

# Copyright ©

---

Es gilt deutsches Urheberrecht.

Die Schrift darf zum eigenen Gebrauch kostenfrei heruntergeladen, konsumiert, gespeichert oder ausgedruckt, aber nicht im Internet bereitgestellt oder an Außenstehende weitergegeben werden ohne die schriftliche Einwilligung des Urheberrechtinhabers. Es ist nicht gestattet, Kopien oder gedruckte Fassungen der freien Onlineversion zu veräußern.

German copyright law applies.

The work or content may be downloaded, consumed, stored or printed for your own use but it may not be distributed via the internet or passed on to external parties without the formal permission of the copyright holders. It is prohibited to take money for copies or printed versions of the free online version.

Aus dem Zoologischen und dem Anatomischen Institut der Universität Kiel

## Zur Ultrastruktur der Metanephridien des landlebenden Sipunculiden *Phascolosoma (Physcosoma) lurco*

VON VOLKER STORCH UND ULRICH WELSCH

**Zusammenfassung:** Das Metanephridium des landlebenden Sipunculiden *Phascolosoma (Physcosoma) lurco* wurde elektronenmikroskopisch untersucht. Die Wand des Nephridiums besteht aus dem außen gelegenen sehr flachen und glykogenreichen Coelomepithel, einer Faserschicht, in die Muskel- und andere Zellen eingelagert sind, und einem innen gelegenen kubischen Epithel (Nephridialepithel), welches das Lumen des Nephridiums auskleidet. Dieses besitzt apikal Mikrovilli und Cilien; basal sind abschnittsweise sehr lange schmale Ausläufer oder ein basales Labyrinth ausgebildet. Das Cytoplasma ist durch Glykogenrosetten und eine Reihe verschiedener Einschlüsse gekennzeichnet, die in ähnlicher Form von *Sabella pavonina* (Polychaeta, Serpulimorpha) bekannt sind.

**Ultrastructure of the metanephridia of the land-dwelling Sipunculid *Phascolosoma (Physcosoma) lurco* (Summary):** The metanephridium of the land-dwelling peanut worm (*Phascolosoma (Physcosoma) lurco*) has been investigated with the electron microscope. The nephridial wall consists of the outer flat and glycogen-rich coelomic epithelium, a fibre-layer containing irregularly distributed cells among which muscle-cells predominate, and an inner cuboidal epithelium, lining the lumen of the metanephridium. This nephridial epithelium exhibits apical (microvilli, cilia) and basal (basal labyrinth, long slender projections) surface specializations, the extent of which, however, varies in different parts of the metanephridium. The cytoplasm contains glycogen-particles and numerous inclusions of various size and substructure, which greatly resemble corresponding inclusions as have been found in *Sabella* (Polychaeta, Serpulimorpha).

### Einleitung

In dieser Arbeit soll die Ultrastruktur der Metanephridien von *Phascolosoma lurco* dargestellt werden, einem Sipunculiden, der durch sein Habitat von allen anderen bisher bekannten Arten dieses Tierstammes unterschieden ist. Er lebt in den Mangrove-sümpfen Südostasiens (CHUANG, 1961) und dringt mit einzelnen Populationen auf Sumatra und Amboina über die mittlere Hochwasserlinie vor. HARMS und DRAGENDORFF (1933) fanden *Phascolosoma lurco* bis zu 3,5 km von der Küste entfernt. Hier wird ihr Habitat nur einmal im Monat vom Meerwasser erreicht. Die Tiere leben in selbst-grabenen, luftgefüllten Gängen und bevorzugen trockene Böden mit einem Grundwasserspiegel, der ca. 0,5 bis 1 m unter der Erdoberfläche liegt. Oft kommen mit ihnen vergesellschaftet Landplanarien, Geonemertinen, Lumbriciden, Landpolychaeten und verschiedene Insekten vor.

Aufgrund dieser unter Sipunculiden einzigartigen Lebensweise ist *Phascolosoma lurco* schon frühzeitig Objekt physiologischer Untersuchungen gewesen. HARMS und DRAGENDORFF (1933) zeigten, daß *Phascolosoma lurco* in Süßwasser fünf Tage überleben kann und auch eine Entwässerung erträgt, in deren Verlauf sein Gesamtgewicht um etwa ein Drittel reduziert wurde. Im Habitat ist *Phascolosoma lurco* grundsätzlich hyperosmotisch gegenüber dem umliegenden Medium. Im Versuch — in dessen Verlauf die Tiere in Wasser gehalten wurden — sind die Unterschiede der Konzentration von Coelom- und Außenflüssigkeit geringer.

Zur Funktion der Nephridien wasserlebender Sipunculiden liegen zahlreiche Untersuchungen vor, die von OGLESBY (1969) zusammengefaßt wurden. KAMEMOTO und LARSON (1964) wiesen nach, daß der Nephridialinhalt von *Themiste signifer* hyperosmotisch

gegenüber der Coelomflüssigkeit ist, bei *Themiste dyscritum* konnte OGLESBY dagegen keine deutlichen Unterschiede zwischen Nephridialinhalt und Coelomflüssigkeit im Hinblick auf den osmotischen Druck feststellen.

Die Bedeutung der Nephridien für die Volumenregulation wird besonders deutlich durch Versuche mit Tieren, deren Nephridien entfernt oder abgebunden worden waren. Volumenregulation war dann nicht mehr möglich oder stark beeinträchtigt. Außerdem können die Nephridien von Sipunculiden verschiedene Stoffe konzentrieren (HERUBEL, 1907; DE JORGE et. al., 1969).

Im Gegensatz zu den zahlreichen physiologischen Untersuchungen steht die geringe Kenntnis der Struktur der Nephridien von Sipunculiden. Eine elektronenmikroskopische Arbeit liegt u. W. nicht vor, die ältere lichtmikroskopische Literatur wird von BALTZER (1928—34) zusammengefaßt.

#### Material und Methode

Die Metanephridien von *Phascolosoma lurco* SELENKA und DE MAN wurden in 3,5%igem kalten Glutaraldehyd (phosphatgepuffert, pH 7,5) 2 Stunden fixiert. Nach mehrmaligem Auswaschen in Phosphatpuffer wurden sie in 2%igem Osmiumtetroxid nachfixiert und anschließend über Äthanol und Propylenoxid in Araldit eingebettet. Am Porter-Blum-Ultramikrotom hergestellt Dünnschnitte wurden mit Uranylacetat (gesättigte Lösung in 70%igem Methanol) und Bleicitrat kontrastiert. Elektronenmikroskop: Zeiss EM 9 A.

Das Material wurde in der Nähe von Belawan mit Hilfe der Herren Lian und Wahab gesammelt und im Biochemischen Institut der Universität von Medan fixiert und eingebettet.

Die Reise nach Indonesien wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziell unterstützt (Sto 75/2, We 380/4).

#### Ergebnisse

Die Wand des Nephridiums von *Phascolosoma lurco* besteht aus drei in verschiedenen Regionen unterschiedlich dicken Schichten: 1. dem Coelomepithel, 2. einer Kollagenfaserlage und 3. dem Epithel, welches das Nephridium auskleidet. In der Kollagenlage können u. a. Muskelzellen liegen. Die Wand bildet Septen aus, die in das geräumige Nephridium vorspringen.

1. Coelomepithel. Das Coelomepithel bedeckt das gesamte Nephridium und besteht aus sehr flachen Zellen, deren kernhaltiger Anteil sich in die Leibeshöhle vorwölbt. Im zellorganellarmen Cytoplasma dominieren Glykogenrosetten (Abb. 2, 4); regelmäßig finden sich granuläre Einschlüsse mit heterogenem Inhalt, vereinzelt treten auch helle Lipideinschlüsse auf. An ihrer leibeshöhlenwärts gerichteten Seite können sie Büschel von Cilien tragen, die durch folgende Merkmale ausgezeichnet sind: zwei Basalplatten, am Basalkörper schräg ansetzende, quergestreifte Wurzeln, die bis an die Epithelbasis ziehen. Die cilientragenden Zellen besitzen zusätzlich lange apikale Mikrovilli. Die lateralen Zellwände verlaufen immer schräg zur Oberfläche des Nephridiums und können sich stark überlappen. Spezielle Kontaktzonen zwischen diesen Zellen wurden nur selten gefunden, meist handelt es sich um *Maculae adhaerentes*. Eine typische Basallamina fehlt.

2. In der Faserlage kommen vereinzelt Zellen mit zahlreichen elektronendichten, polymorphen Einschlüssen und Glykogenrosetten vor. Sie wurden in ähnlicher Gestalt in gleicher Lage auch bei *Sabella* beschrieben (KOECHLIN, 1970). Außerdem liegt die gesamte Muskulatur des Nephridiums in dieser Faserlage. Die von einer Basallamina umgebenen Zellen sind über Desmosomen miteinander verbunden. Sie bilden ein lockeres Maschenwerk.

Tafel 1 (zu V. Storch u. U. Welsch)

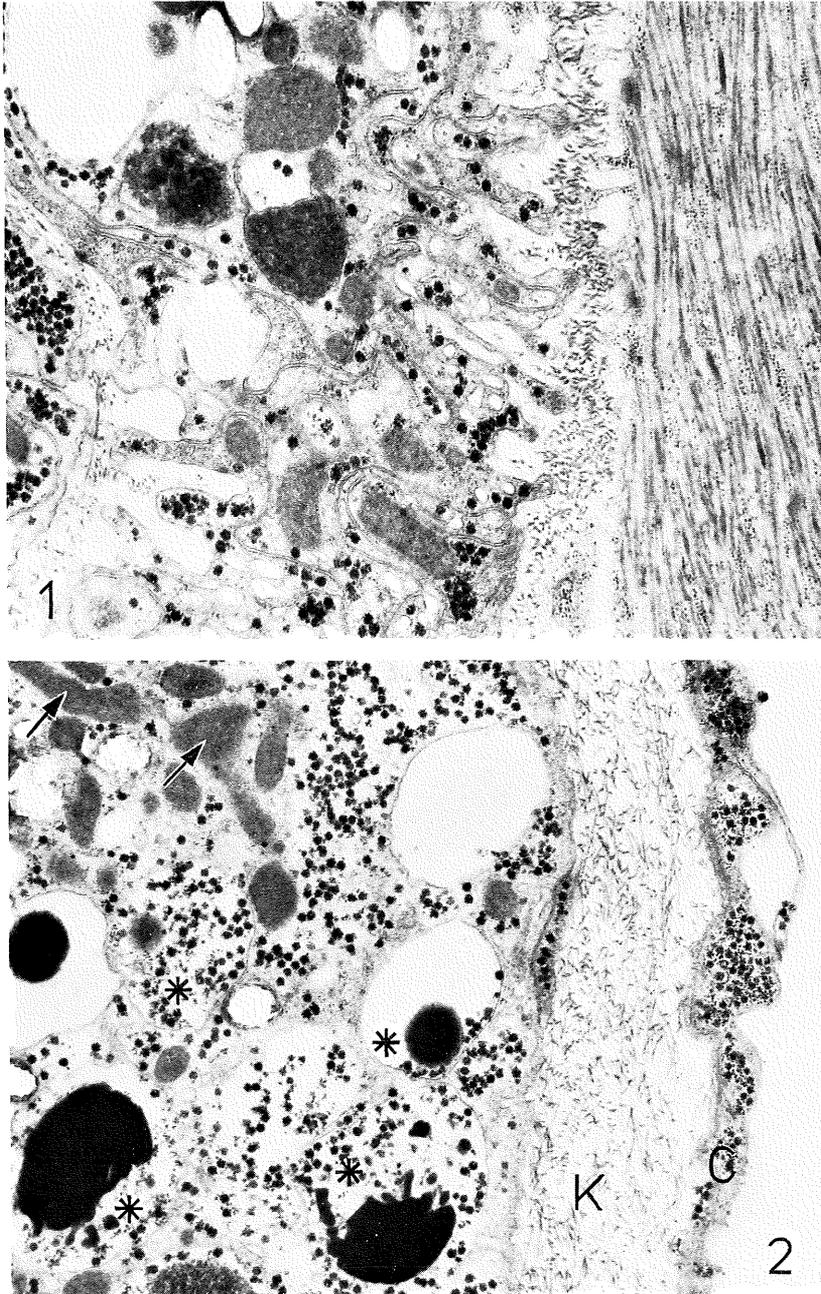


Abb. 1: Basis einer Nephridialepithelzelle mit basalem Labyrinth und cytoplasmatischen Fortsätzen, die in die Kollagenfaserschicht ragen; rechts Muskelzelle in der Kollagenschicht. Vergrößerung 18000  $\times$ .

Abb. 2: Basis einer Nephridialepithelzelle mit glatter Plasmamembran und verschiedenen Einschlüssen, die z. T. Glykogenpartikel enthalten (Sternchen). Pfeile deuten auf Mitochondrien. K: Kollagenschicht, C: Coelomepithel mit sehr viel Glykogen. Vergrößerung 18000  $\times$ .

**Tafel 2** (zu V. Storch u. U. Welsch)

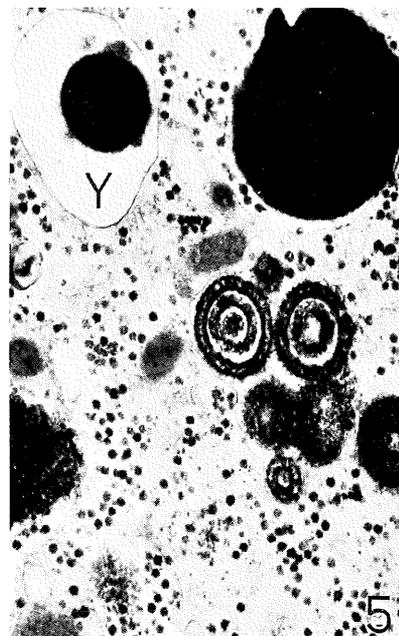
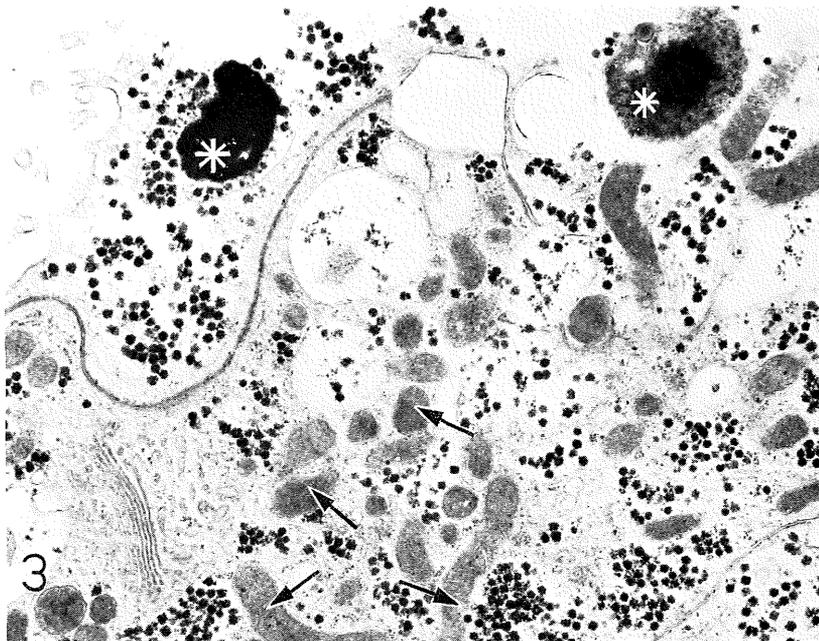


Abb. 3: Zellapex von Nephridialepithelzellen mit zwei Granula, deren Inhalt vermutlich ausgeschleust wird (Sternchen). Die Pfeile deuten auf Mitochondrien. Vergrößerung 18 000  $\times$ .

Abb. 4: Anschnitte durch Ausläufer des glykogenreichen Coelomepithels, darüber die Faserschicht. Vergrößerung 18 000  $\times$ .

Abb. 5: Verschiedene granuläre Einschlüsse im Cytoplasma einer Nephridialepithelzelle. Y: dieser Einschluß entspricht den „inclusions Y“ von Sabella. Vergrößerung 18 000  $\times$ .

3. Das Epithel des Nephridiums besteht aus kubischen Zellen, die apikal Mikrovilli und einzelne Cilien tragen, an deren Basalkörper senkrecht zu dessen Längsachse eine quergestreifte Wurzel entspringt. Die Zelloberfläche weist oft tiefe Einkerbungen auf, in die Mikrovilli hineinragen. Untereinander sind die Zellen über septierte Desmosomen miteinander verbunden. Basalwärts können sich an sie umfangreiche Interzellularräume anschließen, die oft mit granulärem Material gefüllt sind. Das basale Plasmalemm liegt einer sehr feinen Basallamina auf und ist stellenweise zu einem Labyrinth aufgefaltet, in dessen Bereich Mitochondrien mit dichter Matrix und wenigen Cristae sowie Glykogenrosetten liegen. Öfter sind sehr lange schmale Zellausläufer ausgebildet, zwischen denen einzelne Kollagenfibrillen vorkommen.

Der Zellkern liegt meist zentral, ist abgerundet und besitzt gleichmäßig verteiltes Hetero- und Euchromatin. Oft liegen die größeren Heterochromatinanteile in der Kernperipherie. Im Cytoplasma dominieren elektronendichte Einschlüsse verschiedener Größe und Form:

a) Verbreitet treten große polymorphe Einschlüsse mit heterogenem Inhalt auf (Abb. 3). b) Häufig lassen sich weiterhin recht große Granula beobachten, deren Inhalt in der Peripherie in einer breiten Zone elektronentransparent, im Zentrum dagegen sehr dicht ist (Abb. 2, 5). Diese Einschlüsse entsprechen den „corps cytoplasmiques Y“ im Nephridium von *Sabella pavonina* (KOECHLIN, 1972). Sie enthalten oft Glykogenrosetten. Beide Granulatypen können auch unter dem apikalen Plasmalemm gefunden werden, wo sie ihren Inhalt offenbar in das Lumen des Nephridiums abgeben (Abb. 3). Auf diese Weise gelangt auch Glykogen ins Lumen, wo es bisweilen in größeren Mengen angetroffen wurde. c) Seltener sind Granula mit locker verteiltem Inhalt mittlerer Dichte. Sie sind den „corps cytoplasmiques X“ im Nephridium von *Sabella pavonina* ultrastrukturell vergleichbar (KOECHLIN, 1972). d) Außerdem treten Granula mit konzentrisch geschichtetem Inhalt auf (Abb. 5).

Unter dem apikalen Plasmalemm kommen glattwandige Pinocytose- und Stachel-saumbälchen vor.

Ansonsten finden sich im Cytoplasma der Nephridialzellen zahlreiche Glykogenrosetten, unterschiedlich gestaltete Mitochondrien, die eine besonders dichte Matrix und nur sehr wenige Cristae besitzen (Abb. 2, 3). Golgi-Apparate, die die Mitochondrien an Größe nicht übertreffen, kommen vereinzelt vor (Abb. 3). Sie bestehen aus 4—8 Zisternen mit dichtem Inhalt.

#### Diskussion

Sipunculiden besitzen 1—3 große Metanephridien, die bei den meisten Arten dauernd in offener Verbindung mit der geräumigen sekundären Leibeshöhle stehen. Bei *Phascolosoma turco* sind zwei Nephridien ausgebildet, die bei der Präparation durch ihre dunkelbraune Farbe auffallen. Lediglich zwei Nephridien kommen auch bei den Serpulimorphen unter den Polychaeten vor. Unter diesen wurde *Sabella pavonina* in den letzten Jahren besonders eingehend untersucht (KOECHLIN, 1966, 1969, 1970, 1972). Mit diesem marinen Polychaeten zeigt die landlebende *Phascolosoma turco* im Hinblick auf die Feinstruktur der Nephridien mehr Übereinstimmungen als mit anderen Coelomaten:

Das sackförmige Nephridium steht in offener Verbindung mit Leibeshöhle und Außenmedium. Seine Wand setzt sich aus zwei Zellschichten (Nephridialepithel, Coelothel) und einer dazwischenliegenden Kollagenlage zusammen, in der auch Muskelzellen auftreten können. Stofftransport findet bei Sipunculiden (BALTZER, 1928—34; HERUBEL, 1907) und bei *Sabella pavonina* (KOECHLIN, 1971) in umfangreichem Maße durch die Nephridienwand statt. Exkrete werden in beiden Fällen in Gestalt verschiedener Einschlüsse in das Nephridiallumen abgegeben. Die von KOECHLIN eingehend

untersuchten Granula der „cellules en masse“ im aufsteigenden Ast des Metanephridiums von *Sabella* wurden teilweise — was den ultrastrukturellen Aspekt anbelangt — bei *Phascolosoma* wiedergefunden (Einschlüsse X und Y).

Der hohe Glykogengehalt ist auch für andere Metanephridien typisch, z. B. die von *Hirudo* (BOROFFKA, ALTNER und HAUPT, 1970) und den Renoperikardialgang von *Lymnaea stagnalis* (BONGA und BOER, 1969).

Besonders weitgehend sind die Übereinstimmungen der Nephridien von *Phascolosoma* und *Sabella* im Wandbau des Nephridiums, so daß auf sehr ähnliche Passagewege geschlossen werden kann. KOEHLIN (1970) konnte nachweisen, daß in die Leibeshöhle injiziertes Thorotrast das Coelothel intra- und interzellulär passiert, dann in die Fasertage eintritt und zwischen die Zellen des Nephridialepithels eindringt. Unter den septierten Desmosomen wird es durch Pinocytosebläschen in das Cytoplasma der Nephridialzellen aufgenommen und schließlich in das Nephridiallumen abgegeben. Morphologische Äquivalente für einen derartigen Passageweg sind bei *Phascolosoma* deutlich ausgeprägt: seltene Maculae adhaerentes zwischen den Coelothelzellen, umfangreiche Interzellularräume mit Niederschlag im basalen Bereich des Nephridialepithels, darüber septierte Desmosomen, Pinocytosebläschen.

Eine weitere Übereinstimmung besteht darin, daß die Nephridien beider Formen nicht von Gefäßen versorgt werden. Bei *Sabella* liegt jedoch in Nähe des Nephrostoms der Perioesophagealplexus, dessen fenestrierte Epithelzellen auf eine Filtration schließen lassen (KOEHLIN, 1966). Entsprechendes ist von Sipunculiden bisher nicht bekannt.

Die Nephridien anderer Anneliden werden dagegen nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen mit Blutgefäßen (primären oder sekundären) versorgt (*Hirudo*: BOROFFKA, ALTNER, HAUPT, 1970; *Lumbricus*: GRASZYNSKI, 1963).

Von den Nephridien der Mollusken und Arthropoden sind die von *Phascolosoma turco* ebenfalls durch die geringe Differenzierung der Wandabschnitte unterschieden (Lit. bei ALTNER, 1969; BONGA und BOER, 1969; EL-HIFNAWI und SEIFERT, 1971; GROEPLER, 1969; HAUPT, 1969; KÜMMEL, 1964).

#### Literaturverzeichnis

- ADOLPH, E. F. (1936): Differential permeability to water and osmotic changes in the marine worm *Phascolosoma*. — J. cell. comp. Physiol. 9, 117—135.
- ALTNER, H. (1969): Die Ultrastruktur der Labialnephridien von *Onychiurus quadricellatus* (Collembola). — J. Ultrastruct. Res. 24, 349—366.
- BALTZER, F. (1928—34): Sipunculida. Handbuch der Zoologie 2, 2. 15—61. W. de Gruyter, Berlin.
- BONGA, S. E. W., BOER, H. H. (1969): Ultrastructure of the renopericardial system in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (L.). — Z. Zellforsch. 94, 513—529.
- BOROFFKA, I., ALTNER, H., HAUPT, J. (1970): Funktion und Ultrastruktur des Nephridiums von *Hirudo medicinalis*. I. Ort und Mechanismus der Primärharnbildung. — Z. vergl. Physiol. 66, 421—438.
- CHUANG, S. H. (1961): On Malayan Shores. 225 S. Muwu Shosa, Singapore.
- DE JORGE, F. B., PETERSEN, J. A., DITADI, A. S. (1969): Iodine accumulation by the nephridia of *Sipunculus* (Sipuncula). Exper. 25, 1147—1148.
- EL-HIFNAWI, E. S., SEIFERT, G. (1971): Über den Feinbau der Maxillarnephridien von *Polyxenus lagurus* (L.) (Diplopoda, Penicillata). — Z. Zellforsch. 113, 518—530.

- GRASZYNSKI, K. (1963): Die Feinstruktur des Nephridialkanals von *Lumbricus terrestris* L. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung. — Zool. Beitr. NF. 8, 189—296
- GROEPLER, W. (1969): Feinstruktur der Coxalorgane bei der Gattung *Ornithodoros* (Acari, Argasidae). — Z. wiss. Zool. 178, 235—275.
- HARMS, J. W., DRAGENDORFF, O. (1933): Die Realisation von Genen und die consecutive Adaption. — 3. Mitteilung. Z. wiss. Zool. 143, 263—322.
- HAUPT, J. (1969): Zur Feinstruktur der Labialniere des Silberfischchens *Lepisma saccharina* L. (Thysanura, Insecta). — Zool. Beitr. NF. 15, 139—170.
- HERUBEL, M. A. (1907): Recherches sur les Sipunculides. Mém. Soc. Zool. France 20, 107—418.
- KAMEMOTO, F. I., LARSON, E. J. (1964): Chloride concentrations in the coelomic and nephridial fluids of the sipunculid *Dendrostomum signifer*. Comp. Biochem. Physiol. G. B. 13, 477—480.
- KÜMMEL, G. (1964): Das Cölomsäckchen der Antennendrüse von *Cambarus affinis* Say. (Decapoda, Crustacea). Zool. Beitr. NF. 10, 227—252
- KOECHLIN, N. (1966): Ultrastructure du plexus sanguin périoesophagien; ses relations avec la néphridie de *Sabella pavonina* Savigny. C. R. Acad. Sc. Paris 262, 1266—1269.
- KOECHLIN, N. (1969): Transfert des particules de thorotrast incluses dans des vésicules intracellulaires ou extracellulaires de la paroi néphridienne chez *Sabella pavonina* Savigny, Annélide Polychète. C. R. Acad. Sc. Paris 268, 1321—1323.
- KOECHLIN, N. (1970): Etude cytophysiologique des néphrides thoraciques d'une annélide polychète (Sabelle). I. Arch. d'anat. microsc. 59, 331—360.
- KOECHLIN, N. (1972): Etude histochimique et ultrastructurale des pigments néphridiens et coelomiques d'une Annélide Polychète (Sabelle). Ann. Histochem. 17, 27—54.
- OGLESBY, L. C. (1969): Inorganic components and metabolism; ionic and osmotic regulation: Annelids, Sipunculids, and Echiuri s. In Chemical Zoology, ed. M. FLORKIN, B. T. SCHEER; vol. 4, 211—310.