

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

E 1917/1973

**Humorale Einkapselung von
Hydromermis contorta und Turbatrix aceti (Nematoda)
in Haemolymph von Chironomus thummi (Diptera)**

Mit 3 Abbildungen

GÖTTINGEN 1973

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

**Humorale Einkapselung von
Hydromermis contorta und Turbatrix aceti (Nematoda)
in Haemolymph von Chironomus thummi (Diptera)**

P. GÖTZ, Freiburg (Brsg.)

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Zelluläre Einkapselung

Im allgemeinen verteidigen sich wirbellose Tiere gegen eingedrungene Parasiten dadurch, daß sich Blutzellen in großer Zahl auf der Oberfläche des Eindringlings festsetzen und eine vielzellige Hülle um ihn bilden. Die innersten Zellen dieser Hülle scheiden zum Parasiten hin eine Pigmentschicht (Melanin) ab. Ein von einer derartigen Kapsel umschlossener Parasit ist nicht in der Lage, seine Entwicklung fortzusetzen, sondern stirbt innerhalb der Kapsel ab. Diese Abwehrreaktion ist bei Wirbellosen weit verbreitet und richtet sich gegen die verschiedensten Leibeshöhlenparasiten wie Protozoen, Trematoden, Cestoden und Nematelminthen, gegen Eier und Larven von Hymenopteren und Tachiniden sowie auch gegen insektenpathogene Pilze. Eine zusammenfassende Darstellung der zahlreichen Untersuchungen über die zelluläre Einkapselung hat u.a. SALT [8] gegeben.

Humorale Einkapselung

Eine Einkapselung ohne direkte Zellbeteiligung, bei welcher eine Substanz von der Hämolymphe unmittelbar auf die Oberfläche des Parasiten abgeschieden wird und diesen in eine starre Kapsel einschließt, ist bisher nur von Dipterenlarven bekannt geworden. Die erste Mitteilung darüber stammt von BRONSKILL [1], die auf das Fehlen von Blutzellen bei der Einkapselung des Nematoden *Neoapectana carpocapsae* in Larven der Stechmücke *Aedes aegypti* hinwies. Untersucht wurde dieses Phaenomen von GÖTZ [3] bei der Zuckmücke *Chironomus thummi* und später

¹ Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 13 — 15. — Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

von POINAR und LEUTENEGGER [7] bei *Culex pipiens*. Der vorliegende Film ist ein weiterer Beitrag zur Untersuchung dieser Abwehrreaktion.

Humorale Einkapselung in vivo

In Zuckmückenlarven, die aus Mermithiden-verseuchten Gewässern stammen, findet man neben normal entwickelten Parasiten nicht selten kleine braune Gebilde von der Größe der infektiösen Mermithidenlarve.

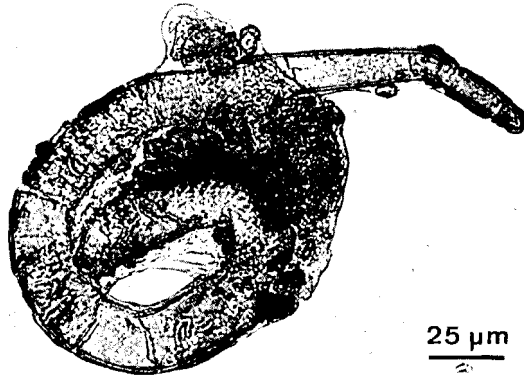


Abb. 1. Humorale Einkapselung in vivo. Diese abgetötete Larve des Insektenparasiten *Hydromermis contorta* (Nematoda: Mermithidae) wurde aus einer Zuckmückenlarve (Diptera: *Chironomus thummi*) herauspräpariert. Der spiralig aufgewundene Nematode ist von einer starren braunen Kruste umgeben, auf welcher sich nachträglich Gewebe des Wirtstieres festgesetzt hat

Wie bereits WÜLKER [10] erkannte, handelt es sich um abgetötete Parasiten, die gleich nach ihrem Eindringen vom Wirtstier durch „Inkrustierung“ unschädlich gemacht wurden und in dieser Form unverändert im Insektenkörper verblieben sind.

Von der Leistungsfähigkeit dieser Abwehrreaktion kann man sich leicht überzeugen. Bringt man Zuckmückenlarven und Larven einer Mermithide (z. B. *Hydromermis contorta*) in einer Petrischale mit etwas Wasser zusammen, dann werden in kurzer Zeit (wenige Minuten bis eine Stunde) eine Anzahl der Mermithidenlarven durch die Cuticula in die Leibeshöhle der Zuckmückenlarve eindringen. Mit dem erfolgreichen Eindringen ist jedoch die Weiterentwicklung der Nematoden

noch nicht gesichert; vielmehr werden einige von ihnen oder gar alle gleich nach ihrem Erscheinen in der Leibeshöhle von einer auf ihrer Oberfläche abgeschiedenen Substanz eingeschlossen. Dieses Kapselmaterial ist zunächst farblos und durchsichtig; es verfärbt sich im Verlauf von wenigen Stunden dunkelbraun. Präpariert man derartig eingekapselte Parasiten aus der Wirtslarve heraus und zerbricht die sie umgebende Kruste, so trifft man in den ersten Stunden den Wurm noch lebend an; später ist die eingeschlossene Mermithide abgestorben (Görtz [3]).

Die Fähigkeit zur Einkapselung ist auf seiten der Mückenlarven von Individuum zu Individuum unterschiedlich, nimmt außerdem mit steigendem Alter zu und ist schließlich auch noch von Art zu Art verschieden. Auch bei den Parasiten gibt es derartige Unterschiede. In ein und derselben Mückenlarve werden einige der eingedrungenen Parasiten eingekapselt und damit abgetötet, während andere der Einkapselung entgehen. Oft beobachtet man auch auf diesen Parasitenlarven in gewissem Umfang Abscheidungen von Kapselsubstanz, die aber von den sich heftig bewegenden Würmern aufgesprengt oder abgestreift werden.

Es besteht kein Zweifel, daß die Einkapselungsreaktion einen regulierenden Einfluß auf den Parasitierungsgrad hat. Waren Zuckmückenlarven dem Angriff durch infektiöse Mermithidenlarven ausgesetzt, so findet man danach fast immer erfolgreich parasitierte Mückenlarven neben anderen mit eingedrungenen und dann abgetöteten Parasiten und schließlich auch Mückenlarven, die überhaupt nicht befallen worden sind. Je nach der Menge der anwesenden eindringfähigen Mermithiden verschieben sich die Anteile dieser 3 Gruppen an der Gesamtpopulation der Mückenlarven. Im allgemeinen stellt sich ein Gleichgewichtszustand zwischen den Chironomiden und den Mermithiden ein. Bei den von uns seit Jahren beobachteten Freilandpopulationen von *Chironomus thummi* aus dem Raum Aachen schwankte der Prozentsatz der mit *Hydromermis contorta* infizierten Larven zwischen 0,1 und 10% und lag im Mittel bei 1—2%.

Die Einkapselungsreaktion scheint auch eine wichtige Rolle für die Wirtsspezifität der Mermithideninfektion zu spielen. Die infektiösen Larven von *H. contorta* dringen auch in solche Chironomidenlarven ein, in denen sie nie zur Entwicklung kommen, weil sie dort stets vollzählig eingekapselt werden (z.B. in *Polypedilum* oder *Procladius*; in diesem Falle durch zelluläre Einkapselung). Hier begrenzt die Einkapselungsreaktion den Wirkkreis auf Arten der Gattung *Chironomus*.

Humorale Einkapselung in vitro

Ein besonderer Vorzug der humoralen Einkapselung ist die Tatsache, daß sie auch außerhalb der lebenden Zuckmückenlarve in der isolierten Hämolymphe abläuft. Da die Hämolymphe von *Chironomus*-Larven im

Vergleich zu anderen Insekten nur wenige Blutzellen enthält (2000 mm^3 , MAIER [5], gegenüber $40\,000\text{--}60\,000 \text{ mm}^3$ etwa bei Blattoidea) und diese an der Reaktion nicht direkt beteiligt sind, ergeben sich sehr gute Möglichkeiten, den Ablauf der Reaktion unmittelbar unter dem Mikroskop zu beobachten und sie auch experimentell zu beeinflussen.

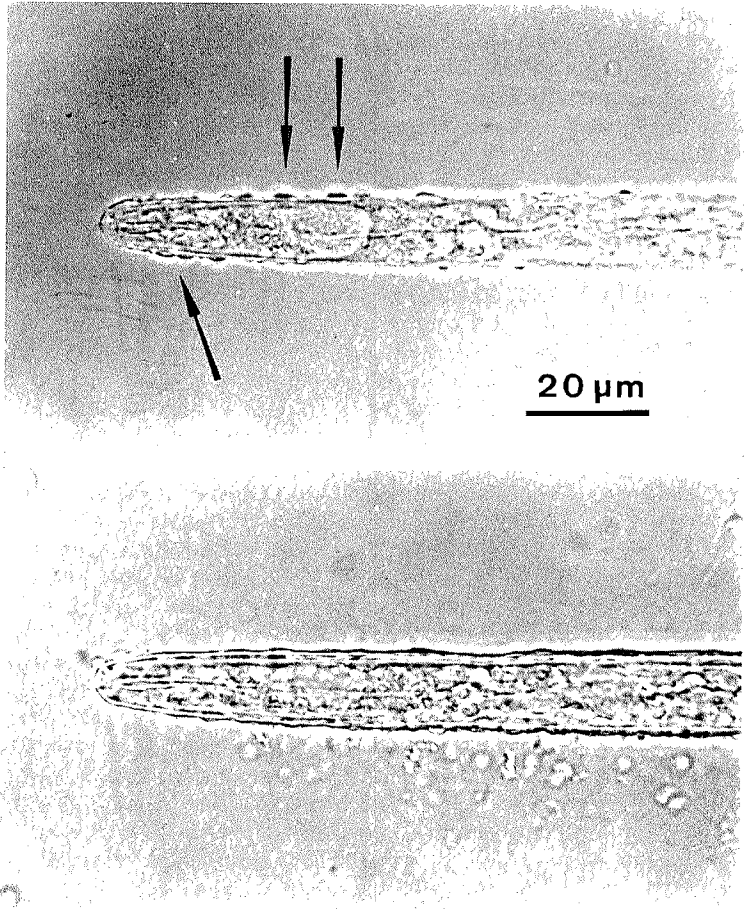


Abb. 2. Humorale Einkapselung in vitro. a: 2—5 min nach Zugabe eines Nematoden in frisch entnommene Hämolymphe von *Chironomus thummi* erscheint Kapselmateriale in Tropfenform (Pfeil) auf der Oberfläche der Parasitenlarve. b: Nach weiteren 3 min haben sich die Tropfen zu einer rasch erstarrenden Hülle vereinigt

Im allgemeinen wird isolierte Insektenhämolymph beim Kontakt mit Luft innerhalb von wenigen Minuten durch Gerinnung zähflüssig und durch Abscheidung von Melanin schwarz verfärbt. Besonders ausgeprägt sind diese Veränderungen bei Schmetterlingsraupen oder Käferlarven zu beobachten, sie treten aber auch z.B. bei Larven der den Zuckmücken nahestehenden Stehmücken in Erscheinung. Die Melaninbil-

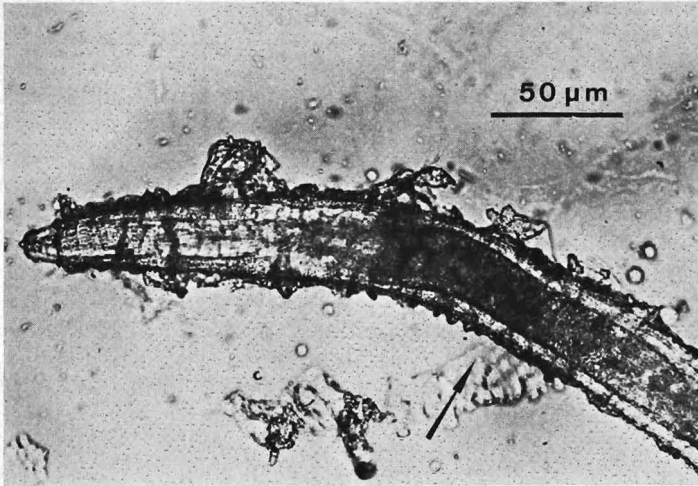


Abb. 3. Einkapselte Larve des Essigälchens *Turbatrix aceti*. Auch nichtparasitäre Nematoden können in isolierter *Chironomus*-Hämolymph eingekapselt werden. Der Nematode ist deutlich innerhalb der engangliegenden röhrenförmigen Kruste zu erkennen (Pfeil)

dung läßt sich durch Zugabe bestimmter Hemmstoffe unterbinden, welche die für die Melaninsynthese verantwortlichen Enzyme blockieren, z. B. durch Phenylthioharnstoff, Glutathion oder Cystein.

Die durch gelöstes Hämoglobin rot gefärbte Hämolymph von *Chironomus*-Larven verändert beim Kontakt mit Luft ihre Farbe nicht und scheidet nur an der Oberfläche ein dünnes Gerinnungshäutchen ab. Unter dem Mikroskop läßt sich allerdings erkennen, daß sich bald nach der Entnahme aus dem lebenden Tier in der isolierten Hämolymph Veränderungen abspielen. Die frisch entnommene Hämolymph einer gesunden *Chironomus*-Larve ist zunächst partikelfrei und enthält nur wenige Blutzellen, welche auf den Boden des Hämolymphpräparates absinken. Nach wenigen Minuten erscheinen in der Hämolymph jedoch winzige Körnchen, welche in Brownscher Bewegung im Bildfeld herum-

tanzen und ebenfalls langsam sedimentieren. Bei Betrachtung unter Phasenkontrast haben diese Partikel eine goldgelbe Farbe, im normalen Durchlicht erscheinen sie blaßgelb und zeigen nur eine geringe Lichtbrechung. Sie werden nicht von Blutzellen freigesetzt, sondern — wie Kristalle aus einer übersättigten Lösung — aus der Hämolymphe direkt ausgeschieden. Aufgrund einer Reihe von Befunden, insbesondere der Tatsache, daß sich ihre Bildung durch Zugabe von Hemmstoffen der Melaninsynthese (0,02 M Glutathion) unterbinden läßt (VEY und GÖTZ [9]), sind diese Grana als Melanin anzusehen, das nach COTTRELL [2] in zwei Formen, als Strukturstoff und als Pigment auftreten kann.

Die Einkapselung von Mermithiden in *Chironomus*-Hämolymphe ist unter gleichbleibenden Präparationsbedingungen mit erstaunlicher Regelmäßigkeit reproduzierbar. Für den Beginn der Einkapselung lassen sich für die untersuchten *Chironomus*-Arten spezifische Zeiten angeben. Im Mittel beginnt die Einkapselung in Hämolymphe von *Ch. luridus* nach 1,5 min, von *Ch. melanotus* nach 2,5 min und von *Ch. thummi* nach 3,6 min. Eine wichtige Voraussetzung bei der Gewinnung der Hämolymphe ist es, daß diese nicht durch eine Verletzung des Darmes der Mückenlarve verunreinigt und in ihrem p_H verändert wird. Außerdem darf die Spenderlarve noch nicht von Mermithiden infiziert sein, da die Einkapselungsfähigkeit von parasitierten Zuckmückenlarven gegenüber gesunden Tieren verringert ist.

Für eine Mermithidenlarve bedeutet die Übertragung aus normalem Süßwasser in die Hämolymphe der Wirtslarve einen sehr abrupten Wechsel des Milieus. Die Mermithide verfällt zunächst in einen kampfartigen Zustand, in welchem sie sich heftig windet und krümmt. Durch die Cuticula hindurch erkennt man im Innern des Nematoden plasmolyseartige Erscheinungen, nämlich durch Kontraktionen oder Schrumpfungen der Gewebe verursachte Ablösungen der Hypodermis von der Cuticula. Diese Phase des „osmotischen Schocks“ ist nur von kurzer Dauer, danach erscheint die Larve wieder normal und schwimmt umher.

Unter schwacher Vergrößerung stellt sich der Einkapselungsvorgang folgendermaßen dar: Zunächst schwimmt die Mermithide lebhaft umher. Nach kurzer Zeit werden ihre Bewegungen mühsamer. Man erkennt, daß die Oberfläche der Mermithide klebrig geworden ist, da das Tier immer häufiger am Untergrund haften bleibt. Dann kleben Vorderende und Schwanzspitze fest und nur die mittlere Körperregion ist noch in heftiger Bewegung. Schließlich werden auch diese Bewegungen unmöglich und die Parasitenlarve ist völlig stillgelegt.

Unter starker Vergrößerung ist das Erscheinen des Kapselmaterials auf der Oberfläche des Nematoden direkt zu beobachten. Zeitlich fällt es mit dem Auftreten der obengenannten Partikel („Melaninschollen“) im Hämolymphepräparat zusammen. Zuerst werden auf der Cuticula der Mermithide einzelne linsenförmige Tropfen sichtbar. Diese nehmen an

Größe und Zahl zu und schließen sich zu einer einheitlichen Schicht zusammen. Manchmal ist der Überzug auf der Cuticula so glatt und homogen, daß er in diesem ungefärbten und dünn-schichtigen Stadium noch kaum zu erkennen ist. In der Mehrzahl der Fälle wird das Erkennen der Kapsel aber dadurch erleichtert, daß diese durch die Bewegung des Nematoden während ihrer Bildung gefaltet wird und manchmal sogar an einigen Stellen aufbricht. Meist kann man die Nematodenlarve auch innerhalb ihres „gläsernen Gefängnisses“ unterscheiden und sieht dann ihre Bemühungen, sich zu bewegen und wie sie die Kapselwand von innen mit ihrem Stilet bearbeitet. In den folgenden Stunden wird die Kapsel noch weiter verdickt und erhält eine zunehmende Braunfärbung; beides schreitet im *in vitro*-Präparat nicht so weit fort wie im lebenden Tier. Gelegentlich gelingt es einer Mermithide, ganz aus ihrer Kapsel auszubrechen. Geschieht dies, wenn das Hämolymphepräparat schon etwas gealtert ist, so kommt es dort zu keiner weiteren Einkapselung mehr.

Typisch für die Einkapselung in der isolierten Hämolymphe ist es, daß alle zugegebenen Mermithidenlarven ausnahmslos eine Kapselabscheidung hervorrufen, während in der lebenden Mückenlarve nur ein Teil der eingedrungenen Parasiten eingekapselt wird. Die Reaktion ist *in vitro* also heftiger als unter natürlichen Verhältnissen im lebenden Tier. Hierfür sind die beiden folgenden Erklärungsmöglichkeiten denkbar, zwischen denen bisher noch keine Entscheidung getroffen werden konnte. Beim Eindringen in die Zuckmückenlarve streifen die Mermithiden eine klebrige Hüllsicht ab (Götz [10]). Möglicherweise verändert sich damit die Oberfläche der Parasiten derart, daß beim nachfolgenden Kontakt mit der Hämolymphe das Einkapselungsgeschehen weniger intensiv provoziert wird. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß Mermithiden, welche durch Injektion mittels einer Mikropipette in die Mückenlarve eingebracht wurden — die also keine Gelegenheit hatten, auf normalem Wege selbst einzudringen — ebenfalls zu 100% eingekapselt werden. Es könnte aber auch sein, daß mit der Verletzung der Mückenlarve bei der Blutentnahme bzw. bei der Injektion der Parasiten Prozesse ausgelöst werden, die in einer erhöhten Bereitschaft der Hämolymphe zur Abscheidung von Kapselsubstanz resultieren. Es ist damit zu rechnen, daß den Phänomenen der Einkapselung, der Blutgerinnung und der Wundheilung gemeinsame Reaktionen zugrunde liegen.

Lange Zeit waren wir uns nicht sicher, ob die humorale Einkapselung ein Vorgang ist, der sich nur zwischen Mückenlarven und Nematoden abspielt und zu welchem die Nematoden vielleicht auch ihren Teil beitragen. Wie im Film am Beispiel des Essigälchens, *Turbatrix aceti*, dargestellt, werden freilebende Nematoden, die normalerweise nie in das Innere einer Mückenlarve gelangen würden, in der gleichen Weise eingekapselt wie die parasitischen Mermithiden. Dagegen war es uns zu-

nächst nicht gelungen, eine Einkapselung von anderen Objekten außer Nematoden, z. B. von nichtlebenden Fremdkörpern wie Glaswolle, Nylonfäden oder Wattefasern, nachzuweisen.

Inzwischen haben weitere Untersuchungen aber gezeigt, daß die humorale Einkapselung der *Chironomus*-Larven tatsächlich eine allgemeine Abwehrreaktion gegen Krankheitserreger darstellt. Sie ist z. B. auch gegen insektenpathogene Pilze wirksam, deren Entwicklung durch Einkapselung der Sporen und Hyphen verhindert werden kann. Ferner haben wir inzwischen auch nichtlebendes Material gefunden (Sephadex, Latex), das sowohl in vitro als auch in vivo die Abscheidung von Kapselsubstanz auslöst (GÖTZ und VEY [4]).

Chemisch dürfte die Kapselsubstanz aus Melanin bestehen, möglicherweise in Verbindung mit einem Protein. Dafür sprechen alle durchgeführten histochemischen Reaktionen, ferner die Unangreifbarkeit der Kapsel bei einer Behandlung mit Enzymen, welche Proteine, Polysaccharide und Mucopolysaccharide auflösen und schließlich die Tatsache, daß sich die Einkapselung in vitro mit spezifischen Hemmstoffen der Melaninsynthese völlig blockieren läßt (VEY und GÖTZ [9]).

Zusammenfassend kommen wir zu dem Ergebnis, daß die humorale Einkapselung eine bei gewissen Dipteren, insbesondere *Chironomus*-Larven, ausgebildete Variante der zellulären Einkapselung darstellt. Beide Reaktionen entsprechen sich in ihrer Eigenschaft, eingedrungene Leibeshöhlenparasiten und Fremdkörper einzukapseln. Dies geschieht, wie auch die elektronenmikroskopische Untersuchung zeigt (POINAR et al [6], GÖTZ und VEY [4]), durch eine Versiegelung der Parasitenoberfläche mit einer Melaninschicht. Im einen Falle wird diese Substanz von anhaftenden Blutzellen zur Parasitenoberfläche hin abgegeben, im anderen ohne direkte Zellbeteiligung aus der Hämolymphe heraus auf den Parasiten abgeschieden. Der Effekt ist der gleiche: beide Reaktionen können die Entwicklung von Parasiten verhindern.

Zur Entstehung des Films

Die für die Untersuchung benutzten Zuckmückenlarven gehören der Art *Chironomus thummi* an und wurden als sog. „rote Mückenlarven“ über den Fischfutterhandel bezogen. Larven der Art *Ch. luridus* stammten aus einem Wasserbecken im Garten des Zoologischen Instituts in Freiburg.

Die Nematoden (Mermithiden *Hydromermis contorta*) sind ziemlich regelmäßig anzutreffende Parasiten der Larven von *Ch. thummi*. Die ausgewachsenen Würmer befreien sich aus den Mückenlarven und legen alsbald nach der Kopulation Eier ab, aus denen nach 10—12 Tagen (20°) die infektiösen Mermithidenlarven ausschlüpfen. Diese lassen sich im Kühlschrank 6—8 Wochen lebensfähig erhalten.

Hämolymphe der *Chironomus*-Larven erhält man leicht durch Anschneiden eines Nachschiebers der Larven mit einer Augenschere. Der austretende Blutstropfen wird auf einem Deckgläschen aufgefangen, die Nematoden können dann mit einer Insektennadel in den Blutstropfen übertragen werden. Durch Auflegen des Deckgläschens auf einen Vaseline-ring kann die Dicke der Hämolympfschicht reguliert werden.

Da die heftigen Bewegungen der Nematoden die Beobachtung unter starker Vergrößerung erschweren, haben wir für diesen Zweck die Nematoden zuvor in Nembutal (1 : 10) oder MS 222 (10 mg/ml) (Präparat von Sandoz) betäubt. Der Aufenthalt im Betäubungsmittel muß so dosiert werden, daß die Nematoden am Leben bleiben; abgestorbene Tiere werden nicht eingekapselt.

Filmbeschreibung¹

1. Die erste Einstellung zeigt eine Larve der Zuckmücke *Chironomus thummi* (Insecta: Diptera) umgeben von infektiösen Larven des parasitischen Nematoden *Hydromermis contorta* (Mermithidae).

Bildfeldbreite 11 mm; komb. Auf- u. Durchlicht

2. Unter stärkerer Vergrößerung sind im Inneren einer Zuckmückenlarve einige frisch eingedrungene lebende Parasiten sowie — rechts im Bildfeld innerhalb des Nachschiebers — eine braun gefärbte, durch Einkapselung abgetötete Mermithide zu sehen.

Bildfeldbreite 1260 μm ; Hellfeld

3. Abdomenende der Mückenlarve; die Hämolymphe, welche hier durch das Herz gepumpt wird, enthält — wie man sieht — nur wenige freie Blutzellen.

Bildfeldbreite 600 μm ; Interferenz Kontrast (Inko)

*Einkapselung von *Hydromermis contorta* in vivo*

4. Mermithidenlarve, die kurz nach ihrem Eindringen in die Mückenlarve durch humorale Einkapselung abgetötet wurde. Die von einer starren braunen Kruste umhüllte Parasitenlarve verbleibt in dieser Form im Körper des Wirtstieres, ohne weiteren Schaden anrichten zu können.

Bildfeldbreite 390 μm ; Inko

5. Einkapselte Parasitenlarve, die zur besseren Darstellung aus der Mückenlarve herauspräpariert worden ist.

Bildfeldbreite 390 μm ; Inko

¹ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

Einkapselung von Hydromermis contorta in vitro

24 B/s; 1 B/s bis 8 B/s

6. Mermithidenlarve nach Übertragung in einen isolierten Tropfen Hämolymphe von *Chironomus thummi*. Die Nematodenlarve schwimmt zuerst lebhaft umher, dann werden ihre Bewegungen mühsamer und verkrampfen. Man erkennt, daß die Oberfläche der Parasitenlarve klebrig wird und sie schließlich am Untergrund festhaftet.

Bildfeldbreite 1260 μm ; Hellfeld; Aufn.-Freq. 24 B/s

7.—9. Verlauf der Einkapselung, unter jeweils stärkerer Vergrößerung dargestellt.

Bildfeldbreiten 600 μm , 390 μm , 0,250 mm; Schräglicht u. Inko; Aufn.-Freq. 24 B/s

10.—11. Bei stärkster Vergrößerung und durch Zeitraffung ist der Verlauf der Einkapselung im Detail erkennbar. Das Kapselmaterial erscheint in Form einzelner Tropfen auf der Oberfläche des Parasiten. Die Tropfen vermehren sich und nehmen an Größe zu, so daß schließlich eine zusammenhängende Schicht entsteht.

Bildfeldbreite 100 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 1 B/s

12. Vorderende der Mermithidenlarve während der Einkapselung.

Bildfeldbreite 100 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 4 B/s

13. Fahraufnahme entlang einer über die ganze Länge eingekapselten Mermithide.

Bildfeldbreite 100 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 8 B/s

14. Mermithide innerhalb der Kapsel. Gelegentlich gelingt es den Parasitenlarven, die in ihrem engen Gefängnis heftige Bewegungsversuche machen, die sich bildende Kapsel aufzubrechen und herauszuschlüpfen.

Bildfeldbreite 100 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 4 B/s

15.—16. Mermithide innerhalb der Kapsel, Stilet („Bohrstachel“) in Aktion.

Bildfeldbreite 250 μm ; Inko; Aufn.-Freq. 24 B/s

Einkapselung von Turbatrix aceti in vitro

17. Larve des Essigälchens *Turbatrix aceti* nach Zugabe in einen isolierten Tropfen Hämolymphe von *Chironomus thummi*. Übersicht: Umherschwimmen der Larve bis zu ihrem Festkleben.

Bildfeldbreite 1650 μm ; Schräglicht

18.—19. Einkapselung unter stärkerer Vergrößerung beobachtet.

Bildfeldbreiten 600 u. 390 μm ; Schräglicht

20. Das Essigälchen ist innerhalb einer starren Kapsel eingefangen. Fahraufnahme entlang des eingekapselten Nematoden.

Bildfeldbreite 390 μm ; Schräglicht

Literatur und Filmveröffentlichung

- [1] BRONSKILL, J. F.: The capsule and its relation to the embryogenesis of the ichneumonid parasitoid *Mesoleius tenthredinus* Morl. in the Larch Sawfly *Pristiphora erichsoni* (HTG) (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Canad. J. Zool.* **38** (1960), 769—775.
- [2] COTTRELL, C. B.: Insect ecdysis with particular emphasis on cuticular hardening and darkening. In: BEAMENT, J. W. L. (Hrsg.): *Adv. Insect Physiol.* **2** (1964), 175—218.
- [3] GÖTZ, P.: Die Einkapselung von Parasiten in der Hämolymphe von *Chironomus*-Larven (Diptera). *Zool. Anz. Suppl.* **33** Verh. Zool. Ges. (1969), 610—617.
- [4] GÖTZ, P., and A. VEY: Humoral encapsulation of parasites by Dipteran Larvae. I. Encapsulation in vivo (in Vorbereitung).
- [5] MAIER, W.: Die Hämocyten der Larve von *Chironomus thummi* (Dipt.). *Z. Zellforsch.* **99** (1969), 54—63.
- [6] POINAR, G. O., R. LEUTENEGGER and P. GÖTZ: Ultrastructure of the formation of a melanotic capsule in *Diabrotica* (Coleopt.) in response to a parasitic Nematode (Mermithidae). *J. Ultrastruct.* **25** (1968), 293—306.
- [7] POINAR, G. O., and R. LEUTENEGGER: Ultrastructural investigation of the melanization process in *Culex pipiens* (Culicidae) in response to a nematode. *J. Ultrastruct. Res.* **36** (1971), 149—158.
- [8] SALT, G.: The cellular defense reaction of insects. Cambridge University Press, London (1970).
- [9] VEY, A., and P. GÖTZ: Humoral encapsulation of parasites by Dipteran larvae. II. Encapsulation in vitro (in Vorbereitung).
- [10] WÜLKER, W.: Untersuchungen über die Intersexualität der Chironomiden (Dipt.) nach Paramersis-Infektion. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* **25** (1961), 127—181.
- [11] GÖTZ, P.: *Hydromermis contorta* (Nematoda) — Eindringen des Parasiten in den Wirt *Chironomus thummi* (Diptera). Film E 1926 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1973.

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1973 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, farbig, 63 m, 6 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1971. Veröffentlichung aus dem Biologischen Institut I der Universität Freiburg (BrsG.), Dr. P. GÖTZ, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. H.-K. GALLE; Aufnahme und Schnitt: C. LUDWIG.

Inhalt des Films

Der Film dokumentiert den Vorgang der nichtzellulären (= humoralen) Einkapselung von Nematoden in der Hämolymphe von *Chironomus*-Larven (Insecta; Diptera).

Zunächst wird der Effekt der Einkapselungsreaktion am lebenden Tier (in vivo) dargestellt. Im Inneren einer *Chironomus*-Larve sieht man einen abgetöteten Parasiten, der von einer braunen Kruste umschlossen ist.

Der Vorgang der Einkapselung selbst kann außerhalb der Zuckmückenlarve in isolierter Hämolymphe (in vitro) besser beobachtet werden. Die Abscheidung der Kapselsubstanz beginnt innerhalb von 2—5 Minuten nach Zugabe einer Mermithidenlarve in die Hämolymphe. Unter schwacher Vergrößerung wird eine Nematodenlarve gezeigt, die anfangs lebhaft umherschwimmt, deren Bewegungen dann aber zunehmend mühsamer werden. Es ist zu erkennen, daß die Oberfläche der Mermithide klebrig wird, diese am Untergrund festhaftet und schließlich völlig unbeweglich wird. Bei starker Vergrößerung ist die Bildung der Kapsel im Detail zu verfolgen. Auf der Cuticula der Mermithidenlarve erscheinen einzelne linsenförmige Tropfen, die sich vermehren und schließlich zu einer geschlossenen Hülle zusammenfließen, die rasch erstarrt. Innerhalb der so gebildeten Kapsel kann man den eingeschlossenen Wurm sehen; gelegentlich gelingt es diesem durch seine heftigen Bewegungsversuche, die Kapsel aufzubrechen und aus ihr herauszuschlüpfen.

In den abschließenden Szenen wird am Beispiel des Essigälchens *Turbatrix aceti* gezeigt, daß die Einkapselungsreaktion der *Chironomus*-Larven auch gegen andere, nicht-parasitäre Nematoden wirksam ist und diese in der gleichen Weise eingekapselt werden wie Mermithiden.

Summary of the Film

The film is a documentation of the non-cellular defense reaction (humoral encapsulation) of larvae of *Chironomus thummi* (Insecta; Diptera) against parasitic nematodes. The result of this reaction is first demonstrated in vivo. A dead parasite (Mermithidae, *Hydromermis contorta*), surrounded by a brownish crust, is shown in the body cavity of a *Chironomus* larva.

The formation of the capsule can better be observed in vitro in isolated hemolymph. The deposition of the material begins within 2—5 minutes after addition of the mermithid. The nematode, first swimming around actively, begins to have more and more difficulties moving. It is obvious that the surface of the parasite becomes sticky. The animal adheres to the underground and finally is completely motionless.

At high magnification the deposition of the capsule can be studied in detail. On the cuticle of the mermithid droplets appear, which increase in number and size until a complete envelope is formed. The trapped parasite can be seen inside the capsule; it attempts to move and sometimes escapes by breaking the capsule.

In the final part of the film the example of *Turbatrix aceti* shows that humoral encapsulation of *Chironomus* hemolymph is also efficient against non parasitic nematodes which are encapsulated in the same manner as the parasitic mermithids.

Résumé du Film

Le film représente une documentation de l'encapsulation du type non-cellulaire (= humorale) par l'hémolymphe de larves de *Chironomus thummi* (Insecta; Diptera). Au début le résultat de cette réaction de défense est

démontré in vivo. A l'intérieur d'une larve de *Chironomus* on observe un nématode parasitaire (Mermithidae: *Hydromermis contorta*) qui a été tué par encapsulement humorale. Il est inclus dans une croûte de couleur brune. Le déroulement de l'encapsulement peut être observé mieux en dehors de l'hôte dans l'hémolymphe isolé (in vitro). La déposition du matériel capsulaire commence entre 2 et 5 minutes après l'addition d'une larve parasitaire. Les mouvements du nématode dans l'hémolymphe sont vifs au commencement mais se ralentissent progressivement. Il est évident que la surface de la mermithide devient glutineuse. Cela fixe le parasite au fond, qui finalement ne peut plus bouger. Sous grossissement fort la formation de la capsule peut être suivie en détails. D'abord, sur la cuticule du parasite quelques gouttes transparentes apparaissent. Celles-ci augmentent en nombre et grandeur et se rattachent, formant une enveloppe complète, qui entoure le nématode. Par la force de ses mouvements à l'intérieur de la capsule le parasite prisonnier réussit quelquefois à casser la capsule et à se libérer. A la fin, l'exemple de l'anguillule de vinaigre, *Turbatrix aceti*, démontre que la réaction d'encapsulement est également efficace envers des nématodes non-parasitaire qui sont encapsulés de même façon que les mermithides.