

21 Krallenfrosch (*Xenopus laevis*)

21.1

Allgemeine Grundlagen

21.1.1 Ursprung

Die Gattung der Krallenfrösche (*Xenopus* sp.) zählt mit 3 weiteren Gattungen zur Familie der *Pipidae*, urtümlichen, stark an das Wasserleben angepassten zungenlosen Fröschen. Ihr Name bezieht sich auf die Krallen an den inneren 3 Zehen der mit großen Schwimmhäuten ausgestatteten Füße. Als Versuchstier findet hauptsächlich der in Afrika südlich der Sahara vorkommende Glatte Krallenfrosch (*Xenopus laevis*) Verwendung. In ihren natürlichen Verbreitungsgebieten leben diese Tiere häufig in schlammigen, trüben Gewässern, wo sie im Falle der Austrocknung in der Schlammschicht überleben können. Südafrikanische Krallenfrösche kommen sogar in Höhlen und unter völligem Lichtabschluss vor.

21.1.2 Verwendung

Die Verwendung des Glatten Krallenfrosches in der Biomedizin geht auf die Entdeckung südafrikanischer Ärzte zurück. Diese stellten fest, dass ein Krallenfroschweibchen, dem die Urinprobe einer schwangeren Frau injiziert wird, innerhalb von 5–24 Stunden Eier legt und damit schon in den ersten Wochen einer Schwangerschaft diese zuverlässig

anzeigen kann. Inzwischen stehen für diesen Zweck zahlreiche In-vitro-Tests (Test im „Reagenzglas“) zur Verfügung. Dennoch spielt der Glatte Krallenfrosch in bestimmten Bereichen der biomedizinischen Forschung eine wichtige Rolle. Vor allem für zellbiologische Fragestellungen werden seine Oozyten entweder operativ gewonnen oder aber es wird die natürliche Eiablage (das Ablachen) durch entsprechende Hormoninjektionen ausgelöst.

21.1.3 Allgemeine Biologie

Krallenfrösche (► **Abb. 21.1**) haben einen kräftigen, dorsoventral abgeflachten Körper und sind hinsichtlich ihrer Morphologie und Physiologie stark an das ständige Leben im Wasser angepasst. Die kleinen Augen sind weit dorsal auf dem Kopf angeordnet. Seitlich von ihnen befinden sich kleine Tentakel, die die Öffnungen der Tränendrüsen enthalten. Die Beine stehen, der schwimmenden Lebensweise entsprechend, seitlich vom Körper ab und können nicht unter diesen verlagert werden. Während die Hinterbeine kräftig entwickelt sind und großflächige Schwimmhäute aufweisen, sind die Vorderbeine vergleichsweise schwach entwickelt.

Die Vorderbeine dirigieren die Nahrung in die Mundöffnung, steuern beim Schwimmen und mit



► **Abb. 21.1** Krallenfrosch (*Xenopus laevis*). (Aufnahme: J. Weiss)

ihnen umklammern die Männchen bei der Paarung die Weibchen. Die kräftigen Hinterbeine dagegen liefern beim Schwimmen den Antrieb, mit den Krallen der drei inneren Zehen werden Nahrungsteile aus der Beute herausgerissen. Auch die ungeschickt erscheinende Fortbewegung an Land wird durch kräftige Sprungbewegungen der Hinterbeine bewerkstelligt.

Wenn Krallenfrösche mithilfe ihres ausgeprägten Geruchs- und Geschmackssinnes eine Nahrungsquelle entdeckt haben, dirigieren sie größere Nahrungsbrocken mit den Vorderbeinen zum Maul und verschlucken sie unzerkaut. Kleinere Nahrungsteile werden mithilfe einer speziellen Pumpbewegung des Mundbodens zusammen mit dem einströmenden Wasser aufgesogen (Saug-schnappen); als äußeres Zeichen dieses Pumpvorganges werden dabei die Augen eingezogen.

Erwachsene Krallenfrösche besitzen ein sog. Seitenlinienorgan, das sonst nur bei Fischen, Wassermolchen und Kaulquappen vorkommt. Es dient den Tieren als Ferntastsinn zur Ortung von Wasserbewegungen, die von einem Feind oder einem Beutetier verursacht werden, bzw. zur Wahrnehmung des Stauungsdruckes, der beim Heranschwimmen an einen festen Gegenstand entsteht.

Als permanent im Wasser lebende Amphibien besitzen Krallenfrösche eine sehr drüsenreiche, schleimige Haut, deren Färbung sich mithilfe spezieller Pigmentzellen, sog. Chromatophoren, innerhalb weniger Stunden dem jeweiligen Untergrund anpassen kann. Die oberste Hautschicht ist verhornt und wird, durch Hypophysenhormone ausgelöst, in unregelmäßigen Abständen (wenige Wochen bis einige Monate) abgestoßen und von den Tieren meist gefressen. In besonderen Hautdrüsen wird ein streng riechendes und schmeckendes Sekret gebildet, das z.B. bei Enten und Schlangen zu krampfartiger Maulstarre führen kann, wenn diese einen Krallenfrosch verschlingen wollen. Die Weibchen des Glatten Krallenfrosches erreichen ihre volle Körpergröße mit einer Kopf-Steiß-Länge von maximal 13 cm im Alter von 3–4 Jahren, während die Rumpflänge der auch im ausgewachsenen Zustand viel kleineren Männchen allenfalls 9 cm beträgt. Geschlechtsspezifische Merkmale sind außerdem die dreilappigen Kloakenpapillen der Weibchen und die schwärzlichen „Begattungsbürsten“ an den Vorderbeinen

der Männchen. Krallenfrösche haben unter Laborbedingungen eine durchschnittliche Lebenserwartung von etwa 15 Jahren, können jedoch in Einzelfällen fast doppelt so alt werden.

21.1.4 Verhalten

Krallenfrösche verbringen einen großen Teil des Tages in Ruhe im Becken, bei Dämmerlicht sind sie besonders aktiv. Bei geeigneter Wasserhöhe nehmen sie häufig eine schräge Aufwärtsstellung ein, wobei die Füße der Hinterbeine auf dem Beckenboden ruhen und nur die Nasenöffnungen über die Wasseroberfläche ragen. Grundsätzlich bevorzugen sie dunkle Areale und suchen den Körperkontakt mit Artgenossen.

Insbesondere scheue, noch nicht an den Menschen gewöhnte Tiere liegen häufig auf dem Beckengrund, bevorzugen jedenfalls eine Position unterhalb der Wasseroberfläche, solange sich Menschen im Raum aufhalten. In dieser Lage können sie länger als eine Viertelstunde ohne zu atmen aushalten. Dabei passt sich ihre Hautfarbe farblich dem Untergrund an. Bei der Fütterung kommt schlagartig Bewegung in die Tiere, sie schwimmen erregt hin und her und schnappen nach den Futterstücken und versuchen, sich diese mit den Vorderbeinen ins Maul zu schaufeln. Futter, das bis auf den Beckengrund abgesunken ist, wird von den Tieren meist nicht mehr angenommen; es verrottet und belastet die Wasserqualität.

Paarungsbereite Männchen geben knackend-schnarrende Rufe von sich. Die Paarungsbereitschaft des Weibchens kann man an der Stellung der Hinterbeine erkennen: Während paarungsbereite Weibchen die Beine anziehen, strecken paarungsunwillige Weibchen die Beine lang aus.

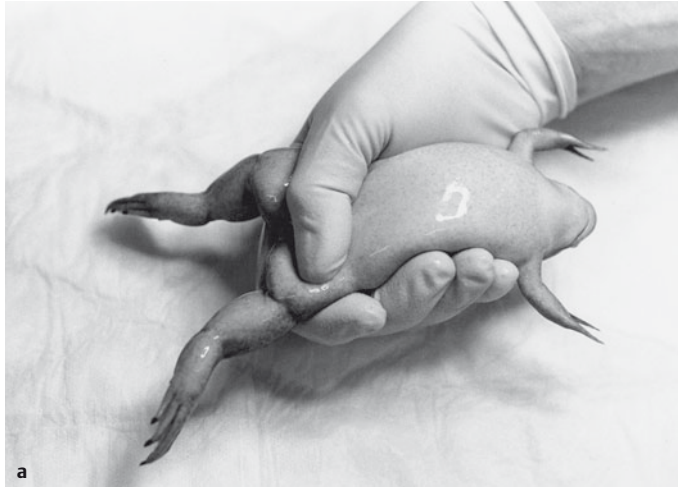
Beim Laichen wird das Weibchen vom deutlich kleineren Männchen vor den Hinterbeinen gepackt; dabei verhindern die schwarzen „Begattungsbürsten“ an den Innenseiten der Vorderbeine das Abrutschen von den Lenden des Weibchens. Sobald das Weibchen fest umklammert ist, wird es vom Männchen meist mehrmals um die Längsachse gedreht, wodurch es in eine Art Bewegungsstarre verfällt. Nun lässt das Weibchen die Eier einzeln aus der Kloake austreten, hält aber jedes Ei mit den Kloakenlippen einen kurzen Moment lang fest und schießt es dann so ab, dass es dem Bauch

des Männchens entlang und an dessen Kloake vorbei wirbelt, wobei das Ei mit den Gameten des Männchens in Berührung kommt und befruchtet wird. Geschlechtsreife Weibchen (10–18 Monate alt) legen auf diese Weise ca. 10 000 (max. 15 000) Eier pro Jahr.

21.1.5 Handling

Das Fassen und Halten von Krallenfröschen erfordert wegen ihrer glatten, rutschigen Haut eine gewisse Umsicht. Das Fangen aus dem Becken wird üblicherweise mit einem Kescher bewerkstelligt. Aus Hygienegründen, d. h. um die Übertragung von Infektionskrankheiten zu vermeiden, sollte je Becken ein eigener, deutlich markierter Kescher be-

nutzt werden. Dieser sollte möglichst feinmaschig sein, um Verletzungen zu vermeiden. Der Kescher sollte nach dem Fangen um 180° gedreht und auf diese Weise verschlossen werden, um das Herausspringen des Tieres zu verhindern. So kann der Frosch sehr schonend z. B. für Injektionen fixiert werden. Um das Tier in der erforderlichen Weise fassen zu können, sollte man es in einen kleinen Behälter (z. B. Eimer) mit etwas Wasser überführen. Nun kann der Frosch gefasst werden, indem man einen Zeigefinger vom Kopf her zwischen seinen Hinterbeinen hindurchstreckt und den Bauch mit Daumen und Mittelfinger umfasst (► Abb. 21.2). Auf diese Weise sind die Hinterbeine fixiert und der Kopf wird vom Handteller bedeckt. Da das Tier in dieser Haltung nichts sehen kann, wird es sich in



► **Abb. 21.2** Festhalten eines Krallenfrosches. (Aufnahmen: J. Weiss)
a Ventral.
b Dorsal.



der Regel ruhig verhalten. Bei Verwendung z. B. eines Handtuches zum Halten eines Frosches muss darauf geachtet werden, dass es dabei nicht zu Verletzungen der empfindlichen Haut kommt.

✓ Wiederholungsfragen

1. Welches ist das natürliche Verbreitungsgebiet des Glatten Krallenfrosches?
2. Wie heißt das Organ, das dem Krallenfrosch als Ferntastsinn zur Ortung von Wasserbewegungen dient?
3. Wie alt können Krallenfrösche werden?
4. Wie viele Eier legt ein Krallenfroschweibchen pro Jahr?

21.2

Zucht

21.2.1 Ablachen und Aufzucht

Nach dem Ablachen setzen sich die befruchteten Eier von *Xenopus laevis* durch Anheftung an Pflanzen oder den Untergrund fest. Sie haben einen Durchmesser von etwa 1,5 mm. Bei einer Wassertemperatur von 20–24 °C dauert es nur 2–3 Tage, bis die Larven aus der Eihülle schlüpfen. Die Dauer des Larvenstadiums ist stark von der Wassertemperatur abhängig. So vergehen bei den genannten Temperaturen 35–45 Tage, bis schließlich die Metamorphose einsetzt und sich die adulten Frösche entwickeln. Bei tieferen Wassertemperaturen ist die Larvalphase verlängert, allerdings gibt es erhebliche interindividuelle Unterschiede.

Während des Prozesses der Metamorphose, während dem sich der Kaulquappenkörper zum Froschkörper umbildet, können die Larven einige Tage lang kein Futter aufnehmen. Während sie als Larven hauptsächlich pflanzliche Nahrung zu sich nehmen, beginnen sie nun mit der Aufnahme tierischer Nahrung wie z. B. von Daphnien und Tubifex. Während bei den Kaulquappen der nötige Gasaustausch (Sauerstoffaufnahme, CO₂-Abgabe) noch durch Kiemenatmung bewerkstelligt wird, beginnt mit dem Aufbau der Lungen schließlich auch die Luftatmung.

Unter geeigneten Bedingungen gelingt die Zucht von *Xenopus laevis* ganzjährig. Dabei sollten je m² Beckengrundfläche nicht mehr als 400 Kaulquappen aufgezogen werden, je Kaulquappe sollten ca.

0,5 l Wasser zur Verfügung stehen. Die Wasserhöhe sollte 10–20 cm betragen, die notwendige Belüftung erfolgt üblicherweise über Sprudelsteine aus dem Aquarienbereich. Es muss unbedingt sichergestellt werden, dass die Elterntiere keinen Zugang zu den Kaulquappen haben, da diese sonst als willkommenes Lebendfutter stark dezimiert würden.

Die ständige Wasserreinigung kann über Aquarienfiltersysteme erfolgen. Jedoch muss sichergestellt sein, dass bei der Schmutzwasserabsaugung keine Kaulquappen mit angesaugt werden können. Permanenter Frischwasserzufluss sollte vermieden werden; zum Wasseraustausch sollte nur ca. 48 h lang abgestandenes Wasser verwendet werden und es sollte jeweils nicht mehr als 1/3 der Gesamtwassermenge ausgetauscht werden. Die Kaulquappen werden 1-mal täglich entsprechend ihrer Größe mit hochwertigem Eiweißfutter versorgt. Als alleiniges Starterfutter hat sich Algenfutter bewährt, das über den Zoohandel oder direkt vom Hersteller bezogen werden kann. Man dosiert z. B. 1 Teelöffel auf 1 l Wasser und verwendet davon 100 ml pro Zuchtansatz. 4 Tage nach dem Schlüpfen werden die Kaulquappen in Becken mit permanentem Wasserdurchlauf auseinandergesetzt.

Hormonell ausgelöstes Ablachen

Ein Großteil zellbiologischer Fragestellungen wird mit Froschlaich oder Kaulquappen durchgeführt. Da in freier Natur die Vermehrung von den Jahreszeiten abhängig ist, werden die Krallenfrösche unter Laborbedingungen mithilfe einer HCG-Behandlung (Human Chorionic Gonadotropin: menschliches Choriongonadotropin) zum Ablachen gebracht. Auch dann ist der Erfolg bis zu einem gewissen Grad von der Jahreszeit abhängig. Die besten Ergebnisse lassen sich im Frühjahr erreichen.

Für 2 Zuchtpaare werden 4 vorab z. B. mit 1 % Kaliumpermanganat desinfizierte Becken 10–15 cm hoch mit Wasser gefüllt.

- 1. Tag: Die nüchternen Frösche werden nach Geschlecht getrennt in zwei Becken mit einer Wassertemperatur von 18–19 °C gesetzt (also kühler als im Ursprungsbecken). Während der folgenden Zuchtphase dürfen sie nicht gefüttert werden.
- 4. Tag: 9.00 Uhr: jedes Männchen erhält 200 IE HCG

- 5. Tag: 9.00 Uhr: jedes Weibchen erhält 200 IE HCG; 15.00 Uhr: jedes Weibchen erhält 600 IE HCG, jedes Männchen erhält 200 IE HCG

Alle Injektionen erfolgen intraabdominal. Anschließend werden die 4 Frösche paarweise in die beiden anderen Becken umgesetzt. In diesen muss die Wassertemperatur mit einem thermostatgesteuerten Heizstab auf 23 °C geregelt werden. Der Boden sollte mit einem Gitter abgedeckt sein, damit die Frösche den Laich weder zertreten noch fressen können.

Während der beiden folgenden Tage sollten die Frösche während der Paarung und des Abläichens nicht gestört werden. Hierfür werden die Becken optisch abgeschirmt und etwas abgedunkelt. Danach kommen die Elterntiere wieder in den normalen Haltungsbereich. Der nicht geschlüpfte Laich wird mit einem kleinen Schlauch abgesaugt, da er sonst schnell verpilzen würde. Grundsätzlich müssen alle Futterreste und sich schlecht entwickelnde Kaulquappen entfernt werden.

Für *Xenopus tropicalis* gilt das Gleiche wie für *Xenopus laevis*, außer dass die Wassertemperaturen grundsätzlich (3–4 °C) höher sein müssen. Auch werden sie in der halben Zeit geschlechtsreif.

Wiederholungsfragen

1. Wie lange dauert es nach der Eiablage, bis die *Xenopus*-Larven aus der Eihülle schlüpfen (Wassertemperatur 20–24 °C)?
2. Welche Wassermenge je Kaulquappe sollte zugrunde gelegt werden?
3. Wie lange sollte das in die *Xenopus*-Haltungsbecken eingespeiste Wasser abgestanden sein und wie viel von der Gesamtwassermenge sollte maximal ausgetauscht werden?

21.3

Haltung

Bei der Haltung von *Xenopus laevis* sind zwei Umstände besonders zu berücksichtigen. Zum einen, dass diese Tiere keineswegs als domestiziert gelten können, auch wenn sie in Menschenobhut gezüchtet worden sind. Daher müssen bei der Gestaltung der Haltungsbedingungen die Ansprüche

von wild gefangenen Tieren zugrunde gelegt werden. Zum anderen muss darauf hingewiesen werden, dass die derzeit verfügbaren Empfehlungen zur Haltung und auch zur Fütterung dieser Tiere keineswegs einheitlich sind. Anders als z.B. bei der Haltung der Labornager gibt es hierzu auch in Fachkreisen durchaus unterschiedliche Auffassungen. Eine ausführliche Beschreibung der derzeit vorliegenden Befunde und bestehenden Möglichkeiten ist bei Hilken et al. nachzulesen (Hilken G, Iglauer F, Richter HP. Der Krallenfrosch *Xenopus laevis* als Labortier. Stuttgart: Enke; 1997).

Grundsätzliche Einigkeit scheint darin zu bestehen, dass einzeln gehaltenen Krallenfröschen eine Beckenrundfläche von mindestens 2400 cm² zur Verfügung stehen sollte, in Gruppenhaltung sollten dies mindestens 600 cm² pro Frosch sein. Die Höhe des Wasserstandes sollte für erwachsene Frösche bei 20–50 cm liegen, die Wassertemperatur zwischen 18 und 22 °C betragen. Die Beleuchtung in einem *Xenopus*-Raum sollte nicht zu hell sein, in jedem Fall sollte der Lichtwert in der Raummitte weniger als 200 lx betragen. Eine direkte Beckenbeleuchtung analog zur Situation in der Aquarienhaltung ist bei Krallenfröschen nicht zu empfehlen. Ein Hell-Dunkel-Rhythmus der Raumbeleuchtung von jeweils 12 Stunden Dauer ist empfehlenswert. Die Sauberhaltung des Wassers sollte durch geeignete Filtersysteme sichergestellt werden, abgelassenes Wasser nur durch abgestandenes Wasser ersetzt werden (ca. 48 h Standdauer). Für die Haltung von *Xenopus laevis* werden unterschiedliche Beckentypen eingesetzt. Im einfachsten Falle, insbesondere zur Unterbringung ablaichender Weibchen, wird auf Makrolon®-Käfige des Typs IV zurückgegriffen. Bei Haltungsbedarf für größere Tierzahlen werden Becken von unterschiedlicher Größe und Machart eingesetzt, eine Übersicht zu Platzbedarf und Wassertiefe in Abhängigkeit von der Größe der Tiere ist ► Tab. 21.1 zu entnehmen.

In der Vergangenheit wurde die Haltung von Krallenfröschen vielfach sehr unterschiedlich, und an die jeweiligen Gegebenheiten angepasst, durchgeführt. Als Haltungsbecken dienen im einfachsten Falle Typ-IV-Käfige, aber auch handelsübliche Aquarien oder selbst gebaute Becken wurden und werden verwendet. Seit einigen Jahren bieten verschiedene Hersteller im In- und Ausland professio-

► **Tab. 21.1** Mindestabmessungen und Platzangebot für *Xenopus laevis*¹.

Körperlänge ² (in cm)	Minimale Wasseroberfläche (in cm ²)	Minimale Wasseroberfläche für jedes zusätzliche Tier bei Gruppenhaltung (in cm ²)	Minimale Wassertiefe (in cm)
≤ 6	160	40	6
6–9	300	75	8
> 9–12	600	150	10
> 12	920	230	12,5

¹ Diese Empfehlungen gelten für Haltebecken, jedoch nicht für Becken für Zuchtzwecke (natürliche Paarung und Eiablage), zumal dazu – aus Gründen der Effizienz – kleinere individuelle Gefäße geeigneter sind. Der angegebene Raumbedarf ist für adulte Tiere der jeweiligen Größenkategorien bestimmt; juvenile Tiere und Kaulquappen sollten entweder getrennt oder nach Größe sortiert in Gefäßen mit geeigneten Abmessungen gehalten werden.

² Gemessen von der Schnauze bis zur Kloake.

nelle Haltungssysteme an, die bei Bedarf auch nach den jeweiligen räumlichen Gegebenheiten und in den erforderlichen Größenordnungen angefertigt werden können. Diese Systeme (► Abb. 21.3) bestehen im Wesentlichen aus einem Aluminiumregal, das dem jeweiligen Raum angepasst wird. In dem Regal befinden sich ein Biofilter (Trocken-Nass-System), mehrere Glasaquarien (über- und nebeneinander angeordnet), eine UV-Lampe zur Wasserentkeimung, Feinfilter sowie eine Kühlmaschine zur Kühlung des Wassers. Das Wasser wird im Biofilter immer wieder aufgearbeitet (Kreislaufanlage) und durch die Pumpen in den Kreislauf durch die Aquarien gebracht. Zusätzlich sind die Systeme mit einem automatischen Wasserwechsel ausgestattet. Der Vorteil dieser Art der Wasserbehandlung ist, dass die Tiere ständig in sauberem, aber nicht in zu hartem, weil zu frischem Leitungswasser leben, in dem sich schon sehr bald eine stabile Mikroflora bildet.

✓ Wiederholungsfragen

1. Wie viel Grundfläche sollte einem Krallenfrosch bei Gruppenhaltung mindestens zur Verfügung stehen?
2. Wie hoch sollte der Wasserstand im Becken erwachsener Frösche sein?
3. Welche Lichtintensität sollte in einem Haltebereich für Krallenfrösche nicht überschritten werden?

21.4

Fütterung

Xenopus laevis nimmt bei Haltung im Labor, genauso wie als Wildtier unter Freilandbedingungen, nahezu jede proteinhaltige Nahrung zu sich, die verfügbar ist und die er bewältigen kann. Bei sehr reichlichem Futterangebot neigen die Tiere zu übermäßiger Futteraufnahme, mitunter erbrechen sie das zu viel aufgenommene Futter wieder. Anschließend können sie über Wochen, bei niederen Temperaturen sogar Monate ohne Futter auskommen.

Die Kaulquappen des Krallenfrosches beginnen erst ab etwa dem 5. Tag nach dem Schlüpfen mit der Futteraufnahme. In dieser Phase sind sie auf frei im Wasser schwebende Futterpartikel angewiesen, gefüttert wird täglich. Als Alleinfutter bewährt hat sich ein Pulver aus getrockneten Brennnesselblättern, das mit Vitaminbeigaben angereichert wurde, aber auch Trockenhefe und Algenpulver. Die optimale Futterkonzentration für die Larvenentwicklung beträgt hier 15–200 mg/l Wasser.

Nach Abschluss der Metamorphose bevorzugen Krallenfrösche Lebendfutter wie z. B. den Bachröhrenwurm (*Tubifex* sp.) oder Larven der Fruchtfliege (*Drosophila melanogaster*). Bei der Gabe von *Tubifex* ist das damit verbundene hohe Risiko der Infektionsübertragung für die Tiere zu bedenken, bei standardisiert aufgezogenen *Drosophila*-Larven ist dies deutlich reduziert.

Häufig wird auch klein geschnittenes Rinderherz oder -leber verfüttert. Da diese Futterart i. d. R. das Wasser stark belastet, sollte die Verabreichung am Tag vor dem (teilweisen) Wasserwechsel erfolgen.