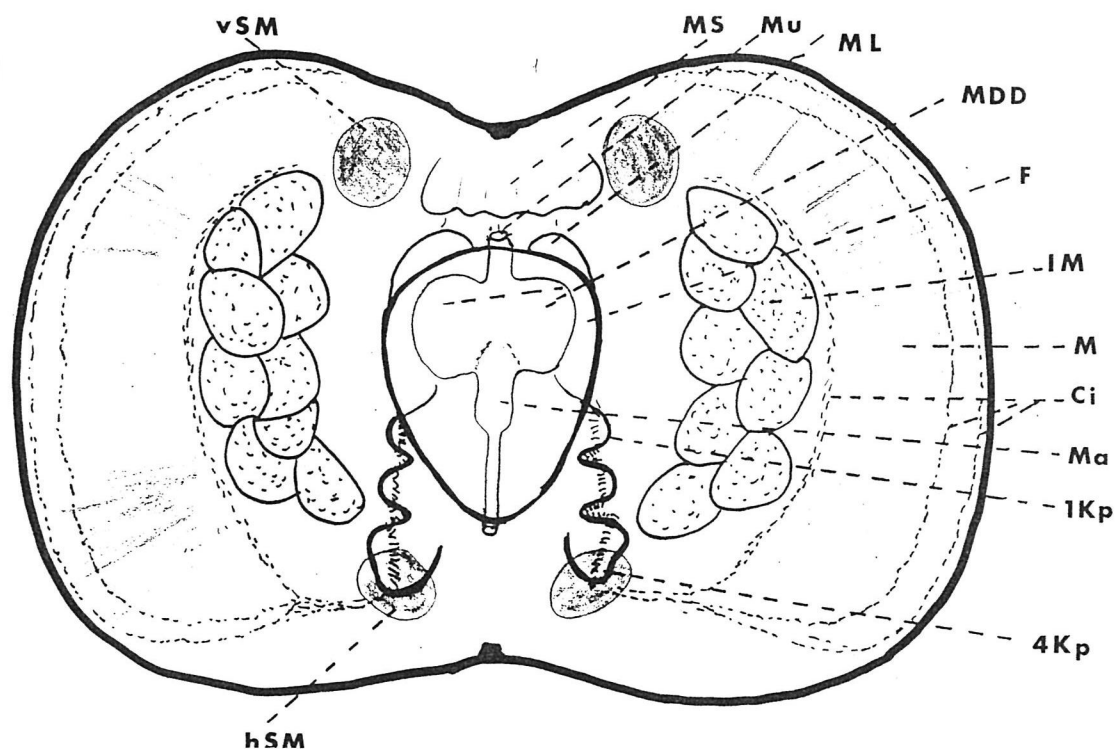


Abb. 172: *Margaritifera* - Larve, Stadium IV, Ci = Cilienbänder des definitiven Mantels, F = Fuß, 1Kp u. 4Kp = 1. u. 4. Kiemenpapille, IM = larvaler Mantel, M = definitiver Mantel, ML = Mundlappen, Ms = Mundschild, Mu = Mund, hSM = hinterer Schließmuskel, vSM = vorderer Schließmuskel

3.3.9.5. Jungmuschelstadium

Zeitraum: neunter bis zehnter Monat nach der Encystierung

Mantel: ausschließlich definitiver Mantel mit drei Cilienbändern, starke Bewimperung am Hinterende, am Vorderende ein Saum aus sinnesborstenartigen Gebilden

Magen-Darmkanal: Mundschild und Mundlappen stark bewimpert, große Mitteldarmdrüse mit reichlich eingelagerten Konglomeraten, Magen mit Aussackung unten rechts und Wandverdickung links und oben, das Lumen ventral abgeflacht

Fuß: unterer Teil mit starker Bewimperung, die an der Kriechsohle hinten in der Mitte ausgespart ist, rudimentäre Byssusdrüse, Pedalganglion, paarige Statocysten

Kiemen: drei bis vier Kiemenpapillen, die zum Mantel hin dichte Bewimperung tragen, Cilienkranz am apikalen Ende

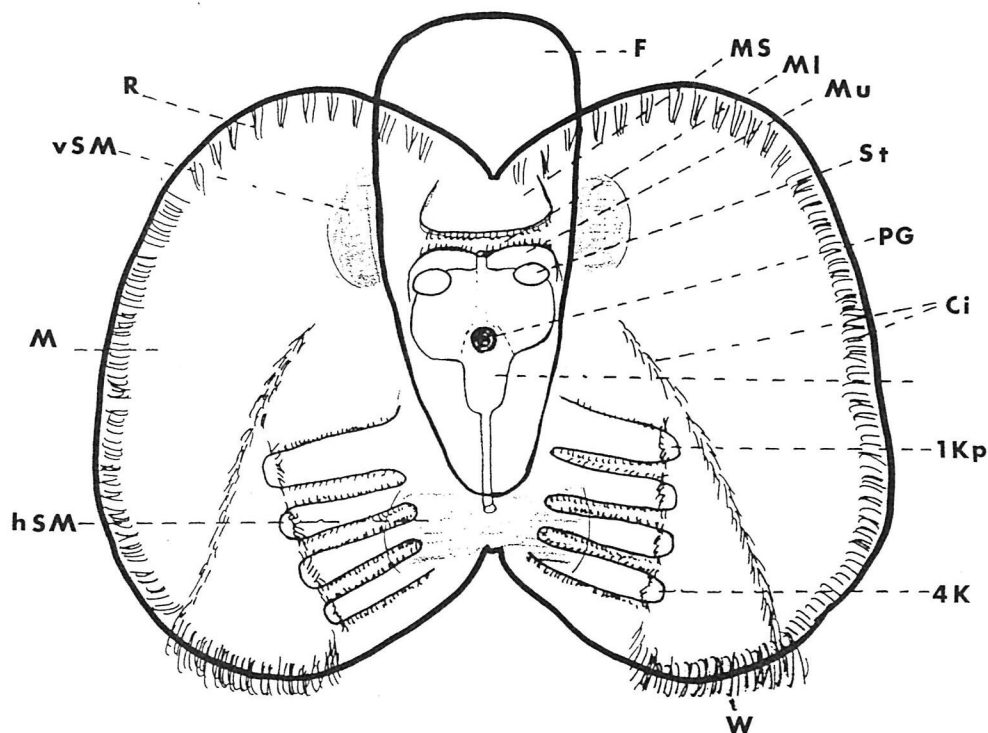


Abb. 173: *Margaritifera* -Jungmuschel, Ci = Cilienbänder des definitiven Mantels, F = Fuß, 1Kp u. 4Kp = 1. u. 4. Kiemenpapillen, M = definitiver Mantel, Ma = Magen, ML = Mundlappen, Ms = Mundschild, R = sinnesborstenartige Gebilde am vorderen Schalenrand, hSM = hinterer Schließmuskel, vSM = vorderer Schließmuskel, W = Bewimperung am Hinterende

4. Diskussion

Daß Glochidien die Larven der Großmuscheln sind, wurde erst 1866 von LEYDIG erkannt. Nach SCHIERHOLZ (1888) und ISRAEL (1913) beschreibt RATHKE (1797) sie als erster; er entdeckt sie in den Kiemen von *Anodonta cygnea* und nennt sie "Glochidium parasiticum" ohne sie mit der Muschelentwicklung in Zusammenhang zu bringen. SCHIERHOLZ (1888) schreibt: "...die Entwicklungsgeschichte der Unioniden blieb in ein geheimnisvolles Dunkel gehüllt, bis die Entdeckung LEYDIG's (1866) den Schleier etwas hob. Er fand an Fischen [...] kleine Zweischaler incystirt, welche er als Najadenlarven entdeckte". Ende des vorigen und Anfang dieses Jahrhunderts folgten zur Entwicklungsgeschichte der Najaden wichtige Arbeiten, so die von RABL (1876), BRAUN (1878), SCHIERHOLZ (1888), LILLIE (1895) FAUSSEK (1903), HARMS (1909), ISRAEL (1913), HERBERS (1914), AREY (1921/23/3), KORSCHOLT und HEIDER (1936).

1) Variabilität der Glochidien

a) Schale

Glochidien entwickeln sich nach KORSCHOLT und HEIDER (1936) aus Cöloblastula und Invaginationsgastrula in Kiemenbruttaschen des mütterlichen Organismus zu zweiklappigen Larven, an deren Hinterende die Endodermanlage sitzt und Mesodermzellen vorhanden sind. Eine Trochophora fehlt völlig (PFLUGFELDER 1970). Das Glochidium wird als Sekundärlarve bezeichnet (AREY 1923, KORSCHOLT und HEIDER 1936, PFLUGFELDER 1970).

Die Schalen der Glochidien und die Haken samt den dort angebrachten Zähnen wurden bereits von verschiedenen Autoren lichtmikroskopisch beschrieben (RABL 1876, BRAUN 1878, SCHIERHOLZ 1888, FAUSSEK 1903, HARMS 1909, ISRAEL 1913, HERBERS 1914, AREY 1921/23/, KORSCHOLT und HEIDER 1936, PFLUGFELDER 1970). Untersuchungen im Rasterelektronenmikroskop liegen von GIUSTI (1973), GIUSTI & MORETTI, FARINA & RENZONI (1975) und NAGEL (1988) vor, die z. T. auf taxonomische Unterschiede hinweisen. Wie schon erwähnt wird in dieser Arbeit mit gleicher Technik eine vollständige Gegenüberstellung gegeben. Die bereits mit der Scanner-Technik dargestellten Haken, wie die von *Anodonta cygnea* (GIUSTI ET AL. 1975) und die von *Pseudanodonta complanata*, *Unio crassus* und *Unio pictorum* (NAGEL 1988) wurden miteinbezogen. Es wurde versucht, die Larven so im Elektronenstrahl zu justieren, daß er bei allen Arten im selben Winkel, senkrecht zur Hakenoberfläche, aufprallte und diese dadurch in der Aufsicht vergleichbar abgebildet wurden. Auf diese Weise dargestellt zeigt *Pseudanodonta complanata* die längsten und spitzesten Haken mit dem dichtesten Zahnbesatz, die von *Anodonta cygnea* enden lanzettförmig und die von *Anodonta anatina* laufen im spitzen Winkel von 30° aus. Die Haken von Glochidien der Gattung *Unio* münden in einem erheblich breiteren Winkel, tragen kürzere Zähne und wirken insgesamt, wie die gesamte Schale, kompakter.

Die am Schalenrand nachweisbaren und zu ihm parallel verlaufenden Rillen stellen vermutlich ein elastisches "Widerlager" zum Haken dar. Bei Glochidien, deren Schließmuskel vor der Fixierung betäubt war, standen beide Haken nach innen eingeschlagen in einem Winkel von etwa 45° vom Weichkörper ab. Bei geschlossen

fixierten Glochidien lagern sie der Mantelhöhle auf, die Zähne greifen ineinander und die Rinnen am Schalenrand scheinen sich abzuflachen, weil die Randkrümmung zunimmt. Denkbar wäre, daß dieser Effekt - das Zusammenpressen der Haken bei Schalenschluß - allein durch Schließmuskelkontraktion bewirkt wird und durch die Elastizität des Schalenrands rein mechanisch möglich ist, weil er sich in eine stärkere Krümmung biegen läßt.

Schalenhaken fehlen bei *Margaritifera*. Die Beziehungen zwischen Differenzierungen am Rand der Glochidienschalen und Hautstruktur der bevorzugten Wirtsfische wurden bisher nicht genau analysiert. Insgesamt gilt, daß die *Margaritifera*-Glochidien, denen Haken und Zähne fehlen, ausschließlich am Kiemenepithel encystieren, während die Larven von *Unio*, *Anodonta* und *Pseudanodonta* sich außer am Kiemengewebe weitgehend auf der ganzen Fiscoberfläche anhaften können. Eine erfolgreiche Entwicklung zur Jungmuschel durchlaufen *Unio*-Glochidien jedoch fast nur bei Kiemenencystierung (BEDNARCZUK 1986, ENGEL 1990, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990). Bei den Arten mit den größten Haken, Anodonten und Pseudanodonta, werden die Flossen als Anhaftungsort bevorzugt (HÜBY 1988, NIEMEYER 1993), beißen sie in Kiemengewebe, zerreißt es und sie können fortgespült werden (YOUNG 1911, BISCHOFF 1987).

b) Weichkörper

Alle *Unionacea*-Glochidien tragen auf ihrem Weichkörpers Mikrovilli, wie sie nach WELSCH und STORCH (1973) an der freien Oberfläche resorbierender Zellen vorkommen. Vermutlich dient auch bei ihnen dieser Saum der O₂-Versorgung möglicherweise auch der Stoffaufnahme. Der Wimpernstreifen zwischen den seitlichen Gruben könnte durch Cilienschlag Wasserbewegung und dadurch Wasserzufuhr bewirken. Im Phasenkontrastmikroskop sind an lebenden Perlmuschellarven relativ lange, heftig schlagende Cilien zu sehen.

Bis auf die Perlmuschellarven besitzen alle Arten vier Paar Sinnesborsten, ein medianes und drei beim Haken. Vermutlich handelt es sich um Chemorezeptoren, die zusätzlich auf mechanischen Reiz reagieren. Beim *Margaritifera*-Glochidium

könnten die zwei Paar Cilienbüschel jeder Schalenhälfte diese Funktion innehaben. Infektionsfähige Larven reagieren auf chemische Veränderungen, z. B. beim Reifetest auf Zugabe von NaCl-Kristallen, mit mehr oder weniger heftigen Schnappbewegungen und Schalenschluß (LEFEVRE und CURTIS 1910, LABOS UND SALANKI 1963, ENGEL 1990, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990). WOOD (1973) löste bei *Anodonten*-Glochidien Schalenschluß dadurch aus, daß sie die Sinnesborsten umbog. Nach WOOD (1973, 74) wäre folgende Funktionsfolge beim Anhaften an den Wirtsfisch denkbar: Die chemische Reizung - ausgelöst durch das Fischepithel - bewirkt den ersten Schalenschluß, dadurch werden die Sinnesborsten eingedrückt, der Schließmuskel wieder gereizt und durch diesen Dauerdruck bzw. Dauerreiz bleibt die Schale geschlossen. Nach eigenen Beobachtungen waren bei geschlossener Schale die Sinnesborsten stets eingedrückt. Denkbar wäre, daß die an Anodonta mit der TEM-Technik beobachteten blasigen Gebilde am Ende der Cilienwurzeln (s. Abb. 69) hier eine Funktion ausüben. Sie könnten bei geöffneter Schale ein "Ausstülpen" der Sinnesborsten bewirken.

Glochidien der Arten, die stehende Gewässer besiedeln, besitzen einen Larvalfaden (beide *Anodonten*, *Unio pictorum* und *Unio tumidus*). Außer seiner Funktion als erstes Haftorgan am Fisch dient er dem Glochidium als "Schleppeleine" zur Verminderung der Sinkgeschwindigkeit, was die Möglichkeit auf einen geeigneten Wirt zu treffen erhöht (WOOD 1973, FLEISCHAUER-RÖSSING 1990). Bei den drei Fließgewässerarten, *Unio crassus*, *Margaritifera* (schnell fließende) und *Pseudanodonta* (langsam fließende) fehlt der Larvalfaden vermutlich deshalb, weil die Glochidien durch die Strömung in der Schwebelage gehalten werden.

Nach ENGEL (1990) sind Glochidien nicht zu eigenen Schwimmbewegungen in der Lage, was er bei Versuchen zur Sinkgeschwindigkeit an *Unio crassus*-Larven feststellte. Vermutlich gilt das auch für die anderen Arten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die relativ ursprüngliche Art *Margaritifera margaritifera* die einfachsten Glochidien besitzt und nur über ein enges Wirtsfischspektrum verfügt. Zur Arterhaltung setzt sie auf Massenproduktion ihrer Larven. Arten mit besser zur Anheftung ausgestatteten Glochidien mit Haken, Sinnesborsten und Larvalfaden, haben ein breiteres Wirtsfischspektrum und kommen offenbar mit einer geringeren Anzahl an Larven aus.

2.) Encystierung von *Margaritifera*-Glochidien

Eine weibliche Flußperlmuschel kann im Verlauf ihres Lebens 2.000 Mio. Glochidien abgeben (pro Jahr bis zu 4 Mio.), von denen insgesamt nur ca. 800 überleben (BAUER 1993). Haben sie den mütterlichen Organismus verlassen, "müssen [sie] dann, um sich weiterentwickeln zu können, von einem geeigneten Wirtsfisch eingeatmet werden" (BAUER 1991). Als Kiemenparasiten haften sie sich an den Kiemenblättchen oder Demibranchien an, wobei zwischen den Schalenhälften Fischgewebe eingeschlossen wird, das als erste Nahrung dient. Als geeignete Wirte kommen ausschließlich Fische der Familie Salmonidae in Frage (BAUER 1979, MEYERS und MILLEMANN 1977, UTERMARK 1973, YOUNG und WILLIAMS 1984a, b) und davon Arten der Unterfamilie Salmoninae. Nach BAUER (1991) eignen sich sehr gut Bachforelle (*Salmo trutta*), atlantischer Lachs (*Salmo salar*) und Seesaibling (*Salvelinus alpinus*), weniger gut Bachsaibling (*Salvelinus fontinalis*) und Huchen (*Hucho hucho*). Nach der Anhaftung erfolgt die Cystenbildung durch das Fischgewebe. Dieser Prozeß wird von verschiedenen Autoren als Wundheilung beschrieben (Faussek 1901, Israel 1913, Harms 1909, Herbers 1914, Arey 1921). Nach SCHMIDT (1885) und KORSCHOLT & HEIDER (1936) bewirkt das Anhaften des Glochidiums Wucherungen des Epithels, indem diese sich an der Larvenschale hinaufschieben. Letzteres entspräche in etwa eigenen Beobachtungen; allerdings muß hinzugefügt werden, daß bei Encystierungen an Kiemenblättchen der Bachforelle die benachbarten Blättchen angeregt werden, sich zu strecken und um den Parasiten zu wickeln (s. Abb. 79, 81 bis 85, 87, 90, 100, 167).

Über die Dauer der Cystenbildung sind die Beobachtungen uneinheitlich. Nach WELLMANN (1943) sind die Cysten um die Perlmuschellarven bereits nach 2-4 Stunden geschlossen. HOWARD & ANSON (1923), KORSCHOLT & HEIDER (1936) schreiben von einigen Stunden und HERBERS (1914) hält diesen Vorgang nach 12 Stunden für abgeschlossen. Nach eigenen Beobachtungen waren die Perlmuschellarven zwar nach 6 Stunden weitgehend von Fischepithel umwachsen, aber nach 48 Stunden waren noch zur Cyste hin eingekrümmte Kiemenblättchen zu sehen, obwohl die Cystenoberfläche schon die Fältelung aufwies, die für die

Bachforellenkieme typisch zu sein scheint. Denkbar wäre, daß sich das eingekrümmte Blättchenpaar der Cyste anlagert (s. Abb. 85, 87).

Nach BAUER (1991) liegt die Mortalitätsrate der Perlmuschellarven während der parasitären Phase bei 95%. Am Beginn einer Infektion und auch bei Parasitenbefall reagieren die unspezifischen Abwehrmechanismen des Fisches, wie z. B. Leukozytenmigration zum Erreger (NIEBER 1988). Nach eigenen Beobachtungen befanden sich während der gesamten parasitären Phase Granulozyten in der Nähe der Cysten. Melanomakrophagen oder Ansammlungen von eosinophilen Granulozyten, wie sie ERARD (1992) bei Perlmuschel-Glochidiosis an atlantischen Lachsen beobachtete, konnten hier nicht festgestellt werden. BAUER (1991) schreibt, daß nach 7 und nach 49 Tagen nach der Infektion die Zahl der Glochidien signifikant abnimmt. Er schließt daraus, daß das Absacken der Infektionsrate nach einer Woche auf unspezifischer Gewebsreaktion beruht und nach 49 Tagen auf spezifischer Antikörperbildung gegen den Parasiten.

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Infektionsversuche mit dem Fehlwirt Regenbogenforelle zeigten, daß bereits nach 48 Stunden alle Glochidien abgestoßen waren. Ursache dafür muß die unspezifische Abwehr diese Art sein, weil sie sehr schnell reagierte, spezifische Abwehrreaktionen werden erst mit erheblicher Zeitverzögerung wirksam.

3.) **Umwandlung vom Glochidium zur Jungmuschel bei *Margaritifera margaritifera***

HOWARD UND ANSON (1923) unterscheiden bei *Unionacea* drei Typen von Larvalentwicklung.:

- 1) kurze parasitäre Phase ohne Größenzunahme
- 2.) lange Verweildauer auf dem Wirtsfisch mit deutlichem Wachstum
- 3.) eingeschränkter Parasitismus mit Jungmuschelentwicklung im Marsupium des mütterlichen Organismus.

Margaritifera margaritifera gehört zum zweiten Typ. Sie verbringt bis zu 10 Monate auf dem Wirtsfisch (BAUER 1989) und wächst dabei von 50 auf 450µm Länge (BUDDENSIECK 1991). Dies entspricht einer durch "wet-oxydation" (RUSSEL - HUNTER 1968; modifiziert nach HETZEL und NIEMEYER 1990) festgestellten Zunahme an Kohlenstoff von 0,017 µg im Glochidium auf 1,786 µg in der Jungmuschel (HETZEL 1992, KUHFUß 1992). Eine deutliche Verkürzung der Entwicklung bei *Margaritifera* von 10 Monaten auf wenige Wochen an einigen Standorten wird von BAUER (1979) beschrieben.

Nach HARMS (1909) und AREY (1932) beginnt in frisch encystierten Glochidien die Umwandlung zunächst mit dem Abbau der larvalen Organe, die der Larve als Nahrung dienen. Bei Unioniden verschwinden außer dem Schließmuskel auch Sinnesborsten und Larvalfaden samt dessen Drüse (KUHFUß 1992). In den Perlmuschellarven war nach vier Wochen in histologischen Schnitten ein Schließmuskel nachzuweisen. Ob es sich dabei um den noch vorhandenen larvalen Adductor oder bereits um den vorderen definitiven handelt, der in allen beschriebenen Stadien größer ausgebildet ist als der hintere, konnte an diesen Präparaten nicht geklärt werden.

Wie bereits erwähnt, ziehen sich die Umbauprozesse vom Glochidium zur Jungmuschel bei *Margaritifera* bis zu 10 Monate lang hin, und die Larve nimmt während dieser Zeit beträchtlich an Größe und Kohlenstoffgehalt zu. Auch bei den einheimischen Najaden mit vierwöchiger Metamorphose steigt der C-Anteil an (*Anodonta anatina* von 0,63 auf 1,65 µg, *Anodonta cygnea* von 0,53 auf 1,43 µg NIEMEYER 1993, *Unio tumidus* von 0,221 auf 0,387 µg KUHFUß 1992). Diese Zunahme ist ähnlich wie das Längenwachstum im Vergleich zur Perlmuschellarve gering. Trotz dieser Unterschiede wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, das Entwicklungsgeschehen in Anlehnung an SCHIERHOLZ (1888), HARMS (1909), HERBERS (1914), KORSCHOLT und HEIDER (1936) und KUHFUß (1992) zu beschreiben.

Im Differenzierungsstadium I, vier Wochen nach Anheften an die Bachforelle konnte bei der Mehrzahl der untersuchten Perlmuschellarven histologisch ein dorsales Darmlumen festgestellt werden. Im Larvenstadium II, sechs bis zehn und maximal zwölf Wochen nach der Encystierung, wird das Darmrohr im vorderen Drittel zweilumig. Vermutlich handelt es sich hier um die Anlage der Mitteldarmdrüse, die in späteren Entwicklungsstadien dem vorderen Drittel des Magens dorsal aufsitzt.

Nach HERBERS (1914) entstehen die beiden Lebersäckchen durch seitliche Ausstülpungen des Magens. KORSCHOLT und HEIDER (1936) beschreiben, daß sich die Anlagen der Mitteldarmdrüse aus dem Darmrohr ausstülpfen und nach hinten daran anschließend die Aussackung des Magens auftritt. In den Flußperlmuschellarven entsteht die Mitteldarmdrüse vor dem Magen und sitzt diesem mit ihrem hinteren Abschnitt dorsal auf. Die typische Gewebsstruktur ist im Differenzierungsstadium III etwa im November voll ausgebildet, wobei sich dreieckige Lappen um ein Lumen anordnen. Sie enthält auch bereits vor der Winterstagnation die für sie so charakteristischen runden Einschlüsse unterschiedlicher Größe.

Zu diesem Zeitpunkt, im Differenzierungsstadium III, ist der in etwa pflaumenförmige Fußwulst noch unbewimpert und die Kiemenanlagen bestehen aus einer halbkugeligen Papille oder einem länglichen Gebilde. Diese "Grundausrüstung" bleibt zwei Monate lang mehr oder weniger unverändert. Offensichtlich wird die Entwicklung während des Winters erheblich verlangsamt. Im Herbst war die Ausbildung der Organanlagen über die Differenzierungsstadien I und II relativ zügig vorangeschritten. Für die Wintermonate kann trotz fehlender statistischer Absicherung zumindest behauptet werden, daß die Umwandlungsprozesse bis in den Februar hinein fast zum Stillstand kommen. Das ergab sich auch bei Laborhälterung unter entsprechenden Temperaturbedingungen.

Einer ähnlichen Organausrüstung, wie sie die Perlmuschellarven nach dreimonatigem Parasitieren und bis in den Februar hinein aufweisen, entspricht die von Anodonta nach dreizehntägiger Encystierung (HERBERS 1914). KORSCHOLT und HEIDER (1936) fassen ohne Zeitangabe die Larvalentwicklung der Unioniden in einer Übersicht mit ähnlichen Organanlagen zusammen. Margaritifera unterscheidet sich von diesen Arten durch vom Magen ausgestülpfte Lebersäckchen.

Nach der Winterpause gehen Größenwachstum und Weiterentwicklung von Margaritifera zügig voran. Im Larvalstadium IV bilden sich drei bis vier Kiemenpapillen, der Fuß schiebt sich pflugartig zum Vorderende der Larve und in ihm läßt sich das unpaare Pedalganglion nachweisen. An Perlmuschellarven konnte ich die von HARMS (1909) beobachtete paarige Anlage des Pedalganglion nicht verfolgen, vermutlich entsprechen die beiden runden Einstülpungen dorsal an jeder

Seite des Fußwulstes die Anlagen der Statocysten. Diese waren ab März zu beobachten.

Ebenfalls nach der Winterpause erhält der Magen sein großes Lumen, und der larvale Mantel wird zum pilzförmigen Körper umgeformt. Im gleichen Zeitraum wachsen die spärlichen Cilienstreifen an definitivem Mantel und Kiemenanlagen zu den dichten Wimpernbändern, an denen im weiteren Verlauf der parasitären Phase elektronenmikroskopisch häufig Partikeltransport festzustellen ist. Diese Entwicklungsprozesse ziehen sich beginnend im sechsten über den siebten bis zum achten Monat nach der Encystierung hin. KORSCHOLT und HEIDER (1936) beschreiben an Najadenlarven ähnliche Organanlagen und HERBERS (1914) bezeichnet diesen Reifegrad als "Stadium mit den pilzförmigen Körpern larvaler Mantelzellen".

Ab Ende April reift die Larve zur Jungmuschel heran. Der pilzförmige Körper verschwindet gänzlich, die Kiemenpapillen strecken sich nach ventral und erhalten ihre Bewimperung an der zum Mantel gerichteten Seite. Die Cilienbänder des Schalenrandes treten mit den Wimpern der Kiemenanlage in Kontakt. Schließlich verläßt die Jungmuschel im Mai oder Juni den Wirtsfisch mit einer Ausstattung von bewimpertem Kriechfuß mit paarigen Statocysten, dichter Bewimperung am Hinterende, einem ausgebildeten Magen-Darmtrakt samt Mundlappen und Mitteldarmdrüse, die prall mit runden Einschlüssen angefüllt ist, und drei bis vier Kiemenpapillen. Möglicherweise beeinflußt die Größe des Wirtsfisches die Zahl der Kiemenanlagen. Vom atlantischen Lachs (*Salmo salar*) fällt *Margaritifera* mit vier bis fünf Kiemenpapillen (ERARD 1992).

Am Vorderende der jungen Flußperlmuschel befindet sich nun eine Reihe von Cilienbüscheln. Weil sie in ihrer rasterelektronenmikroskopischen Darstellung den Sinnesborstenzellen in Glochidien der anderen Najaden ähneln, könnte man vermuten, daß es sich um Chemo- oder Mechanorezeptoren handelt.

Die Herz-Perikard-Nierenanlage konnte an der jungen Flußperlmuschel nicht deutlich nachgewiesen werden. Paarige Doppelbläschen waren auf Längsschnitten nach dreimonatiger Encystierungsdauer vorhanden. Ob oder wie diese den Darm umwachsen, konnte nicht beobachtet werden. Ähnliche Gebilde findet HARMS (1909)

bei *Unio* und beschreibt, wie diese von beiden Seiten auf den Enddarm zuwachsen und diesen umschließen.

Die tiefgreifenden Veränderungen, die sich an der parasitierenden Flußperlmuschel innerhalb von neun bis zehn Monaten vollziehen, wurden auch an den Najaden mit kurzer Metamorphose beobachtet. Nach SCHIERHOLZ (1888) verfügt die Jungmuschel bis auf Siphone, Lippentaster, äußere Kiemen und Geschlechtsdrüsen schon über die volle Organausstattung. HARMS (1909), der als einziger histologische Abbildungen der Flußperlmuschellarven mit einbezieht, erwähnt die Umwandlung vom larvalen zum definitiven Mantel und den damit verbundenen Funktionswechsel, er bemerkt daß sich die Kiemenpapillen erst später nach innen umschlagen, wodurch schließlich eine zweischichtige Kiemenlamelle zustande kommt. HERBERS (1914) behält für die entwickelten Gasaustauschflächen der Jungmuschel die Bezeichnung Kiemenpapille bei.

Der Magen der Margaritifera - Jungmuschel besitzt die Kristallstilaussackung aber noch keinen Kristallstil, runde Gebilde kommen im Magenlumen vor. Elektronenoptisch ist das gesamte Magenlumen mit Mikrovilli und Cilien ausgekleidet, sie scheinen die runden Gebilde in Drehbewegung zu versetzen. Ein Magenschild gegenüber der Aussackung ist ebenfalls vorhanden, das elektronenmikroskopisch beobachtet aus besonders langen Mikrovilli und Cilien besteht.

Kurz bevor die junge Margaritifera ihren Wirtsfisch verläßt, können im REM Risse in der Cyste beobachtet werden. Nach SCHIERHOLZ (1888) wird die Cyste dünnwandiger und heftige Fußbewegungen der Jungmuschel öffnen sie. HERBERS (1914) beobachtet an encystierten, reifen Anodonten, wie sich ihr Fuß gegen die Schalenränder vorstreckt, ruckartig zurückgezogen wird und dadurch die Cyste zerreißt. AREY (1923) stellt an frisch entfernten Fischkiemen fest, daß reife Larven sich mit Schalenklappen und Pressen des Fußes gegen die Cystenwand von Wirtsfisch befreien. Er vermutet, daß Teile des Wandepithels mit der Jungmuschel abfallen. Durch eigene Beobachtungen kann bestätigt werden, daß Reste des dachziegelartig angeordneten Epithels, das direkt der Schale anlagert (s. Abb. 167), an den jungen Flußperlmuscheln haften bleiben können, wenn sie den Fisch verläßt. Die relativ dicke Zellschicht, die den äußeren Teil der Cyste bildet, scheint abzufallen bevor Margaritifera die Bachforelle verläßt. In der Regel bleibt nach

gelingenem Parasitieren auf der Kieme von *Salmo trutta* lediglich eine glattere, wenn auch wesentlich größere Einsenkung übrig, wie nach mißlungener Encystierung bei *Oncorhynchus mykiss*.

Wie sich aus Laborbeobachtungen ergibt, kann die Abgabe der Jungmuschel aus den Cysten über 4-6 Wochen (Mai-Juni) erfolgen. Möglicherweise spielt der Ort der Zyste hierbei eine Rolle. Wahrscheinlich werden die an den Kiemenblättchen encystierten und von ihnen "eingewickelten" Larven durch die hier häufiger vorhandenen Blutkapillaren besser mit Nährstoffen versorgt als die am Rand der Demibranchien angehafteten. Denkbar wäre, daß die besser Versorgten eher reif sind und das Parasitieren früher aufgeben können.

Es ist anzunehmen daß bei der Entwicklung der Perlmuschellarven außer Temperatur und Nährstoffversorgung weitere Faktoren wie Größe und Ernährungszustand des Wirtsfisches und Standortbedingungen eine Rolle spielen. Wie erwähnt berichtet BAUER (1979) über Perlmuschelpopulationen, die innerhalb von wenigen Wochen ihre Metamorphose abschließen und im selben Gebiet vorkommen wie andere Bestände derselben Art mit langphasiger Entwicklung. BUDDENSIECK (1991) hält bei seinen Untersuchungen an der Population der Lüneburger Heide und wegen der von BAUER gemachten Beobachtungen eine genetische Fixierung in kurz- und langphasige Gruppen für möglich.

Zur Ernährung der Perlmuschellarven während der parasitären Phase

Die erste Nahrung der angehefteten Glochidie ist das Gewebe des Wirtsfisches, das sie zwischen ihren Schalenhälften einklemmt. Hierauf wird bereits in früheren Arbeiten über Unioniden von FAUSSEK (1895), HERBERS (1914), AREY (1932) hingewiesen und von HARMS erwähnt (1907/1909), der *Margaritifera* untersucht. Diese Autoren beobachteten auch Leukozytenansammlungen an der Wundstelle, die zerfallen und ebenfalls resorbiert werden. Nach eigenen Beobachtungen befinden sich häufig Granulozyten in der Nähe des Glochidiums und bisweilen sind ihre Granula an der Larvenschale regelrecht aufgereiht. Hier könnte es sich um zerfallene Leukozyten handeln, die der Perlmuschellarve als Nahrung dienen. Elektronenoptisch sind Granulozyten zu beobachten (s. Abb. 166), die sich aktiv zur die *Margaritifera* -Larve hinbewegen (STEINHAGEN mdl. 1993).

HARMS (1907/1909) weist darauf hin, daß an kiemenencystierten Glochidien und insbesondere häufig bei den Perlmuschellarven viele Leukocyten in die Mantelhöhle eindringen und den Parasiten abtöten können. Nach eigenen Beobachtungen traten vier Wochen nach der Infektion histologisch häufig "leere" Cysten auf. Möglicherweise handelt es sich hier um Encystierungsreste, deren Inhalt bereits vom Fischgewebe resorbiert wurde.

KORSCHOLT UND HEIDER konstatieren (1936), daß die Ernährung der encystierten Muschellarven im weiteren Verlauf ihres Parasitierens keine gewöhnliche sein kann. Übereinstimmend berichten SCHIERHOLZ (1888), HARMS (1909), HERBERS (1914), FAUSSEK (1895/1901), KORSCHOLT UND HEIDER (1936), MAAß (1987) und KUHFUß (1992), daß wenige Tage nach der Encystierung außerordentlich große, blasig aufgetrieben wirkende Mantelzellen entstehen. AREY (1932) beobachtet diese Gewebeform bereits nach neun Stunden Anheftungszeit in einer hakenlosen Glochidie. SCHIERHOLZ (1888), FAUSSEK (1895/1901), HARMS (1909), HERBERS (1914), AREY (1932), KORSCHOLT & HEIDER (1936) und WOOD (1973) vermuten, daß diese phagocytierenden Zellen der Nahrungsaufnahme dienen. KUHFUß (1992) hält eine Abstammung der larvalen Mantelzellen von freien Hämocyten aus den eng benachbarten hämolymphatischen Räumen für denkbar. Er beruft sich dabei auf CHENG (1982) der diese Zellen und insbesondere die Granulocyten für fähig hält, zu epithelartigen Verbänden zu aggregieren.

Auch bei der Flußperlmuschellarve stellt sich histologisch vier Wochen nach der Encystierung dieses besondere Gewebe des larvalen Mantels deutlich dar. Bei *Margaritifera* unterscheiden sich die großen Zellen des Larvenmantels deutlich von den kleinen, kompakt wirkenden der frisch encystierten Glochidie. Der larvale Mantel nimmt zu dieser Zeit im Vergleich zu allen anderen Organanlagen den größten Raum ein und bleibt bis Ende Februar erhalten. Mit der REM-Technik konnte festgestellt werden, daß die larvalen Mantelzellen der Perlmuschellarven kugelförmig aufgetrieben und dicht mit Mikrovilli besetzt sind, was für ihre resorbierende Tätigkeit spricht.

Nach AREY (1932) bleibt die ernährende Funktion des larvalen Mantels während der ersten beiden Drittel der parasitären Phase erhalten und aufgenommen werden neben dem "Biß" in die Wirtskieme auch Transsudate aus dem umgebenden Gewebe. An der encystierten Perlmuschellarve sind ab vierwöchiger

Encystierungszeit und während der gesamten parasitären Phase auf histologischen Schnitten homogen wirkende "Propfen" festzustellen, die sich zwischen den beiden Schalenrändern befinden. Auf Längsschnitten scheinen entlang dieser Linie tropfenförmige Gebilde in die Mantelhöhle einzudringen. Auch im REM sind derartige Strukturen zu beobachten und ebenfalls sehr kleine Partikel, denen sich Cilien vom Wimperband des Schalenrandes entgegenstrecken. Vermutlich handelt es sich hier um eingeschleuste Nahrung, die möglicherweise von den larvalen Mantelzellen verdaut wird. Ab Februar formt sich der larvale Mantel der Flußperlmuschellarve zum pilzförmigen Körper um, diese Struktur behält vermutlich die Nährfunktion bei.

Für eine frühe Mitwirkung der Mitteldarmdrüse an der Nahrungsaufnahme sprechen die hier noch vor der winterlichen Verlangsamung der Entwicklung auftretenden globulären Einschlüsse. Dies könnten über die larvalen Mantelzellen aufgenommene und in die Mitteldarmdrüse eingelagerte Reservestoffe sein.

Sobald ein funktionsfähiger Magen-Darmtrakt ausgebildet ist, wird der larvale Mantel abgebaut. Seine Zellen werden flach, Partikel schnüren sich ab und scheinen vom Cilienstreifen, der am Rand des Larvenmantels verläuft, wegtransportiert zu werden. Die bereits erwähnten tropfenförmigen Gebilde und die kleinen Partikel, die vom Schalenrand der Perlmuschellarve in die Mantelhöhle gelangen, könnten jetzt auf dem üblichen Weg verdaut werden. Histologisch enthält der Magen ab Februar homogenes Material und seine Innenoberfläche scheint sich zu vergrößern. Wie bereits erwähnt kann in der Margaritifera-Jungmuschel im rechten unteren Teil des Magenlumens eine Aussackung nachgewiesen werden, aber noch kein Kristallstiel. Im Lumen befinden sich runde, elektronenmikroskopisch wenig kontrastierte, homogene Gebilde. Der Magenschild ist ein Bürstensaum mit außerordentlich langen Mikrovilli und durchsetzt mit Cilien.

Die Mitteldarmdrüse der Jungmuschel ist prall angefüllt mit runden Gebilden unterschiedlicher Größe. Elektronenmikroskopisch zeigen diese Konglomerate unterschiedliche Kontrastierung und bestehen in ihrer Mehrzahl aus relativ homogenem Material. Bisweilen kann man angelagert an oder direkt in den schwächer kontrastierten Einschlüssen garnknäuelartige Strukturen erkennen, die auf Proteinmoleküle hindeuten könnten. Histologisch reagieren diese Konglomerate

auf Fettfärbungen negativ. KUHFUß (1992) wies histochemisch bei Anodonten Proteingrana in der Mitteldarmdrüse nach.

Vermutlich findet in der Jungmuschel eine Umstellung der Ernährung statt. Die eingelagerten Reservestoffe werden aufgebraucht und parallel dazu beginnt aktive Partikelaufnahme über die Kiemen. Nach drei Monaten lassen sich die Einschlüsse der Mitteldarmdrüse histologisch nicht mehr nachweisen (WAHLMANN 1989) und nach BUDDENSIEK (1991) ist die Mortalität der Jungmuscheln zu diesem Entwicklungszeitpunkt sehr hoch.

Literaturverzeichnis

- ADAM H. und G. CZIHAK (1964)**
Arbeitsmethoden der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie- Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- ALDRIDGE D.W. und R.F. MCMAHON (1987)**
Growth, fecundity, and bioenergetics in a natural population of the asiatic freshwater clam, *Corbicula manilensis* (Philippi), from North Central Texas- *J.Moll.Stud.* 44 : 49
- ALVERDES F. (1932)**
Perlen und Perlbildung- , , 7 : 798
- ANDERSON R.S. (1981)**
Section IX: Comparative aspects of the evolution and development of body cavities, circulatory systems and "blood cells". 17. Comparative aspects of the structure and function of invertebrate and vertebrate leucocytes- Academic Press, New York, vol 2 IX: 629
- ANTONOVA L.A. und Y.I. S. V.V. BOGATOV (1990)**
Use of the scanning electronic Microscope for generic identification of glochidia of Unionidae- *Zool.ZH.* 69 (11): 135
- AREY L.B. (1932)**
The Nutrition of Glochidia during Metamorphosis- *J. of Morphol.* 53 (1): 201
- AREY L.B. (1932a)**
The Formation and Structure of the Glochidial Cyst- *Biol. Bull.* 62 : 212
- AREY L.B. (1924)**
Glochidial Cuticulae, Teeth, an the mechanism of Attachment- *J.Morphol. and Physiol.* 39 (2): 323
- AREY L.B. (1921)**
An Experimental Study on Glochidia and the Factors Underlying Encystement- *J. of eperimental Zool.* 33 : 463
- AREY L.B. (1932)**
A Microscopical Study of Glochidial Immunity- *Journ. of Morphology* 53 : 367
- AREY L.B. (1924)**
Glochidial Cuticulae, Teeth, and the Mechanics of Attachment- *Journ. of Morphology and Physiology* 39 (2): 323
- ATKINS D. (1979)**
On the ciliary mechanisms and interrelationships of Lamellibranchs
Part II: Sorting devices on the gills- *Quarterly J.Micr,Sci.* 315 : 339
- ATKINS D.B.S. (1979)**
On the Ciliary Mechanisms and Interrelationships of Lamellibranchs
- *Quarterly J. Microscop. Sc.* 315 : 339
- BAER O. und M. GÖRNER (1978)**
Letzte Flußperlmuschel-Vorkommen im oberen Saale-Gebiet- *Arch. Naturschutz u. Landschaftsforschung* 18 (3): 177
- BAER O. und R. STEFFENS (1987)**
Die Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera* L.) -Bestandssituation, Ökologie, Schutzmaßnahmen- *Naturschutzarbeit in Sachsen*, 29. Jg. : 53
- BAILEY R.C. und R.H. GREEN (1988)**
Within-basin variation in the shell-morphology and growth rate of a freshwater mussel- *Can.J.Zool.* 66 (7): 1704
- BANDEL K. (1988)**
Stages in the ontogeny and a model of the evolution of bivalves (Mollusca)- *Palaeontol. Z.* 62 (3/4): 217
- BAUER G. (1993)**
Erfolg durch Einschränkung: Die bionomische Strategie der Flußperlmuschel- Vortrag im Zoologischen Seminar der Tierärztl. Hochschule Hannover :
- BAUER G. (1983)**
Age structure, age specific mortality rates and population trend of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) in North Bavaria- *Arch. Hydrobiol.* 98 (4): 523
- BAUER G. (1979)**
Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie der Flußperlmuschel im Fichtelgebirge.- *Arch. Hydrobiol.* (85): 152
- BAUER G. (1991)**

- BAUER G.** (1991)
Die Bionomische Strategie der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera* L.)- Habilitationsschrift d. Fak. Biologie, Chemie und Geowi. d. UNI Bayreuth, :
- BAUER G.** (1987)
The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.), III Host relationships- Arch. Hydrobiol./Suppl 76 4 : 413
- BAUER G.** (1989)
Die binomische Strategie der Flußperlmuschel- Biologie in unserer Zeit 19 (3): 69
- BAUER G.** (1980)
Die Situation der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*) in der Oberpfalz und in Niederbayern- Berichte der Akademie f. Naturschutz u. Landschaftspflege, Laufen 4 : 101
- BAUER G.** (1987)
Reproductive Strategie of the Freshwater Pearl Mussel
Margaritifera margaritifera- Journal of Animal Ecology 56 : 691
- BAUER G.** (1987)
The parasitic stage of the freshwater pearl mussel, II. Susceptibility of brown trout- Arch. Hydrobiol. 76 : 393
- BAUER G.** (1992)
Variation in the life span and size of the freshwater pearl mussel- j. of Animal Ecology 61 : 425
- BAUER G. et al.** (1980)
Zusammenhänge zwischen dem Bestandsrückgang der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*) im Fichtelgebirge und der Gewässerbelastung- Arch. Hydrobiol. 88 (4): 505
- BAUER G. und L. EICKE** (1986)
Pilotprojekt zur Rettung der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera*)- Sonderdruck aus Natur und Landschaft 61 (4): 140
- BAUER G. und W. THOMAS** (1980)
Die Ursachen für den Rückgang der Flußperlmuschel im Fichtelgebirge und Maßnahmen für ihren Schutz- Sonderdruck aus "Natur und Landschaft" 55 (3): 100
- BAUER G. und C. VOGEL** (1987)
The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.), I. Host response to Glochidiosis- Arch. Hydrobiol./Suppl. 76 4 : 393
- BAUER G. und H. ZWÖLFER** (1987)
200 Millionen Nachkommen und kaum Überlebenschancen Nitratgehalt im Wasser zerstört die Flußperlmuschel - Forschungs- Mitteilungen der DFG 3/87 : 8
- BAYNE B.L. und R.J. THOMPSON** (1970)
Some physiological consequences of keeping *Mytilus edulis* in the laboratory- Helgoländer wiss. Meeresuntersuchungen 20 : 526
- BAYNE C.J.** (1983)
Molluscan immunobiology- Academic Press, Inc, Vol 5, Part 2 /8. : 407
- BEAMS H.W. und S.S. SEKHON** (1966)
Elektron microscope studies on the oocyte of the freshwater mussel (*Anodonta*), with special reference to the stalk and mechanism of yolk deposition.- J.Morphol. 119 : 477
- BEDNARCZUK J.** (1986)
Untersuchungen zum Wirtsfischspektrum und Entwicklung der Bachmuschel *Unio crassus*- Inaugural-Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, : 40 S.
- BENINGER P.G. und M. LE PENNEC** (1990)
Peribuccal organs of *Placopecten magellanicus* and *Chlamys varia* (Mollusca: Bivalvia): Structure, ultrastructure and implications for feeding- Mar.Biol.(Berl) 107 (2): 225
- BISCHOFF A.I.-M.** (1987)
Ökologische Beziehungen zwischen Fischen und Muscheln- Diss. TIHO Hannover, , :
- BLESS R.** (1980)
Bestandsentwicklungen der molluskenfauna heimischer Binnengewässer und die Bedeutung für Naturschutz und Landespflege- Biologische Abhandlungen 5 (59-60): 1
- BLOOMER H.H.** (1934)
On the sex , and sex - modification of the gill of *Anodonta cygnea*- Proc.Malac.Soc.London 21 : 21

- BLYSTAD C.N.** (1923)
Significance of larval mantle of freshwater mussels during parasitism with notes on a new mantle condition exhibited by *Lampsilus luteola* - Bull.U.Bur.Fish. 39 : 203
- BÖCK P.** (1984)
Der Semidünnschnitt- München
- BOETTGER C.R.** (1954)
Flußperlmuschel und Perlenfischerei in der Lüneburger Heide: In Abhandlungen der Braunschweigischen Wissenschaftlichen Gesellschaft. - Friedrich Vieweg& Sohn, Braunschweig, VI : 1
- BÖTTGER C.R.** (1954)
Flußperlmuschel und Perlenfischerei in der Lüneburger Heide- Abhandlungen der Braunschweigischen Wiss. Gesellsch. VI : 1
- BÖTTGER K. und R. BRINKMANN** (1986)
Umfangreiche Vernichtung von Süßwassermuscheln- Natur und Landschaft 61 Jg. (11): 443
- BRAND A.R.** (1972)
The mechanism of blood circulation in *Anodonta cygnea* (L.)(*Bivalvia*, *Unionidae*)- J.Exp.Biol. 56 : 361
- BROWNE R.A. und W.D. RUSSELL-HUNTER** (1978)
Reproductive effort in molluscs- *Oecologia* (Berl.) 37 : 23
- BUDDENSIEK V.** (1991)
Untersuchungen zu den Aufwuchsbedingungen der Flußperlmuschel *Margaritifera margaritifera* LINNAEUS (*Bivalvia*) in ihrer frühen postparasitären Phase- Dissertation der Universität Hannover :
- BUDDENSIEK V., H. ENGEL, S. FLEISCHAUER-RÖSSING, S. OLBRICHT und K. WÄCHTLER** (1990)
Studies on the chemistry of interstitial water taken from defined horizons in the fine sediments of bivalve habitats in several Northern German lowland waters- Arch.Hydrobiol. 119 (1): 55
- BURKY A.J.** (1977)
Respiration chambers for measuring oxygen consumption of small aquatic molluscs with Clark-type polarographic electrodes - Malac.Rev. 10
- CASWELL H.** (1989)
Life - history strategies- Blackwell Scientific Publications,Oxford, , 9 : 285
- CHAISEMARTIN C., P.N. MARTIN und M. BERNARD** (1968)
Homéionémie chez *Margaritana margaritifera* L (Unionidés),étudiée à l'aide des radioéléments ²⁴ Na et ³⁶ Cl- Comptes Rendus Des Séances de la Societé de Biologie, (Séance du 17 Fevrier 1968) 162 (1): 523
- CHURCHILL E.P. und S.I. LEWIS** (1923)
Food and feeding in fresh-water mussels- Bull.US Bureau Fisheries 37 (963): 439
- CLARKE A.H.** (1981)
The Tribe Alasmidontini (Unionidae: Anodontinae),
Part I: Pegias, Alasmidonta, and Arcidens- Smithsonian Institution Press, City of Washington, 326
- CLESSIN S.** (1884)
Deutsche Excursions-Mollusken-Fauna- Verlag von Bauer und Raspe, Nürnberg
- COLLINS T.W.** (1967)
Oxygen-uptake, shell morphology and desiccation of the fingernail clam, *Sphaerium occidentale* Prime- Ph.D.Thesis,University of Minnesota,Minneapolis,MN
- COOK H.C.** (1974)
Manual of histological demonstration techniques- Butterworth, London
- COUTEAUX-BARGETON M.** (1948)
Mode de nutrition des embryons dans les poches incubatrices des Lamellibranches Sphaeridés- Comtes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences H 21 : 1746
- CRANFIELD H.J.** (1973)
A study on the morphology, ultrastructure and histochemistry of the foot of the pediveliger of *Ostrea edulis*- Mar.Biol.(Berlin) 22 : 187
- CRESSWELL J.E. und C.F. SAYRE** (1991)
Can evolutionary stable strategies exist?- *Oikos* 60 : 382

- CUNJAK R.A. und S.E. MCGLADDERY** (1990)
the parasite-host relationship of Glochidia (Mollusca: Margaritiferidae) on the gills of young-of-the-year Atlantic salmon (*Salmo salar*)- Can. J. Zool. 69 : 353
- CUNJAK R.A. und S.E. MCGLADDERY** (1991)
The parasite-host relationship of glochidia (Mollusca: Margaritiferidae) on the gills of young-of-the-year Atlantic salmon (*Salmo salar*)- Can.J.Zool. 69 : 353
- DE BRYNE C.** (1898)
Recherches au sujet deinvertebres- Archives de Biologie 15 : 266
- DRAL A.D.G.** (1967)
The Movements of the Latero-Frontal Cilia and the Mechanism of Particle Retention in the Mussel (*Mytilus edulis* L.)- Netherlands J. of Sea Res. 3 (3): 391
- DUARTE C.M., S. AGUSTI und H. PETERS** (1987)
An upper limit to the abundance of aquatic organisms- Oecologia (Berl.) 74 : 272
- DUBUISSON M. und J.VANHEUVERS WYN** (1941)
Recherches histologique et chimiques sur les branchies d'*Anodonta cygnea* Lin.- Fonds National de la Recherche scientifique 1824 : 37
- DUNDEE D.S.** (1953)
Formed elements of the blood of certain freshwater mussels - Trans.Am.Micr.Soc. 72 : 254
- DUSSART G.B.J.** (1983)
The amino acid composition of freshwater mollusc shells in relation to phylogeny and environment- J.Moll.Stud. 49 : 213
- DYDUCH-FALINOWSKA A.** (1983)
Shell microstructure and systematics of Sphaeriidae (Bivalvia, Eulamellibranchiata)- Acta zool.Cracov. 26 (9): 251
- DYK V. und S. DYKOVA** (1974)
The Pearl Oyster (*Margaritana margaritifera* L) a Neglected Indicator of the Pollution of Mountain and Submontane Water Flows of the Crystalline Region in Czechoslovakia- Acta Vet. BRNO, 43 : 287
- EHRMANN P.** (1956)
II. Klasse Bivalvia, Muscheln- Verlag von Quelle & Meyer, Leipzig, I : 211
- ENGEL H.** (1990)
Untersuchung zur Autökologie von *Unio crassus* (PHILIPSSON) in Norddeutschland- Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover
- FAUSSEK V** (1904)
Viviparität und Parasitismus- Zool. Anzeiger XXVII (25): 761
- FAUSSEK V.** (1901)
Über den Parasitismus der Anodonta-Larven- Intern. Kongr. f. Zool. 5 : pp.761
- FAUSSEK V.** (1895)
Über den Parasitismus der Anodonta-Larven in der Fischhaut- Biologisches Centralblatt, Leipzig 15 : 115
- FAVRE J.** (1927)
Les mollusques post-glaciaires et actuels du Bassin de Geneve- Méme .Soc. Phys. Hist. Nat. ,Geneve 40 (1): 171
- FENG S.Y.** (1965)
Pinocytosis of proteins by oyster leucocytes- Biol.Bull.(Woods Hole,Mass) 129 : 95
- FERGUSON H.W.** (1989)
Systemic Pathology of fish- Iowa State University Press Sonderdruck : 103
- FIORONI P.** (1982)
Larval organs, larvae, metamorphosis and types of development of mollusca - A comprehensive review- Zool.Jb.Anat. 108 : 375
- FLEISCHHAUER-RÖSSING S.** (1990)
Untersuchung zur Autökologie von *Unio tumidus* PHILIPSSON und *Unio pictorum* L (Bivalvia) unter besonderer Berücksichtigung der frühen postparasitären Phase- Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover
- FULLER S.C., R.A. LUTZ und A. POOLEY** (1989)
Procedures for accurate documentation of shapes and dimensions of larval bivalve shells with scanning electron microscopy- Transactions Amer.Microc.Soc. 108 (1)

- FUSTISH C.A. und R.E. MILLEMANN** (1978)
Glochidiosis of Salmonid Fishes. II. Comparison of Tissue Response of Coho and Chinook Salmon to Experimental Infection with *Margaritifera margaritifera* (L) (Pelecypoda: Margaritanidae)- The Journal of Parasitologie 64 (1): 155
- GALE W.F.** (1969)
Bottom fauna of Pool 19, Mississippi River with emphasis on the life history of the fingernail clam, *Sphaerium transversum*- Ph.D. Thesis, Iowa State University, Ames,A.
- GALE W.F.** (1976)
Vertical distribution and burrowing behavior of the fingernail clam, *Sphaerium transversum*- Malacologia 15 : 401
- GALHANO M.H. und M.T.F. DA SILVA** (1983)
The reproductiv cycle of *Anodonta cygnea* L. from Mira Lagoon (Portugal)- Publicações do Instituto de Zoologica Dr.A.Nobre Faculdade de Cienas do Porto 179 : 1
- GARRATT M.W., K.R. STEINHORST und R. KIRK** (1976)
Notes on the Biology of *Margaritifera margaritifera* (Lin.)in Central Massachusetts- The American Midland Naturalist 96 (1): 252
- GEYER D.** (1909)
II.Klasse: Acephala Cuvier. Kopflose Weichtiere, Muscheln- K.G.Lutz Verlag, Stuttgart, : 104
- GHENT A.W., R. SINGER und L. JOHNSON-SINGER** (1978)
Depth distributions determined with SCUBA, and associated studies of the freshwater unionid clams *Elliptio complanata* and *Anodonta grandis* in Lake Bernard, Ontario- Can.J.Zool. 56 (8): 1654
- GIUSTI F.** (1973)
The minute shell structure of the glochidium of some species of the genera *Unio*, *Potomida* and *Anodonta* (Bivalvia, Unionacea)- Malacologia 14 : 291
- GIUSTI F.** (1973)
The Minute Shell Structure of the Glochidium of some Species of the Genera *UNIO*, *POTOMIA* and *ANODONTA* (BIVALVIA, UNIONACEA)- Malacologia 14 : 291
- GIUSTI F., L. CASTAGNOLO, F. MORETTI und A. RENZONI** (1975)
The Reproductive Cycle and the Glochidium of *Anodonta cygnea* L. from Lago Trasimeno (Central Italy)- Monitore Zool. Ital. 9 : 99
- GIUSTI F., L. CASTAGNOLO, L. MORETTI, F. und A. RENZONI** (1975)
The reproductive cycle and the glochidium of *Anodonta cygnea* L. from Lago Trasimeno (Central Italy)- Monitore Zool. Ital. (N.S.) 9 : 99
- GLOER P., C. MEIER-BROOK und O. OSTERMANN** (1985)
Süßwassermollusken- DJN, Hamburg
- GMBH I. D.W.H.** (1985)
Die Critical Point-Methode- Kurzbericht REM_CP-7905
- GORDON M.E. und D.G. SMITH,** (1990)
Autumnal reproduction in *Cumberlandia monodonta* (Unionidae: Margaritiferidae)- Trans.Am.Microsc.Soc. 109 (4): 407
- GÖTTING K.J.** (1974)
Malakozologie Grundriß der Weichtierkunde- Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, : 174
- GREISSL R. und A. VOGELI** (1988)
Einfache Apparatur zur Durchführung der kontinuierlichen Entwässerung biologischer Objekte- Z.mikrosk.-anat.Forsch. Leipzig 102 (6): 1036
- GUTHEIL F.** (1911)
Über den Darmkanal und die Mitteldarmdrüse von *Anodonta cellensis* Schröt.- Dissertation, Universität Marburg : 1
- HANSON J.M., W.C. MACKAY und E.E. PREPAS** (1988)
The effects of water depth and density on the growth of a unionid clam- Freshwater Biology 19 : 345
- HARMS W.** (1907a)
Zur Biologie und Entwicklungsgeschichte der Flußperlmuschel- Zool. Anzeiger 31 : 814
- HARMS W.** (1907)
Die postembryonale Entwicklung von *Unio pictorum* und *Unio tumidus*.- Zool. Anz. 31 (-): 693

- HARMS W. (1909)**
Postembryonale Entwicklungsgeschichte der Unioniden,
Zool. Jb. Bd.28- Fischer, Jena, 28 : 325
- HARMS W. (1907a)**
Zur Biologie und Entwicklungsgeschichte der Flußperlmuschel- Zool. Anz. 31 : 814
- HARMS W. (1908)**
Die postembryonale Entwicklung von *Unio pictorum* und *Unio tumidus*- Zool. Anz. 32 : 693
- HARMS W. (1907b)**
Über die postembryonale Entwicklung von *Anodonta piscinalis*- Zool. Anz. 31 : 801
- HARMS W. (1907)**
Zur Biologie und Entwicklungsgeschichte der Flußperlmuschel- Zoologischer Anzeiger 31 : 814
- HARMS W. (1907)**
Die Entwicklungsgeschichte der Najaden und ihr Parasitismus- Sitzungsbericht d. Gesellsch. z. Beförderung d. ges. Nat.-Wi. 4 : 79
- HEARD W.H. (1975)**
Sexuality and other aspects of reproduction in *Anodonta* (Pelecypoda: Unionidae)- *Malacologia* 15 (1): 81
- HENDELBERG J. (1961)**
The fresh-water pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.)- *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottingholm* 41 : 149
- HENDELBERG J. (1961)**
The fresh-water pearl mussel *Margaritifera margaritifera* L- *Rep. Inst. Freshw. Res. Drottingholm* 41 : 149
- HERBERS K. (1914)**
Entwicklungsgeschichte von *Anodonta cellensis* Schröt.- Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie (Engelmann, Leipzig und Berlin) 108 (-): 1
- HERBERS K. (1914)**
Entwicklungsgeschichte von *Anodonta cellensis* Schröt.- Zeitschr. f. Wissensch. Zoologie 108 : 1
- HERBERS K. (1914)**
Entwicklung von *Anodonta cellensis* Schröt.- Zeitschr. f. wiss. Zoologie CVIII : 1
- HERBERS K. (1914)**
Entwicklungsgeschichte von *Anodonta cellensis* Schröt.- Zeitschr. f. wi. Zoologie 108 : 1
- HETZEL U. (1993)**
Aspekte der Viviparie bei Sphaeriidae, mit dem Untersuchungsschwerpunkt *Musculium lacustre*- Dissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover
- HETZEL U. (1993)**
Reproduktionsbiologie: Aspekte der Viviparie bei Sphaeriidae, mit dem Untersuchungsschwerpunkt *Musculium lacustre* (O.F.Müller1774)- Diss. Universität Hannover, ,
- HETZEL U. (1987)**
Beiträge zur Viviparie bei Sphaeriidae- Diplomarbeit Inst.f.Zool.d.TIHO,Hannover
- HETZEL U. und K. WÄCHTLER (1992)**
Vergleichende Untersuchungen zur Reproduktionsbiologie viviparer Muscheln: Beobachtungen an Arten der Gattungen *Sphaerium*, *Musculium* und *Pisidium* (Bivalvia; Sphaeriidae)- *Verh. Dtsch. Zool. Ges. (Short Communications)* 85. Jahresversammlung, Kiel : 21
- HOCHAKA P.W., J. FIELDS und T. MUSTAFA (1973)**
Animal life without oxygen: basic biochemical mechanisms- *Am.Zool.* 13 : 543
- HOOGARTH M.A. und A.S. GAUNT (1988)**
Mechanics of glochidial attachment (Mollusca: Bivalvia: Unionidae)- *J.Morphol.* 198 : 71
- HOWARD A.D. und B.J. ANSON (1923)**
Phases in the Parasitism of the Unionidae- *Journ. of Parasitology* 9 : 68
- HÜBY B. (1988)**
Zur Entwicklungsbiologie der Fließgewässermuschel *Pseudanodonta clompanata*- Dissertation, Inst. f. Zoologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover
- HUDSON R.G. und B.G. ISOM (1984)**
Rearing juveniles of the freshwater mussels (Unionidae) in a laboratory setting- *The Nautilus* 98 (4): 129

HUGA G.A., C.G. DUMM und R.R. BRENNER (1982)

A study of the Biology of *Diplodon delodontus* (Lamarck, 1819) (Bivalvia: Hygriidae) II Structure of the digestive diverticula of *Diplodon delodontus*. A light and electron microscopic study- *The Veliger* 25 (1): 59

IMLAY M.J. und M.L. PAIGE (1972)

Laboratory growth of freshwater sponges, unionid mussels, and sphaeriid clams- *The Progressive Fish-culturist* 34 (4): 210

INGRAM W.M. (1941)

Survival of freshwater molluscs during periods of dryness- *Nautilus* 54 : 84

ISHIHARA A. und Y. MUGIYA (1987)

Ultrastructural evidence of calcium uptake by chloride cells in the gills of goldfish, *Carassius auratus*- *J.Exp.Zool.* 242 : 121

ISOM B.G. (1986)

System culture of freshwater shellfish (Bivalves)- *EIFAC/86/Symp.E53* - : 1

ISRAEL W. (1913)

Biologie der europäischen Süßwassermuscheln- Lutz, Stuttgart, :

ISRAEL W. (1913)

Biologie der europäischen Süßwassermuscheln- Lutz, Stuttgart, :

JANSSEN H.H. (1990)

Öko-histologische Untersuchungen an *Lissarca notorcadensis* (Philobyridae: Bivalvia)- *Verh. Dtsch. Ges.* 83.Jahresvers. 83 : 602

JANSSEN H.H. (1981)

Zur Histologie der Mitteldarmdrüse von *Mytilus edulis*.

I.Ultrastrukturelle Merkmale.- *Zool.Jb.Anat.* 106 : 298

JANSSEN H.H. (1981)

Zur Histologie der Mitteldarmdrüse von *Mytilus edulis*.

II.Veränderungen in der Tubulus-Feinstruktur- *Zool.Jb.Anat.* 106 : 527

JANSSENS F. (1891)

Les branchies des Acéphales - *Cellule* vol 9 : 7

JOKELA J., E.T. VALTONEN und M. LAPPALAINEN (1991)

Development of glochidia of *Anodonta piscinalis* and their infection of fish in a small

lake in northern Finland- *Arch.Hydrobiol.* 120 (3): 345

JONES H.D. (1983)

The circulatory systems of gastropods and bivalves- *Academic Press, Inc, Vol. 5, Part 2* 4.: 189

JUNGBLUTH J.H. und W. UTERMARK (1981)

Die Glochidiose der Salmoniden in Mitteleuropa: Infektion der Bachforelle *Salmo trutta fario* L. durch die Glochidien der Flußperlmuschel *Margaritifera margaritifera* (L.)- *Fisch und Umwelt* (10): 153

KARGER R.E. WEBER*/S. (1990)

Comparative Physiology- S.Karger AG/Basel(Switzerland), , Vol 6/II : 58

KASPRZAK K. (1986)

Role of Unionidae and Sphaeriidae (Mollusca, Bivalvia) in the eutrophic lake Zbechy and its outflow- *Int.Revue ges.Hydrobiol.*, Leipzig 71 : 315

KAT P.W. (1984)

Molecular genetics of peripheral populations of Nova Scotian Unionidae (Mollusca: Bivalvia)- *Biological Journal of the Linnean Society* 22 : 157

KAT P.W. (1983)

Morphologic divergence, genetics, and speciation among *Lampsilis* (Bivalvia: Unionidae)- *J.Moll.Stud.* 49 : 133

KAT P.W. (1984)

Parasitism and the Unionacea (Bivalvia)- *Biol.Rev.Cambridge Philos.Soc.* 59 : 189

KATO K. (1960)

Excretion of the Keber's organ in some lamellibranchs- *Sci.Rep.Saitama Univ. Ser B* (3): 233

KELLER A.E. und S.G. ZAM (1990)

Simplification of in vitro culture techniques for freshwater mussels- *Environ.Toxicol.Chem.* 9 (10): 1291

KIER W.M. (1988)

The arrangement and funktion of molluscan muscle- *Academic Press, Inc, , 11* 9: 211

- KILIAS R.** (1985)
12. Stamm Mollusca- Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 12: 9
- KINZELBACH R. und K.O. NAGEL** (1986)
Redescription of the Glochidium of *Pseudanodonta complanata* (Bivalva, Unionidae)- Verh. naturwiss. Ver. Hamburg (NF) 28 : 65
- KLEINIG H. und P. SITTE** (1984)
Zellbiologie- Fischer
- KOBAYASHI I.** (1971)
Internal shell microstructure of recent bivalvan molluscs - Sc. Rep. Niigata Univ. Ser. E, Geol. Mineralogie, Niigata 2 : 7
- KOLODZEY H.** (1989)
Zur Histologie der Mitteldarmdrüsen bei *Anodonta cygnea* und *Anodonta piscinalis*- Diplomarbeit Inst. f. Zoologie
- KORSCHOLT E.** (1913)
Perlen, Altes und Neues über ihre Struktur, Herkunft und Verwertung- Fortschritte d. Nat.-Wi. Forschg. 7 : 110
- KORSCHOLT E.** (1922)
Lebensdauer, Alter und Tod-, 2. Aufl.
- KORSCHOLT E. und HEIDER** (1936)
Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Tiere- Fischer-Verl. Jena, , 2 :
- KORSCHOLT E. und HEIDER** (1936)
Vergleichende Entwicklungsgeschichte der Tiere- Gustav Fischer Verlag, Jena, 1 39: 929
- LABOS E., S.R. KATALIN und J. SALANKI** (1964)
On the Role of SH-Groups in the rhythmic Activity of Adductor Muscle of Glochidia- Annal. Biol. Tihany 31 : 39
- LANE D.J.W. und J.A. NOTT** (1975)
A study of the morphology, the fine structure and histochemistry of the foot of the pediveliger of *Mytilus edulis* (L.)- J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 55 : 477
- LANKESTER E.R.** (1876)
Remarks on the shell gland of *Cyclas* and the planula of *Limnaeus*- Quart. Jour. Micr. Sci. Vol. XVI
- LEFEVRE G. und W.C. CURTIS** (1919)
Reproduction and Parasitism in the Unionidae- Journ. of Experimental Zoologie 9 : 79
- LILLIE F.R.** (1895)
The embryology of the Unionidae- Journal of Morphology X (1): 1
- LILLIE F.R.** (1895)
The Embryology of the Unionidae- Journ. of Morphology X (1): 1
- LOSSE G. und H. GREVEN** (1990)
Die Feinstruktur des Bruttaschenepithels zweier viviparer Prosobranchier, *Viviparus contectus* Millet und *Littorina saxatilis* Olivi (Gastropoda)- dtsh Zool. Ges.
- MAAB S.** (1987)
Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie einheimischer Süßwassermuscheln der Gattung *Unio*- Inauguraldissertation, Tierärztliche Hochschule Hannover, : 108
- MACHADO J. et al.** (1988)
Ultrastructural and Cytochemical Studies in the Mantle of *Anodonta cygnea*- Tissue & Cell 20 (5): 797
- MACHADO J., F. CASTILHO, J. COIMBRA, E. MONTEIRO, C. SA und M. REIS** (1988)
Ultrastructural and cytochemical studies in the mantle of *Anodonta cygnea*- tissue & cell 20 (5): 797
- MACKIE G.L.** (1986)
Funktional morphology of the mantle of North American Corbiculacea- Amer. Malac. Bull. 4 : 116
- MACKINTOSH N.A.** (1925)
The crystalline style in gastropods- Quart. J. Microsc. Sci. N.S. 274 : 317
- MCLEAN N.** (1980)
Phagocytosis by epidermal cells of the mantle of *Mytilus edulis* (Mollusca, Bivalvia)- Comp. Biochem. Physiol. A (66A): 367
- MEYERS T.R. und R.E. MILLEMANN** (1977)
Glochidiosis of Salmonid Fishes. I. Comparative Susceptibility to Experimental Infection with *Margaritifera margaritifera* (L.) (Pelecypoda: Margaritanidae)- The Journal of Parasitology 63 (4): 728

- MEYERS T.R. und R.E. MILLEMANN** (1977)
Glochidiosis of Salmonid Fishes. I. Comparative Susceptibility to Experimental Infection with *Margaritifera margaritifera* L- Journ. of Parasitology 63 (4): 728
- MEYERS T.R., R.E. MILLEMANN und FUSTISH** (1980)
Glochidiosis of salmonid fishes IV. Humoral and tissue reponse of Coho and Chinook Salmon to experimental infection with *Margaritifera margaritifera*.- Journ. Paras. (66): 274
- MEYHÖFER E., P.M. MORSE und W.E. ROBINSON** (1985)
Podocytes in bivalve molluscs: Morphological evidence for ultrafiltration- J.Comp.Physiol. B 156 : 151
- MORSE P.E. et al.** (1986)
Hemocyanin Respirator Pigment in Bivalve Mollusks- Science 231 : 1302
- MORTON B.** (1977)
The hypobranchial gland in the Bivalvia - Can.J.Zool. 55 : 1225
- MORTON B.S.** (1977)
The tidal rythm of feeding and digestion in the pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg)- J.Exp.Mar.Biol.Ecol. 26 : 135
- MORTON J.E.** (1960)
The functions of the gut in ciliary feeders- Biol.Rev. 35 : 92
- NAGY I. und E. LABOS** (1969)
Light and electron microscopical investigations on the adductor muscle and nervous elements in the larva of *Anodonta cygnea* L.- Annal. Biol. Tihany 36 : 123
- NAGY I.Z.S.** (1974)
Some quantitative aspects of oxygen consumption and anaerobic metabolism of molluscan tissues - A review- Comp.Biochem.Physiol. 49A : 399
- NAGY I.Z.S.** (1967)
Histological, Histochemical and Electron-Microscopical Studies on the Cytosomes of the Nerve Cells in *Anodonta Cygnea* L. (Mollusca, Lamellibranchiata).- Biological Research Institute, Tihany, 34 : 25
- NARAIN A.S.** (1973)
The amoebocytes of lamellibranch molluscs, with special reference to the circulating amoebocytes- Malac.Rev. 6 : 1
- NESLIN L. und V. SJUGANOW** (1991)
Beitrag zum Wiederaufleben der Gewinnung von "Russischen Perlen"
leisten- Business Contact (1): 39
- NIEBER F.** (1988)
Unspezifische und spezifische Abwehrmechanismen der Fische im Vergleich zu Warmblütern- Diss., Tierärztl. Hochsch. Hannover
- NIEMEYER B.** (1992)
Vergleichende Untersuchungen zur bionomischen Strategie der Teichmuschelarten *Anodonta cygnea* L. und *Anodonta anatina* L.- Diss. Hannover
- NOTTBOHM G.** (1984)
Beiträge zur Molluskenfauna des nördlichen Leineberglandes (I.Süßwassermollusken)- Beitr.Naturk.Niedersachsens 37 : 220
- ODHNER N. H.** (1912)
Morphologische und phylogenetische Untersuchungen über die Nephridien der Lamellibranchier- Z.Wiss.Zool. 100 : 287
- OHNSORGE J. und R. HOLM** (1978)
Rasterelektronenmikroskopie, eine Einführung für Mediziner und Biologen- Thieme, Stuttgart
- OTTAVIANI E.** (1988)
Histological and immunocytochemical studies on the origin of haemocytes in the freshwater snail *Planorbis corneus* (L.) (Gastropoda, Pulmonata)- Z.Mikrosk.Anat.Forsch (Leipzig) 102 (4): 649
- PAL S.G.** (1972)
The fine structure of the digestive tubules of *Mya arenaria* L.- Proc.Malac.Soc.Lond. 40 : 161
- PAL S.G. und S.MODAK** (1981)
Histophysiology of amoebocytes of marine and estuarine bivalves- Biol.Bull.India 3 : 110
- PATERSON C.G.** (1986)
Particle size selectivity in the freshwater bivalve *Elliptio complanata* (Lightfoot)- The Veliger 29 (2): 235

- PENNAK R.W.** (1953)
Pelecypoda (Clams, Mussels)- The Ronald Press Company, New York, : 694
- PFLUGFELDER O.** (1970)
Lehrbuch der Entwicklungsgeschicht und Entwicklungsphysiologie der Tiere- Fischer, Stuttgart
- PIANKA E.** (1970)
On r- and k-selection- The American Naturalist 104 : 592
- PIPE R.K.** (1987)
Ultrastructural and cytochemical study on interactions between nutrient storage cells and gametogenesis in the mussel *Mytilus edulis*- Marine Biology 96 : 519
- POTT R.** (1980)
Abhandlungen aus dem Landesmuseum für Naturkunde zu Münster in Westfalen- Abh.Land.Mus.f.Natk.,Münster(Westfalen),, 42 2:
- PRECHT H., J. CHRISTOPHERSEN, H. HENSEL und W. LARCHER** (1973)
Temperature and Life - Springer-Verlag.New York
- PRYADKO V.P. und V.A. KRISAL'NYI** (1980)
Histophysical tissue changes in some of the organs of *Anodonta cygnea* under the influence of various calcium concentrations- Hydrobiol.ZH.(Hydrobiol.J.) 16 (1): 56
- PURCHON R.D.** (1960)
The stomach in the Eulamellibranchia; stomach type IV and V- Proc.Zool.Soc.London 135 :
- PURCHON R.D.** (1958)
The stomach in the Eulamellibranchia; stomach type IV- Proc.Zool.Soc.London 131 : 487
- RABL C.** (1876)
Über die Entwicklungsgeschichte der Malermuschel- Jenaer Z. f. Naturwiss. 10 : 310
- RATCLIFFE N.A. und A.F. ROWLEY** (1981)
Invertebrate blood cells- Academic Press, London, Vol.1
- REYNOLDS E.S.** (1963)
The use of lead citrate at high pH as an opaque stain in electron microscopy- J. Cell. Biol. (17): 208
- ROBINSON D.G. et al.** (1985)
Präparationsmethodik in der Elektronenmikroskopie- Springer
- ROCHA E. und C. AZEVEDO** (1990)
Ultrastructural study of the spermatogenesis of *Anodonta cygnea* L (Bivalvia, Unionidae)- Inverteb.Reprod.Dev. 18 (3): 169
- ROMEIS B.** (1989)
Mikroskopische Technik- Urban & Schwarzenberg, München-Wien- Baltimore
- ROSSO S.W.** (1954)
A study of the shell structure and mantle epithelium of *Musculium transversum* (Say)- J.Wash.Acad.Sci. 44 : 329
- ROBMÄBLER E.A.** (1837)
Iconographie der Land- und Süßwasser-Mollusken mit vorzüglicher Berücksichtigung der europäischen noch nicht abgebildeten Arten- (Arnolische Buchhandlung), Dresden und Leipzig Bb. 1 (I-VI (1835-37) (1835))
- ROBMÄBLER E.A.** (1844)
Iconographie der Land- und Süßwasser-Mollusken mit vorzüglicher Berücksichtigung der europäischen noch nicht abgebildeten Arten- (Arnoldische Buchhandlung), Dresden und Leipzig Bd.VI (Heft XII u. VIII): S. 2
- RUSSELL-HUNTER W.D., D.E. BUCKLEY und D.W. ALDRIDGE** (1981)
Recent technical modifications of total organic carbon analyses for molluscan growth studies- J.Mool.Stud. 48 : 103
- RUSSELL-HUNTER W.D., R.T. MEADOWS, M.L. APLEY und A.J. BURKY** (1968)
On the use of a 'wet-oxidation' method for estimates of total organic carbon in mollusc growth studies- Proc.Malac.Soc.Lond. 38 : 1
- SCHIERHOLZ C.** (1888)
Über die Entwicklung der Unioniden- Denkschrift der kaiserl. Akademie der Wissenschaften, math.-naturwiss. Cl (Wien) LV : 183
- SCHIERHOLZ C.** (1888)
Über die Entwicklung der Unioniden- Denkschrift der k. Akademie der Wiss. zu Wien, mathemat. naturw. Cl. LV : 183

- SCHIERHOLZ C.** (1889)
Entwicklung der Unioniden- Denkschriften d. Kaiserlichen Akademie d. Wissenschaften, Mathemat. -Natwi. Classe 55 (A): 183
- SCHMIDT F.** (1885)
Beitrag zur Kenntnis der posembryonalen Entwicklung der Najaden- Arch. d. Naturgeschichte 51 : 201
- SCHRODER O.** (1907)
Beitäge zur Histologie des Mantels von Calyculina (Cyclas) lacustris Müller- Zool.Anz. 31 : 506
- SCHWOERBEL J.** (1986)
Methoden der Hydrobiologie- Süßwasserbiologie- Gustav Fischer, Stuttgart New York
- SENGBUSCH P.V.** (1979)
Molekular- und Zellbiologie- Springer, , :
- SILVERMAN H., W.T. KAYS und T.H. DIETZ** (1987)
Maternal calcium contribution to glochidial shells in freshwater mussels (Eulamelli-branchiata: Unionidae)- J.Exp.Zool. 242 : 137
- SILVERMAN H., W.L. STEFFENS und T.H. DIETZ** (1983)
Calcium concretions in the gills of a freshwater mussel serve as a calcium reservoir during periods of hypoxia- J.Exp.Zool. 227 : 177
- SILVERMAN H., W.L. STEFFENS und T.H. DIETZ** (1985)
Calcium from extracellular concretions in the gills of freshwater unionid mussels is mobilized during reproduction- J.Exp.Zool. 236 : 137
- SMITH D.G.** (1986)
The stomach anatomy of some eastern North American Margaretiferidae (Unionoida: Unionacea)- Amer.Malac.Bull. 4 (1): 13
- SPANNHOF L.** (1967)
Einführung in die Praxis der Histochemie- Gustav Fischer Verlag
- STEINHAGEN D.** (1993)
Fische als Modell für parasitologische Untersuchungen- Vortrag im Zoologischen Seminar der Tierärztl. Hochsch. Hannover
- STEITZ E. und G. STENGEL** (1984)
Die Stämme und Klassen des Tierreichs Eine Übersicht- Verlag Chemie, Deerfield Beach, Florida-Basel, 11.6 : 122
- STEPANOFF P.** (1865)
Über die Geschlechtsorgane und die Entwicklung von Cyclas - Archiv.f.Naturgeschichte. 31.Jahrgang/Bd.1 : 1
- STÖCKER S. und C. WISSEL** (1989)
Modelle über die Auslöschung von Populationen- Verhandlungen d.Ges.f.Ökologie (Essen 1988) XVIII : 491
- SUMNER A.T.** (1966)
The cytology and histochemistry of the digestive-gland cells in some freshwater lamellibranchs- J.Roy.Micr.Soc. 85 (2): 201
- THIEL M.E.** (1928)
Zur Biologie unserer Süßwasser-Muscheln- Z.f.Wiss.Biologie (Abt. A. Z.f. Morphol. u. Ökol. Tiere) 13 : 65
- THIELE J.** (1961)
Mollusca- Gustav Fische Verlag, Stuttgart, 19 :
- THOMAS G.J.** (1954)
Notes on raising sphaeriid clams in the laboratory- Turtox News, Cicago, Ill. 32
- TRUEMAN E.R.** (1983)
Locomotion in molluscs- Academic Press, Inc, , 4 4: 155
- UTERMARK W.**
Untersuchungen über die Wirtsfischfrage für die Glochidien der Flußperlmuschel- Staatsex- amensarbeit, Inst. f. Zoologie d. Tierärztl. Hochschule Hannover
- VAN CLEAVE H.J.** (1940)
Ten years of observation on a fresh-water mussel population- Ecology 21 (3): 363
- VAN CLEAVE H.J. und L.G. LEDERER** (1932)
Studies on the life cycle of the snail, Viviparous contectoides- J.Morphol. 53 : 499
- VANCLEAVE H.J., A.G. WRIGHT und C.W. NIXON** (1947)
Preliminary observations on reproduction in the molluscan genus Musculium- The Nautilus 61 : 6
- VIELHAUSER W.** (1943)
Eine Beobachtung über Musculium lacustre (O.F.Müller).- Arch.Molluskenk.Frankfurt a.M. 75 : 195

- VON LÖBBECKE-LAUENROTH E.** (1992)
Regenrückhaltebecken. Ihre Bedeutung für den Naturschutz- Diplomarbeit Inst.f.Zoologie, TIHO, Hannover
- WÄCHTLER K.** (1973)
Zur Biologie der Flußperlmuschel *Margaritifera margaritifera* (L.). Entwicklung, Gefährdung, Aussichten.- Naturwissenschaften : 225
- WÄCHTLER K.** (1986)
Zur Biologie der Flußperlmuschel *Margaritifera margaritifera* (L.), Entwicklung, Gefährdung, Aussichten- Naturwissenschaften 73 : 225
- WÄCHTLER K., V. BUDDENSIEK und R. DETTMER** (1990)
The final refuge of the freshwater pearl mussel- Reports of the DFG german research/VCH 2 : 4
- WÄCHTLER K., R. DETTMER und V. BUDDENSIEK** (209-224)
Zur Situation der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera* (L.)) in Niedersachsen: Schwierigkeiten, eine bedrohte Tierart zu erhalten- Ber. naturhist. Ges. Hannover (129): 209
- WÄCHTLER K., C. ERARD, R. DETTMER und G. SCHARSACK** (1992)
Parasit-Wirtbeziehungen zwischen Muscheln und Fischen: Die Entwicklung von Glochidien der Flußperlmuschel (*Margaritifera margaritifera* L.) an Forellen und Lachsen-Verh. Dtsch.Zool. Ges.(Short Communications) 85 : 17
- WAY C.M., D.J. HORNBACH und AL** (1989)
A description of the ultrastructure of the gills of freshwater bivalves, including a new structure, the frontal cirrus- Canadian Journal of Zool, 67 (2): 357
- WAY C.M., D.J. HORNBACH und A.J. BURKY** (1980)
Comparative life history tactics of the sphaeriid clam, *Musculium partumeium* (Say), from a permanent and a temporary pond- Am.Midl.Nat. 104 : 319
- WAY C.M., D.J. HORNBACH, T. DENEKA und R.A. WHITEHEAD** (1988)
A description of the ultrastructure of the gills of freshwater bivalves, including a new structure, the frontal cirrus- Can.J.Zool. 67 (2): 357
- WELLMAN G.** (1943)
Fischinfektionen mit Glochidien der *Margaritana margaritifera*- Zt. Fischerei 41 : 385
- WELLMANN G.** (1943)
XV. Fischinfektionen mit Glochidien der *Margaritana margaritifera*- Zeitschr. f. Fischerei 41 : 385
- WELLMANN G.** (1939)
Untersuchungen über die Flußperlmuschel (*Margaritana margaritifera*) und ihren Lebensraum in Bächen der Lüneburger Heide- Zeitschr. f. Fischerei 36 : 489
- WELLMANN G.** (1943)
Versuche zur Einbürgerung amerikanischer zur Perlmuttergewinnung geeigneter Süßwassermuscheln- Zeitschr. f. Fischerei und deren Hilfswissenschaften 41 : 345
- WELSCH U. und V. STORCH** (1973)
Einführung in Cytologie und Histologie der Tiere- Fischer
- WERNER J.** (1990)
RWL Histotechnologie Methodensammlung- Vagen
- WESENBERG-LUND C.** (1939)
Wirbellose Tiere- Julius Springer Verlag, Wien,
- WESENBERG-LUND C.** (1939)
Biologie der Süßwassertiere- Springer, Wien, Mollusca :
- WIGGINS G.B., R.J. MACKAY und I.M. SMITH** (1980)
Evolutionary and ecological strategies of animals in annual temporary ponds- Arch.Hydrobiol.Suppl. 58 : 97
- WILLMANN R. und H. PIEPER** (1978)
Lamellibranchiata- Gustav Fischer Verlag, New York Swets & Zeitlinger B.V., : 135
- WILMS U.** (1991)
Die Kieme als Brutraum- Diplomarbeit Inst.f.Zoologie :
- WOOD E. M.** (1974)
Development of the glochidium larva of *Anodonta cygnea* (Mollusca: Bivalvia) - J.Zool.(London) 173 : 1

WOOD E.M. (1974)

Some mechanisms involved in host recognition and attachment of the glochidium larva of *Anodonta cygnea* (Mollusca. Bivalva)- J. Zool. London 173 : 15

WOODS F.H. (1932)

Keimbahn determinants and continuity of the germ cells in *Sphaerium striatinum* (Lam.)- J.Morphol. 53 : 345

YONGE C.M. (1928)

Feeding mechanisms in the invertebrates- Biol.Rev. 3 : 21

YOUNG D. (1911)

The Implantation of the Glochidium on the Fish- Univ. MO Bull. Sci. Ser. 2 (1): 1

YOUNG M. und J. WILLIAMS (1984a)

The reproductive biology of the freshwater pearl mussel *Mararitifera margaritifera* L in Scotland, I. Field studies- Arch Hydrobiol. 99 (4): 405

YOUNG M. und J. WILLIAMS (1984 a)

The reproductive biology of the pearl mussel in Scotland. I. Field studies.- Arch. Hydrobiol. (99): 405

YOUNG M. und J. WILLIAMS (1984b)

The reproductive biology of the freshwater peark mussel *Margaritifera margaritifera* L in Scotland, II. Laboratory studies- Arch. Hydrobiol. 100 (1): 29

YOUNG M. und J. WILLIAMS (1984 b)

The reproductive biology of the freshwater pearl mussel in Scotland. II. Laboraory studies.- Arch. Hydrobiol. (100): 29

9. Anhang

1. Teehaushälterung:

Die Muschelhalterungsanlage befindet sich im Keller des sogenannten Teehauses direkt neben dem 1924/25 künstlich angelegten Teich des Botanischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule auf dem Gelände des Westfalenhofes. Dieser Teich wurde 1989 zum letzten Mal ausgebaggert und blieb seitdem der natürlichen Sukzession überlassen. Ton bildet den Untergrund und zwei Quellen speisen ihn. Die Halterungs-anlage besteht aus 18 Kunststoffbecken mit einem Fassungsvermögen von jeweils 10 Litern. Das zugeführte Wasser wird 50cm unterhalb der Teichoberfläche entnommen und per Zeitschaltuhr halbstündlich für jeweils 15 Min. in die Becken gepumpt. Der Abfluß erfolgt nach dem Überlaufprinzip. Mit Sprudelsteinen wird zusätzlich belüftet und Kunstlicht mit UV-Anteil (OSRAM L 18 W/11, LUMILUX Daylight) samt Zeitschaltung sorgt für den Tag-/Nachtwechsel. Bis auf die anspruchsvollen und hochgradig empfindlichen Fließgewässerarten *Margaritifera margaritifera* und *Unio crassus* konnten hier auf Sediment unter naturnahen Bedingungen alle *Unionacea* langfristig gehältert werden (T.Bauer 1992, Wilms 1991, Kufuß 1992)

Getestete Chemikalien zur Glochidienbetäubung:

Auf die "klassische Methode", das Überführen in kochendes Wasser (Harms 1909), wurde von Anfang an verzichtet. Für die Betäubungsversuche wurden die weniger gefährdeten Arten *Unio tumidus*, *Unio pictorum* und die beiden Anodonten benutzt. Nach anfänglichen Mißerfolgen bei höheren Temperaturen.wurden die Glochidien auf 7°C heruntergekühlt und dann erst mit Betäubungsmittel behandelt. Die Larven befanden sich stets in 20 ml filtriertem Halterungswasser.

Chemikalie	Dosierung	Einwirkzeit ins-	% offene
	halbstündlich	gesamt	Glochidien
Äthylenglycol- monophenylether	1 Tr.	3 -4 Std.	30 -40%
Äther	5 µl	2 Std.	15 -20%
Mg Cl ₂ , wässrig gesättigt	3 Tr.	3 -4 Std.	60 - 70%
Menthol in Substanz	3-5 Kristalle	3 -4 Std.	20 -30%

Mit Schalenschluß reagierten die Larven auf folgende Chemikalien:

MS 222, Methane-Sulfonate, Fischbetäubungsmittel, (Fa. Sigma, Nr.A-5040 3 Aminobenzoic Acid Ethyl-Ester)
Chloroform (Als Versuchsanlage großes geschlossenes Glasgefäß, darin offen und in 2 Bechergläsern und Chloroform)
Glochidien
Medium zur Jungmuschelbetäubung (Hetzel 1989 mdl.)
(4 Tr. Ethylenglycolmonophenylether,
1 Spatelspitze Menthol
50µl Rousselot`sche Lösg.
ad 25 ml filtriertes Hälterungswasser)

Übersicht der Glochidienbetäubung

Die Wassermenge betrug stets 20 ml, das Magnesiumchlorid war als gesättigte Lösung angesetzt. Bei der Fixierung wurde stets 10 ml Hälterungswasser abpipettiert und 2%Glutaraldehyd langsam zugesetzt.

Margaritifera margaritifera

Standortwasser
nach 1/2h 7°C 1 Tr. MgCl₂
Tr. MgCl₂
nach 1h 7°C 3 Tr. MgCl₂
Tr. MgCl₂
nach 1 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
Tr. MgCl₂
nach 2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
Tr. MgCl₂
nach 2 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
nach 3h 7°C 5 Tr. MgCl₂
nach 4h 7°C fixiert, tropfenweise.

Pseudanodonta complanata

Teichwasser
nach 1/2h 7°C 1
nach 1h 7°C 3
nach 1 1/2h 7°C 3
nach 2h 7°C 5
nach 3 h fixiert, zügig.

Anodonta cygnea

Hälterungswasser
nach 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
MgCl₂
nach 1h 7°C 3 Tr. MgCl₂
MgCl₂
nach 1 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
MgCl₂
nach 2h 7°C 5 Tr. MgCl₂
nach 2 1/2h 7°C fixiert, zügig .

Unio tumidus

Teichwasser
nach 1/2h 7°C 2 Tr. MgCl₂
MgCl₂
nach 1h 7°C 3 Tr. MgCl₂
MgCl₂
nach 1 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
nach 2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
MgCl₂
nach 2 1/2h 7°C 5 Tr. MgCl₂
MgCl₂
nach 3h 7°C fixiert, zügig.

Unio crassus

Standortwasser
nach 1/2h 7°C 1 Tr. MgCl₂
nach 1h 7°C 3 Tr. MgCl₂
nach 1 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
nach 2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
nach 2 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
nach 3h 7°C 5 Tr. MgCl₂
nach 3 1/2 h tropfenweise fixiert.

Anodonta anatina

Hälterungswasser
nach 1/2h 7°C 3 Tr.
nach 1h 7°C 3 Tr.
nach 1 1/2h 7°C 3 Tr.
nach 2h 7°C 5 Tr. MgCl₂
nach 2 1/2h 7°C fixiert, zügig.

Unio pictorum

Teichwasser
nach 1/2h 7°C 2 Tr.
nach 1h 7°C 3 Tr.
nach 1 1/2h 7°C 3 Tr. MgCl₂
nach 2h 7°C 3 Tr.
nach 2 1/2h 7°C 5 Tr.
nach 3h 7°C zügig fixiert.

zu 2.2.2.4. Färbungen:

#) bei RWL-Kunststoff weglassen bzw bei Entwässerung luft- oder föhntrocknen

1a) Hämatoxylin-Eosin (Burck1988)

Lösungen:

Hämalaun n. Delafield:

4g Hämatoxylin (Merck) in 25ml 100% Ethanol lösen
400ml 10% wässr. Ammoniumaluminiumsulfat zusetzen
4 Tage stehen lassen, filtrieren
je 100ml Glycerin und Methanol zufügen.
nach 1-2 Monaten Reifezeit anwendbar

Eosin-Lösg.: 0,1% wässr. Eosinlösg. filtrieren
zu 200 ml 3-5 Tr. Eisessig zugeben

HCl-Alkohol: 1ml konz.HCl ad 100ml 70% Ethanol

<u>Färbung:</u>	Kernfärbung mit Hämalaun	1h
	HCl-Alk. #) s. o.	2-5"
	Bläuen , fließend in Leitungswasser	15'
	gegenfärben m. Eosin	5'
	Differenzieren in 100% Isopropanol	
	Xylol, mit DePex oder Eukitt eindecken.	

Ergebnis: Zellkerne, saurer Schleim und Kalk blau, Muskeln und Bindegewebe rot

1b Halmi:

Lösungen:

Weigert I : 1g Hämatoxylin in 100ml 96% Ethanol lösen

Weigert II: 4ml gesättigte (29%) wässr. Eisen III-Chloridlösung.
1ml HCl 25%
95 ml Aqua dest.

Kernechtrot: 1g Kernechtrot (Chroma) in 100ml 5% wässr. Aluminiumsulfat
aufkochen, kalt filtrieren

Halmi-Lösung: 0,4g Lichtgrün (Merck)
2,0g Orange G (Chroma)
1,0g Phosphorwolframsäure (Merck)
2 ml Eisessig
in 200 ml A. dest lösen

Färbung:

Weigert I+II, 1:1 frisch, auftropfen (Färbekammer) 1-2'
in Aq. dest. sammeln
in Leitungsw. Bläuen 10'
Kernechtrot bei 60°C 30'
Spülen m. A. dest.
Halmi-Lösung. 3-5'
aufsteigend Alkohol #) s.o., Xylol, eindecken.

Ergebnis: Zellkerne rot, elastische Fasern rotviolett, kollagene Fasern grün,
Erythrozyten orange.

1c Methylenblau-Azur B-Eosin

#) s.o., gut für Durcupan (Semidünnschn.)

Lösungen:

Methylenblau-Azur B:

0,5g Methylenblau
0,5g Azur B
0,5g Borax (Na-tetraborat)
100ml A. dest.

nach Richardson:

1% Methylenblau in 1% Borax
1% Azur II in A. dest.
diese Stammlösungen vor Ge-
brauch 1:1 mischen

Ethanolisches Eosin:

1,0g Eosin gelblich, wasserlös.
20 ml A.dest.
80 ml Ethanol abs.

Färbung: Technovit: Durcupan (Semidünn)
Methylenblau-Azur B 10-20' auf Heizplatte 60°, 30"
95%Alk. überschüssige Farbe auswaschen
Mikroskopkontrolle
alkohol. Eosin 0.5-1' 1,5-2'
spülen in 1% Esigsre. (schell)
trocknen, eindecken

Ergebnis: basophile und osmiophile Strukturen blau, metachromatische Substanzen rotviolett.

1d Methylenblau-Azur II:

Methylenblau-Azur II b. nach Richardson, Ansatz s. o.1c, 10'
spülen in Leitungsw. und 1mal A.dest.
1% bas. fuchsin als Gegenfärbung 1'
entwässern über Alk. #)s.o., Xylol, eindecken

1e) Tuloidinblau-Fuchsin:

Lösungen:

0,1% Tuloidinblau in 2,5% wässriger Na_2CO_3
1% basisches Fuchsin in A. dest.

Färbung:

Tuloidinblau bei 60°C 1-2'
" " Zimmertemp. 20-30'
spülen in A.dest., trocknen
1% bas. Fuchsin bei 60°C 1-2'
spülen in A. dest., trocknen, eindecken

Ergebnis: basophile und osmiophile Strukturen leuchtend blau, Bindegewebe rot

auswaschen Wasser	2' 4' 4'
spülen A. dest.	
0,3% Na-Carbonat	30'
auswaschen Wasser	2' 4' 4'
spülen A. dest.	
0,5% Perjodsre.	5 - 10'
spülen A. dest.	
Schiff'sches Reagenz	15'
spülen in SO ₂ -Wasser	2'2'2'
waschen Wasser	10'
spülen A. dest.	
Harris Haematoxylin	30''
spülen A. dest.	
bläuen in Wasser	10'
A. dest., trocknen, eindecken	

Ergebnis: saure Mucopolysaccharide blau, neutrale Polysaccharide rot.

3d Ziehl-Neelsen:

Lösungen:

Karbolfuchsin Stammlösg.:

A) 1g basisches Fuchsin in 10 ml Ethanol (Isopropanol bei RWL)

B) 5g Phenol (ätzend!) in 100 ml A. dest.

A+B vereinigen

1:10 verdünnt mit A.dest. = Gebrauchslösg.

Methylenblau:

1g Methylenblau in 1% Essigsre.

Färbung:

Karbolfuchsin 1:10 verdünnt bei 60°C 30'

spülen in VE

lufttrocknen (Föhn)

differenzieren in 70% Isopropanol mit 1%HCl 20''

(2ml auf 200ml)

spülen in VE

Gegenfärbung mit Methylenblau
spülen in VE, trocknen, eindecken

1 - 2'

Ergebnis: Granula der Makrophagen leuchtend rot, Kerne blau.

4.a) Gömörie

Technovit, RWL

Lösungen:

0,5% Kaliumpermanganat (frisch ansetzen)

1% Kaliummetabisulfit (K-disulfit) aus 3% Stammlösg.

2% Ammoniumeisen(III)sulfat (Eisenaun) frisch ansetzen, löst sich schlecht,
ev. 3g ad 100 ml A.dest. , filtrieren

Ammoniakalisches Silbersalz: *in Schüttelmensur, ständig schwenken!*

10 ml Silbernitrat 10 %

2ml KOH 10 % (schwarzer Niederschlag)

konzentrierten Ammoniak tropfenweise (ca. 10 ml) bis der Niederschlag
verschwunden ist

mit A. bidest. auf doppeltes Volumen auffüllen

10 % Formalin (Vol. %), 1 + 9 mit Leitungswasser

0,2% Goldchlorid aus 1% Stammlösg. (Merck 1582)

1% Natriumthiosulfat (Fixiernatron)

Färbung:

0,5% Kaliumpermanganat	1'	(einstellen)
Leitungswasser auswaschen	10'	
1% Kaliummetabisulfit	1'	
(bleichen muß kalkweiß sein)		
Leitungswasser auswaschen		
2% Ammoniumeisen(III)sulfat	1'	(beizen)
Leitungswasser auswaschen		
3 mal Aqua bidest.	je2'	

- keine Metallpinzetten mehr benutzen-		
ammoniakalisches Silbersalz	2'	
in 2 Küvetten Bidest <u>rasch</u> abspülen		
10vol% Formalin	5'	(reduzieren)
Leitungswasser auswaschen		
3 mal Aqua bidest.	je2'	
0,2% Goldchlorid	10'	
(macht durchsichtig, Mikroskopkontrolle)		
abspülen mit A.dest.		
1% Kaliummetabisulfit	1'	
1% Na-thiosulfat	..1'	(fixieren)
auswaschen mit Leitungswasser	30'	
trocknen, eindecken		

Ergebnis: Untergrund schiefergrau bis maulbeerfarben, elastische Fasern schwarz.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich

bei Herrn Prof. Dr. K. Wächtler für die Vergabe des interessanten Themas, seine Betreuung und seine Unterstützung durch Rat und Anregung,

bei Herrn Prof. Dr. M. Röhrs für das Wohlwollen, mit dem er diese Arbeit begleitet hat,

bei der Arbeitsgemeinschaft für Elektronenmikroskopie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, besonders bei Herrn Prof. Dr. Lehmann und bei Herrn Dr. Stelzer für die Unterstützung durch Rat und Tat, bei Frau Kunz und Frau Franke für die freundliche Hilfe und bei Herrn Prof. Dr. Drommer für zur Verfügung gestelltes Arbeitsgerät,

bei allen Angestellten des Instituts für Zoologie, besonders bei Frau Engelke und Frau Wilkens für ihre Freundlichkeit, bei Frau Sippel für ihre Hilfe, bei Herrn Dr. Ebinger und Herrn Dr. Löhmer für die freundliche Anteilnahme, bei Prof. Dr. Meier und PD. Dr. Uhr für die Anregungen zur Elektronenmikroskopie,

bei den Mitgliedern der "Muschelgruppe" (Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. K. Wächtler), insbesondere bei Herrn R. Dettmer für die zur Untersuchung der Larvalentwicklung der Flußperlmuschel erhaltenen Fischkiemen, bei Frau T. Bauer, Herrn Dr. V. Buddensieck, Herrn T. Kuhfuß, Herrn Dr. B. Niemeyer, Herrn E. Walmann, Frau U. Wilms, und der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Bauer, Bayreuth, für das zur Verfügung gestellte Material,

besonders bei Herrn U. Hetzel für die Hilfe am Computer und zusammen mit Herrn Dr. Weidemann für die ideenreichen Fachdiskussionen,

und ganz besonders bei meinen Söhnen für die vielfältigen, wahrhaft herzerfrischenden "Zusprüche".

Lebenslauf

Name: Scharsack, Gisela, geb. Mothes

Geburtsdatum: 17. 7. 1941

Geburtsort: Zwickau

Familienstand: verwitwet

Kinder: Jörn (21. 7. 65)
Dirk (4. 10 67)

Schulbildung: 47 bis 50 Volksschule Lengenfeld (ehem. DDR)
50 bis 52 Volksschule Holzminden
52 bis 57 Gymnasium für Mädchen Holzminden, Abgang mit
Mittlerer Reife
3/81 Immaturenprüfung im Fach Biologie

Berufsausbildung: 57 bis 59 Praktika in Krankenhaus und Kinderkurheim
59 bis 61 Ausbildung zur med. techn. Assistentin
81 bis 87 Studium der Fächer Biologie und Romanistik in
Hannover
Frühjahr 87 Erstes Staatsexamen
ab 87 Promotionsstudium im Fach Biologie

Berufspraxis: 62 bis 65 Tätigkeit als MTA bei Dr. med. Mensching
(Internist), Hannover
65 bis 75 Hausfrau
75 bis 81 Tätigkeit als MTA (Teilzeit) im Robert
Koch Krkhs. Gehrden
ab 87 Lehrauftrag zur Ausbildung von Arzthelferinnen an
der BBS 14, Hannover (Teilzeit)