

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Radulakomplex und zur Radulabildung von *Biomphalaria glabrata* Say (= *Australorbis gl.*) (Gastropoda, Basommatophora)

Renate Wiesel und Werner Peters

Institut für Zoologie II der Universität, Universitätsstr. 1, D-4000 Düsseldorf, Bundesrepublik
Universitätsstr. 1, D-4000 Düsseldorf, Bundesrepublik Deutschland

Light and Electron Microscopic Investigations on the Radula Complex and Radula Formation of *Biomphalaria glabrata* Say (= *Australorbis gl.*) (Gastropoda, Basommatophora)

Summary. *Biomphalaria (Australorbis) glabrata* has a preradular as well as a postradular pocket and a collostyle hood. The odontophore cartilage does not consist of cartilage, but of cells which are characterized by numerous vesicles, mitochondria, and muscle fibres in the periphery; other cells contain large amounts of glycogen. The odontoblasts are characterized by unusually long microvilli which reach into the newly formed radula teeth. The formation of a tooth begins above the posterior odontoblast which has at first only short microvilli. The tooth seems to be raised by the extension of these microvilli. Microfibrils are formed in the electron dense material which is present in the small space between the microvilli; probably these microfibrils contain chitin. Obviously the interlacing of the bundles of microfibrils in a tooth corresponds with the complex arrangement of the long microvilli during formation of the tooth. Finally the microvilli are integrated into the newly formed tooth and radular membrane. Several odontoblasts join to form a single tooth. The radular membrane is secreted mainly or exclusively by the most anterior odontoblast. The cells of the superior epithelium surround the radula teeth. The so-called "secretion cavity" seems to be an artifact. Electron dense material is present between teeth and superior epithelium which is not apposed to but seems to be integrated into the teeth. The cells of the inferior epithelium show considerable secretory activity; the secretions seem to be incorporated into radular teeth and membrane.

Zusammenfassung. *Biomphalaria glabrata* besitzt eine Prä- und eine Postradulasche, sowie eine Sperrkutikula. Das Radulapolster besteht nicht aus Knorpel, sondern aus großen Zellen, die durch zahlreiche Vesikel, Mitochondrien, sowie

durch peripher liegende Muskelfasern gekennzeichnet sind, während andere Zellen große Mengen Glykogen speichern. Die Odontoblasten sind charakterisiert durch ungewöhnlich lange Mikrovilli, die bis in die neugebildeten Radulazähne ragen. Die Zahnbildung beginnt über den hinteren Odontoblasten, die zunächst nur kurze Mikrovilli aufweisen. Das Aufrichten eines neugebildeten Zahns dürfte dadurch zustande kommen, daß die Mikrovilli länger werden. Zwischen den Mikrovilli befindet sich elektronendichtes Material, in dem Mikrofibrillen entstehen; diese dürften Chitin enthalten. Die Verflechtung der Mikrofibrillenbündel im ausgebildeten Zahn entspricht offensichtlich der komplizierten Anordnung der langen Mikrovilli während der Zahnbildung. Die Mikrovilli werden schließlich in den neugebildeten Zahn und die Radulamembran integriert. Mehrere Odontoblasten sezernieren gemeinsam einen Radulazahn. Die Radulamembran wird vorwiegend oder ausschließlich vom vordersten Odontoblasten sezerniert. Die Zellen des Deckepithels umschließen die Radulazähne; die sogenannte „Sekrethöhle“ dürfte ein Artefakt sein. Zwischen Deckepithel und Zahn befindet sich elektronendichtes Material, das dem Zahn nicht aufgelagert wird, sondern in die Zähne eingelagert werden dürfte. Die Zellen des Basalepithels zeigen starke sekretorische Aktivität; die Sekrete dürften in Radulamembran und -zähne eingelagert werden.

A. Einleitung

Die Radula ist eines der kennzeichnenden Merkmale der Mollusken und wurde erstmals 1737 von Swammerdam beschrieben. Seither sind zahlreiche Beschreibungen des Radulakomplexes, oft in Verbindung mit der Darstellung des gesamten Darmtraktes, erschienen, aber nur relativ wenige histologische Arbeiten (u.a. Baecker, 1932; Carriker u. Bilstad, 1946; Gabe u. Prenant, 1952a, 1957; Pan, 1958; Lutfy u. Demian, 1967; Kerth, 1971, 1973, 1976). Untersuchungen mit dem Rasterelektronenmikroskop trugen zum Verständnis der Funktionsweise bei (Carriker, 1969; Runham, 1969; Jungbluth u. Porstendorfer, 1975), lieferten eine dreidimensionale Darstellung der Radulazähne (Thompson u. Hinton, 1968; Thomas, 1971; Kohn et al., 1972) und zeigten Schäden an abgenutzten Zähnen (Runham u. Thornton, 1967).

Troschel (1856–1863) äußerte als erster die Vermutung, daß die Radula an ihrem hinteren Ende wächst und so Ersatz für die abgenutzten Radulazähne liefert. Gegen Ende des 19. Jahrhunderts begann dann die Diskussion um die Radulabildung, die bis heute noch nicht ganz abgeschlossen ist. Allgemein anerkannt ist, daß die Radulazähne von spezialisierten Zellen, den Odontoblasten, gebildet werden. Von einer Reihe von Autoren wurde die Meinung vertreten, daß die Odontoblasten nach einmaliger bzw. mehrmaliger Sekretion ersetzt werden (Trinchese, 1876; Rücker, 1883; Sharp, 1883; Bloch, 1896; Rottmann, 1901; Schnabel, 1903; Sollas, 1907; Pruvot-Fol, 1926; Sick, 1958; Wagner, 1966). Andere Autoren waren dagegen der Ansicht, daß die Odontoblasten permanent tätig sind (Rössler, 1885; Beck, 1912; Spek, 1921; Prenant, 1925; Hoffmann, 1932; Gabe u. Prenant, 1952b). Neuere Untersuchungen von Runham (1963), Kerth u. Krause (1969) und Kerth (1971, 1973) haben gezeigt, daß die Odontoblasten zumindest über längere Zeiträume permanent tätig sind.

Bisher wurden nur die Odontoblasten von *Patella vulgata* L. elektronenmikroskopisch untersucht (Runham u. Isarankura, 1966). Die Feinstruktur der relativ großen Odontoblasten einer zu den Basommatophora gehörenden Art wurde bisher noch nicht beschrieben. An diesen Odontoblasten mit ihrer enormen Sekretionsrate erschienen vor allem die vorhandenen Zellorganellen, die Ausschleusung des Radulamaterials, die Entstehung und Anordnung der Mikrofibrillen, sowie die Feinstruktur der benachbarten Epithelien besonders interessant.

Als Objekt bot sich *Biomphalaria glabrata* Say. an, einer der wichtigsten Zwischenwirte von *Schistosoma mansoni* Sambon. Diese Art hat gegenüber einheimischen Wasserschnecken den großen Vorteil, daß sie sich das ganze Jahr über züchten läßt. Da der Radulakomplex von *Biomphalaria glabrata* bisher nur kurz von Pan (1958) beschrieben wurde, mußte zunächst lichtmikroskopisch eine Orientierungsmöglichkeit für die nachfolgenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen geschaffen werden.

B. Material und Methoden

Biomphalaria (= *Australorbis*) *glabrata* Say. stammte aus einer Zucht im Pharma-Forschungszentrum der Bayer-Werke in Wuppertal¹.

Zur Präparation wurden mindestens sechs Wochen alte Tiere mit einem Schalendurchmesser zwischen 5 und 10 mm verwandt.

Zur Herstellung von Radula-Totalpräparaten wurden die Buccalmassen in 10% KOH bei 40° C mazeriert. Nach der Mazeration wurden die Radulae gründlich in destilliertem Wasser ausgewaschen und ungefärbt in Kaisers Glyzeringelatine (s. Kerth u. Krause, 1969) gebracht; diese liefert auch bei breiten Radulae, im Gegensatz zu Caedax, glatt ausgebreitete Präparate. Die kontrastreichen Präparate wurden im Phasenkontrast, im Dunkelfeld und im Interferenzkontrast nach Nomarski untersucht.

Die Präparate für die Rasterelektronenmikroskopie wurden 1 h in 2,5 % Glutaraldehyd in 0,05 M Cacodylatpuffer (pH 7,4) fixiert, in destilliertem Wasser ausgewaschen, über die Alkoholreihe entwässert, luftgetrocknet und in einer Bedampfungseinrichtung der Fa. LWU/München mit Gold bedampft. Die Aufnahmen wurden mit einem Jeol JSM-35 Rasterelektronenmikroskop bei 20 kV gemacht².

Für die Lichtmikroskopie wurden die Tiere in 5% Erdlösung präpariert und in SUSA bzw. Bouin-Duboscq-Brasil (BDB) fixiert (Romeis, 1968). Von den in Paraffin eingebetteten Buccalmassen wurden 6 µm dicke Schnittserien angefertigt und mit Hämalun-Eosin, Dobells Modifikation der Eisenhämatoxylin-Färbung nach Heidenhain oder Azan nach Heidenhain behandelt.

Für die Elektronenmikroskopie wurden die Buccalmassen im Fixierungsmittel präpariert. Das Material wurde in 2,5% Glutaraldehyd in 0,05 M Cacodylatpuffer (pH 7,4) oder in 2,5% Glutaraldehyd in 0,16 M Phosphatpuffer nach Millonig (pH 7,1) fixiert; anschließend wurde in 1% OsO₄ in entsprechendem Cacodylat- bzw.

¹ Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Gönner herzlich dafür danken, daß er uns dieses Material zur Verfügung stellte

² Das Gerät stellte die Fa. Kontron zur Verfügung. Wir danken Frau Thury für die Herstellung der Aufnahmen

Phosphatpuffer nachfixiert. Ferner wurde nach Dalton (s. Kay, 1965) in 2% OsO₄ und K₂Cr₂O₇ fixiert oder die Simultanfixierung in einer 1:1-Mischung von 2,5% Glutaraldehyd und 2% OsO₄ in Phosphatpuffer nach Franke et al. (1969) angewandt. Die Präparation erfolgte in diesen beiden Fällen in 5% Erdlösung. Simultan fixiertes Material wurde zur Blockkontrastierung in 2% wäßriges Uranylacetat gebracht, die übrigen Präparate in 1% Uranylacetat und 1% Phosphorwolframsäure in 70% Äthanol. Die Einbettung erfolgte in Araldit. Die Schnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat nachkontrastiert und im Zeiss-Elektronenmikroskop EM 9 S-2 untersucht.

C. Ergebnisse

Die Buccalmasse

Die terminal gelegene, T-förmige Mundöffnung von *Biomphalaria glabrata* wird von Lippen umgeben, die mit einer Kutikula bedeckt sind (Abb. 1). Diese setzt sich in der Mundhöhlenkutikula fort, die dorsal und lateral stärker ausgebildet ist als ventral, und die in Höhe der Präradulatasche (s.u.) endet.

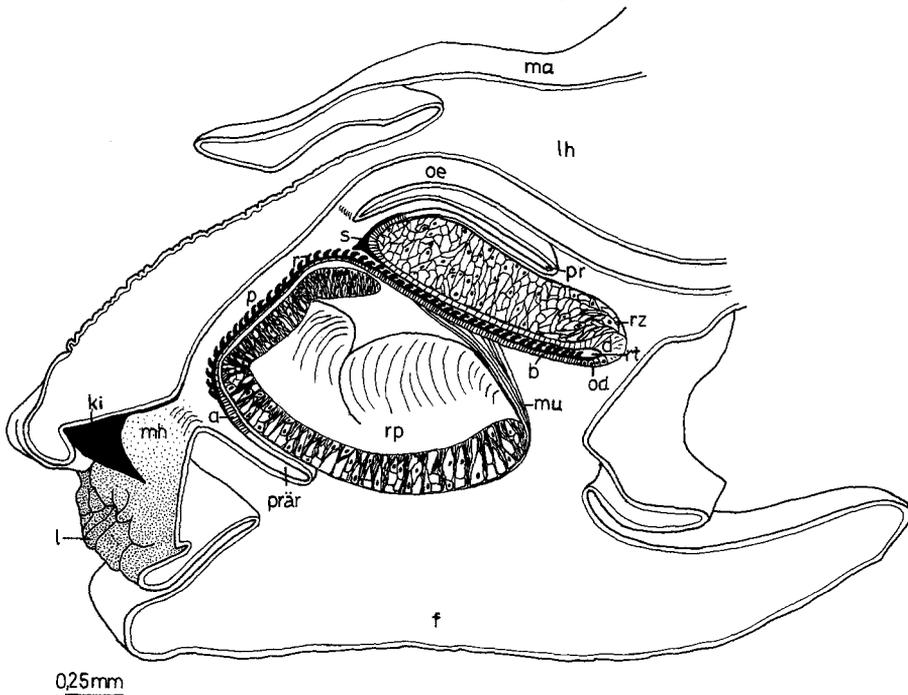


Abb. 1. Medianer Sagittalschnitt durch das Vorderende von *Biomphalaria glabrata* (halbschematisch). Die Buccalmasse befindet sich in Ruhestellung. Die starke Muskulatur, die den gesamten Vorderdarm mit seinen drei taschenförmigen Ausbuchtungen (*prä*r Präradulatasche, *rt* Radulatasche, *pr* Postradulatasche) und die beiden Stützgewebe (*rp* Radulapolster, *rz* Radulazapfen) umgibt, wurde nicht eingezeichnet. *a* Ablösungszone der Radula, *b* Basal-, *d* Deckepithel, *f* Fuß, *ki* Kiefer, *l* Lippen mit Kutikula, *lh* Leibeshöhle, *ma* Mantel, *mh* Mundhöhle mit Kutikula, *mu* Muskel, *od* Odontoblasten, *oe* Ösophagus, *p* Pharynx, *r* Radula, *s* Sperrkutikula

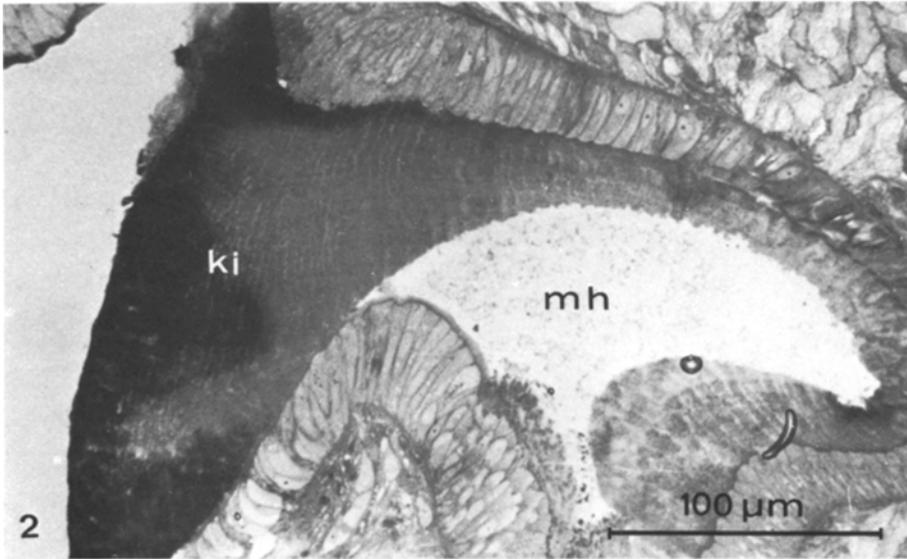


Abb. 2. Sagittalschnitt durch den Kiefer (*ki*). *mh* Mundhöhle

Der Kiefer ist eine dorsale, kutikulare Verdickung (Abb. 1); er wird aus kleinen Säulen zusammengesetzt, die von je einer Zelle des Mundhöhlenepithels abgeschieden werden (Abb. 2). Seine Vorderseite ist von einer Kutikulaschicht überzogen, die mit der Lippenkutikula in Verbindung steht. Die Querstreifung des Kiefers (Abb. 2) läßt eine periodische oder zumindest eine nicht kontinuierliche Sekretionstätigkeit der ihn bildenden Epithelzellen vermuten.

Den Übergang von der Mundhöhle zum Pharynx markiert eine ventrale Epithelausstülpung, die Präradulatasche, die vor dem Radulapolster liegt (Abb. 1). Das Pharynxlumen wird durch den dorsalen, vorragenden Teil des Radulapolsters eingeeengt. Das vordere Ende der Radula ragt in die Präradulatasche hinein. Der übrige Teil der Radula steckt in der Radulatasche, die eine ventrale Ausbuchtung des Pharynxepithels und ektodermaler Herkunft ist. Das Lumen der Radulatasche wird von einem zweiten Stützgewebe, dem Radulazapfen, eingeeengt. Die Radulatasche wird dadurch in dorsoventraler Richtung abgeflacht und nimmt eine hufeisenförmige Gestalt an; sie ist von einer bindegewebigen Hülle umgeben. Hinter dem Radulazapfen findet sich noch eine ventrale Epithelfalte, die Postradulatasche, über der sich der Ösophagus abfaltet (Abb. 1). Eine starke Muskulatur umgibt den gesamten Vorderdarm mit seinen drei taschenförmigen Ausbuchtungen und die beiden Stützgewebe, das Radulapolster und den Radulazapfen. Dieser gesamte Komplex wird als Buccalmasse bezeichnet.

Radulapolster und Radulazapfen

Die Radulapolster von *Biomphalaria glabrata* ist einteilig und symmetrisch aufgebaut (s. Abb. 3). Die Radulatasche grenzt nicht direkt an das Stützgewebe, sondern es bleibt zwischen ihr und dem Radulapolster ein freier Raum, in dem ein direkt an der

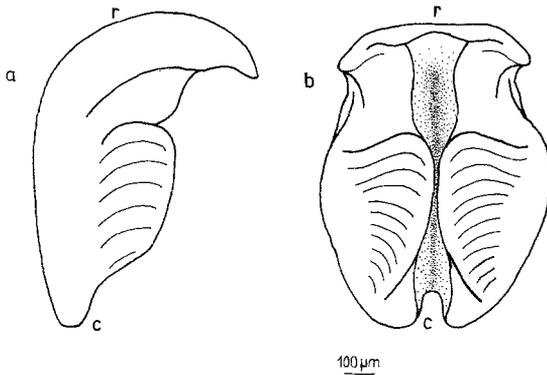


Abb. 3 a u. b. Radulapolster in Lateral- (a) und Dorsalansicht (b). *r* rostrad, *c* caudad

Tasche ansetzender Muskel ventrad verläuft und unterhalb des Polsters rostrad umbiegt (Abb. 4a).

Das Radulapolster besteht aus Zellen, die im Innern verschieden umfangreiche Vesikelansammlungen und Mitochondrien, sowie in der Peripherie Muskelfibrillen enthalten (Abb. 4b). Zwischen diesen Zellen befinden sich andere voluminöse Zellen, die große Mengen Glykogen speichern. Das Radulapolster ist von einer bindegewebigen Hülle umgeben. Die PAS-Reaktion zeigt licht- und elektronenmikroskopisch, daß im Radulapolster große Mengen Glykogen gespeichert werden. Über der Mundhöhle ist ein Stützpolster vorhanden, das ganz entsprechende Strukturen aufweist.

Der stabförmige Radulazapfen liegt dem dorsalen Epithel der Radulatasche eng an (Abb. 1). Das Gewebe sieht knorpelartig aus. Unregelmäßig geformte Zellen haben unterschiedlich großen Abstand voneinander und befinden sich in einer elektronenlichten Grundsubstanz, die von zahlreichen, feinen Fibrillen durchsetzt ist.

Die Radula

Die Radula von *Biomphalaria* ist symmetrisch aufgebaut und läßt sich in Quer- und Längsreihen gliedern, die voneinander sehr regelmäßige Abstände besitzen. Die Zahl der Querreihen variiert von Individuum zu Individuum und liegt zwischen 119 und 134. Auch die Zahl der Längsreihen schwankt von Tier zu Tier. Pro Radulahälfte folgen seitlich der Mittelzahnreihe (Rhachiszähne) mindestens 9, maximal 11 Längsreihen mit Seitenzähnen (Lateralzähnen); die Zahl der Längsreihen mit Randzähnen (Marginalzähnen) liegt zwischen 12 und 15. Damit ergibt sich, daß die Radula bei den untersuchten Individuen mindestens 43, maximal 53 Längsreihen enthält. Eine Zunahme von Längsreihen wurde jedoch nie innerhalb der Radula einer Schnecke gefunden.

Der Rhachiszahn (Mittelzahn) ist mit breiter Basis in der Radulamembran verankert. Seine caudad gerichtete Zahnschneide läuft in zwei gleich große Zacken aus (Abb. 5). Die caudad gewinkelten Lateralzähne tragen je drei Zacken, die entsprechend ihrer Lage zur Mittelzahnreihe als Ento-, Meso- und Ektoconus bezeichnet werden. Der Mesoconus ist größer als Ento- und Ektoconus. Die löffelartig gewölbten Marginalzähne inserieren mit schmaler Basis in der Radulamembran; sie sind schlank und hinter der Knickkante des Radulapolsters weisen ihre mehrzackigen Zahnschneiden zur

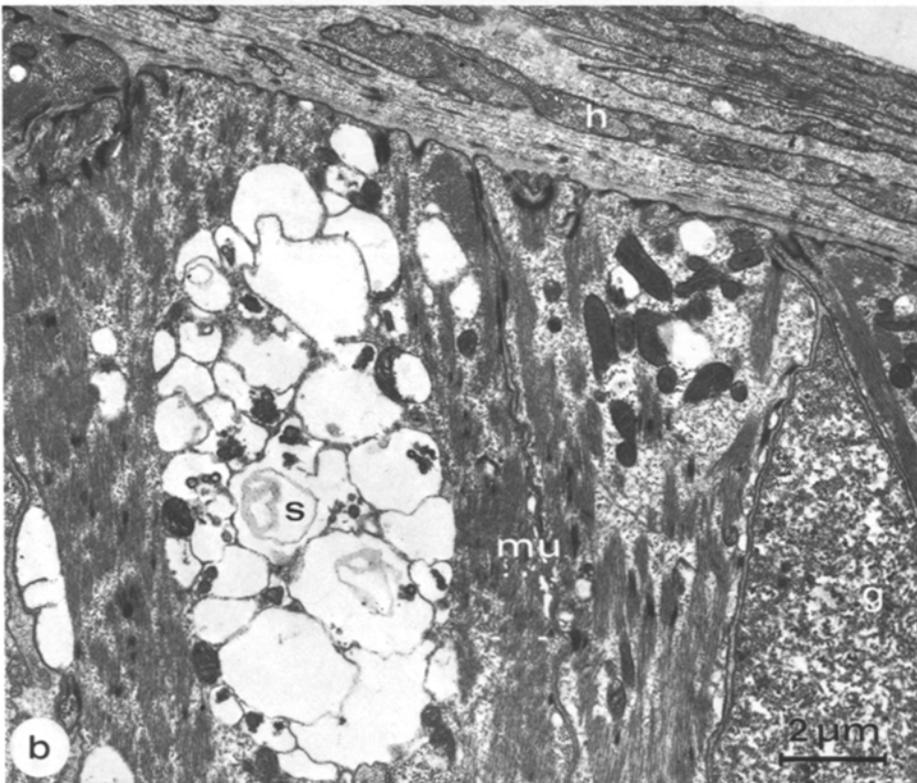
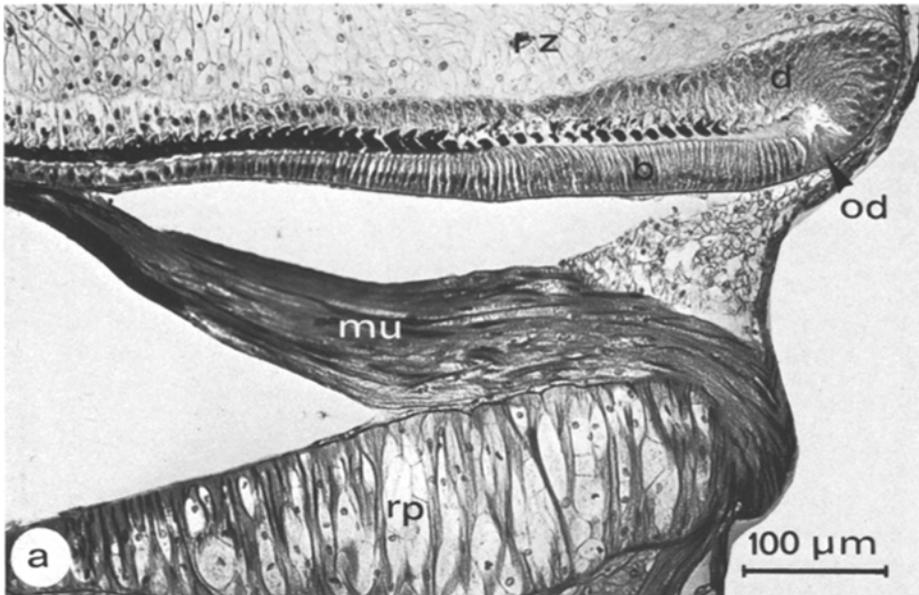


Abb. 4. a Sagittalschnitt durch die Radulatasche. Die Radulazähne sind entsprechend ihrem Reifungszustand verschieden gefärbt. b Radulapolster. b Basal-, d Deckepithel, g Glykogen, h bindegewebige Hülle, mu Muskel bzw. Muskelfaser, od Odontoblasten, rp Radulapolster, rz Radulazapfen, sV sekrethaltige Vesikel

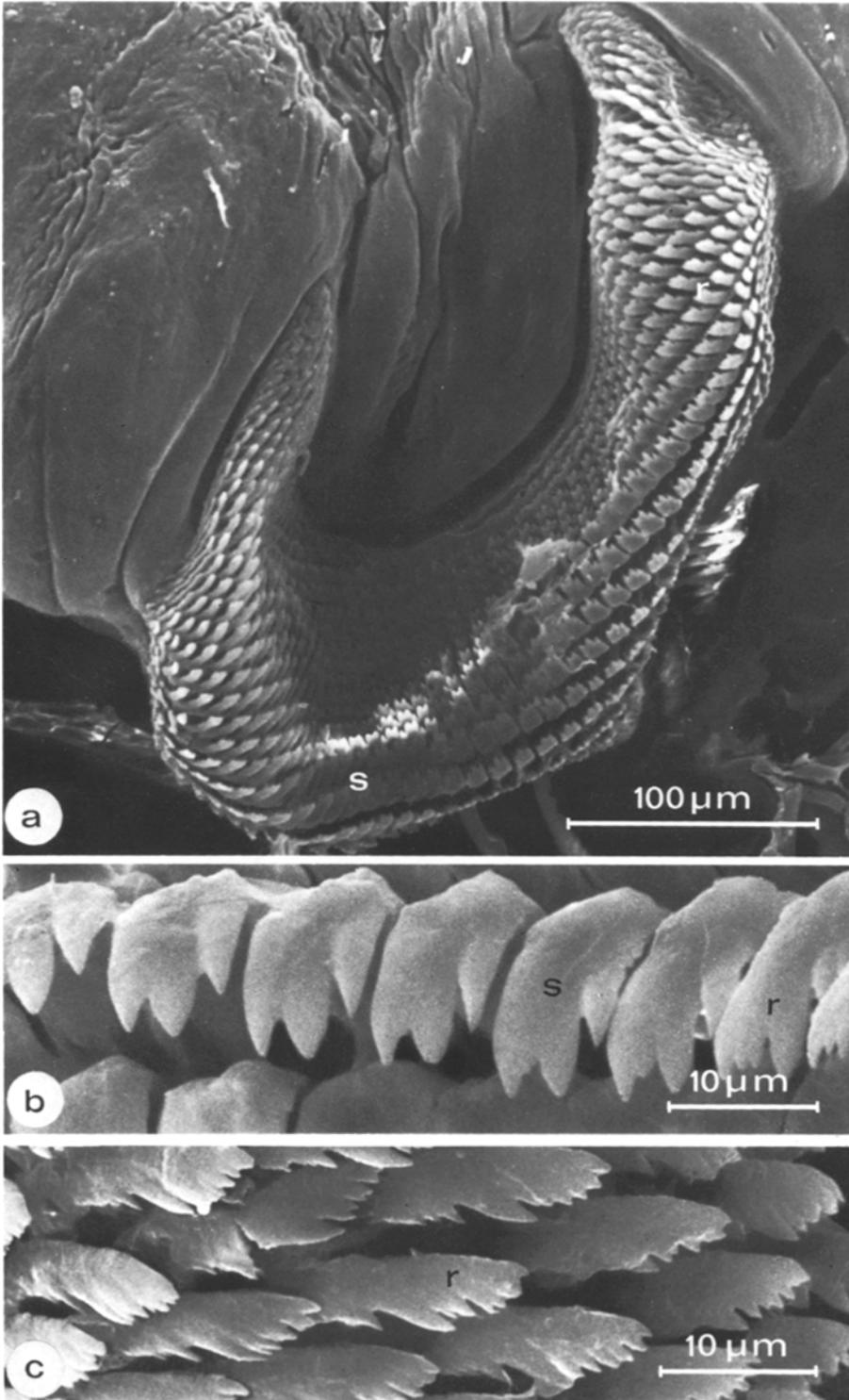


Abb. 5. a Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des Ausgangs der Radulatasche. b u. c In den Ausschnittvergrößerungen sind die Seitenzähne (s) und die Randzähne (r) deutlicher zu erkennen. Die dreizackigen Seitenzähne sind caudad gerichtet, während die mehrzackigen Randzähne zur Mitte der Radulatasche weisen

Mitte der Radulatasche; dabei kommt die Zahns Spitze eines Randzahnes auf den basalen Teil des davorliegenden Zahns zu liegen (Abb. 5). Die äußersten Randzähne sind kleiner, behalten aber die typische Zahnform bei. Im Rasterelektronenmikroskop zeigen Zahnrückenden und Zahnhohlkehle eines Radulazahnes keine auffälligen Oberflächenstrukturen, während der basale Teil der Zähne mit kleinen Furchen und Gruben versehen ist.

Die Radulazähne ändern von ihrem Bildungsort am Grund der Radulatasche bis zu ihrem Funktionsort ihre optischen Eigenschaften und ihr Verhalten gegenüber Farbstoffen. Eisen konnte in der Radula von *Biomphalaria* nicht nachgewiesen werden.

Die außerhalb der Radulatasche liegenden Radulazähne sind am Freßvorgang beteiligt. Lichtmikroskopisch ist eine Verkürzung der Zahnspitzen durch die Abnutzung zu erkennen. Detaillierter sind die Schäden an diesen Zähnen im Rasterelektronenmikroskop zu beobachten. Die Zacken der Seitenzähne sind stark abgerundet und von Furchen durchzogen; Zahnrückenden und Zahnhohlkehle sind unbeschädigt. Häufig sind Ekto- und Entoconus abgebrochen; der breitere Mesoconus fehlt seltener. Durch die starke Abnutzung werden die Zähne stumpf, so daß sie nach einer gewissen Zeit ihre Funktion nicht mehr erfüllen können und ersetzt werden müssen.

Die Odontoblasten

Die Odontoblasten unterscheiden sich bei den Basommatophoren in ihrer Größe erheblich von den Zellen der angrenzenden Epithelien und bilden einen mehrere Zellreihen breiten, einschichtigen Streifen, welcher der Form der Radulatasche entsprechend hufeisenförmig gebogen ist. Im Sagittalschnitt sind 5–7 Odontoblasten angeschnitten.

Die Odontoblasten bilden Gruppen, die jeweils einen Zahn produzieren. Die Gruppen, welche die Randzähne bilden, umfassen 12 ± 2 Odontoblasten, die entsprechend der Zahnform asymmetrisch angeordnet sind (Abb. 6). Der vorderste Odontoblast einer Gruppe setzt sich gegenüber den folgenden Odontoblasten ab. Im Sagittalschnitt behält diese Zelle fast immer eine schräg viereckige Form bei, ihr Cytoplasma färbt sich mit Azan stärker an als das der anderen Zellen. Im Flachschnitt ist dieser Odontoblast gegenüber den dahinter liegenden Odontoblasten einer Gruppe um eine halbe Zellenbreite verschoben.

Die Odontoblasten weisen basal über der dicken Basallamina außerordentlich stark und unregelmäßig gewundene Einfaltungen der Zellmembran auf, die sich auch an den benachbarten Zellen in diesem Bereich finden. Der vorderste Odontoblast kann derartige umfangreiche Verzahnungen auch weiter oberhalb mit dem benachbarten Odontoblasten und der ersten Basalepithelzelle haben (Abb. 7). Im basalen Bereich der Odontoblasten sind zahlreiche Mitochondrien in unregelmäßiger Anordnung zu finden. Außerdem trifft man verschieden große Vesikel, die mit dichtem, granulärem Material angefüllt und vor allem in diesem Bereich deutlich zu sehen sind; im basalen Cytoplasma liegen auch Vesikel mit elektronendichtem Inhalt. In Kernnähe tritt das stark entwickelte raue endoplasmatische Retikulum deutlicher hervor als apikalwärts. Ein ausgeprägter Golgiapparat trat nicht in Erscheinung. Mitochondrien mit Cristae kommen überall im Cytoplasma, besonders gehäuft aber im subapikalen Teil der Zellen vor. Ferner befinden sich vorwiegend im apikalen Zellbereich massenhaft Mikrotubuli.

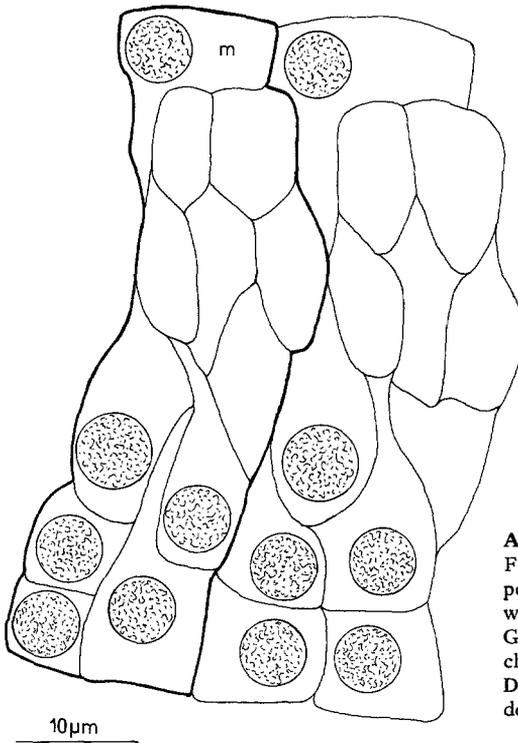


Abb. 6. Halbschematische Darstellung eines Flachschnitts durch zwei Odontoblastengruppen, von denen die vordere stärker umrandet wurde. Diese aus 12 ± 2 Zellen bestehenden Gruppen bilden Randzähne und sind entsprechend der Zahnform asymmetrisch angeordnet. Die Membranbildungszelle (*m*) ist gegenüber den anderen Odontoblasten seitlich verschoben

Das auffallende Charakteristikum der Odontoblasten sind die ungewöhnlich langen, vom gesamten Zellapex ausgehenden Mikrovilli (Abb. 8 u. 9). Beim Beginn der Bildung eines neuen Zahns sind die Mikrovilli des letzten Odontoblasten noch sehr kurz und gedrungen und scheinen in verschiedener Richtung zu verlaufen, auch parallel zur Oberfläche des Odontoblasten (Abb. 8). Zwischen den Mikrovilli, deren Lumen hell erscheint, befindet sich elektronendichtes Material, das vorwiegend aus den Odontoblasten stammen dürfte (s.u.), zumindest teilweise aber auch aus dem Deckepithel kommen könnte, da in den Interzellularräumen der Deckepithelzellen elektronendichtere Substanz vorhanden ist und das Deckepithel unmittelbar an den Mikrovillisaum des Odontoblasten heranreicht. Dafür spricht auch, daß das Endepithel bei der PAS-Reaktion stark positiv reagiert, aber nach Behandlung mit Speichelamylase nur im apikalen, der Zahnanlage aufliegenden Teil noch positiv anspricht. Das Oberflächenprofil des Odontoblasten ist etwas gewölbt und entspricht damit ganz offensichtlich der Kontur des Zahnrückens.

Durch allmähliche Verlängerung der Mikrovilli und weitere Sekretabgabe gewinnt der neue Zahn Gestalt. Unklar ist nur, wie es zur Ausbildung der Zahnhohlkehle kommt; dabei könnte auch das Deckepithel eine Rolle spielen. Die mittleren Odontoblasten scheinen bei der weiteren Ausgestaltung des Zahnes und vor allem der basalen Zahnpartien beteiligt zu sein. Der Verlauf ihrer Mikrovilli ist sehr verschieden (Abb. 8 u. 9), aber stets sind sie außerordentlich lang und stehen sehr dicht beieinander; ihr Durchmesser beträgt 110–140 nm. In ihrem hell erscheinenden Innern erkennt man feine Filamente. Umgeben sind sie auch schon im basalen Abschnitt, von einem elektronendichten Material. Apikal wird die Struktur der Mikrovilli immer undeutlicher, aber ihre Kon-

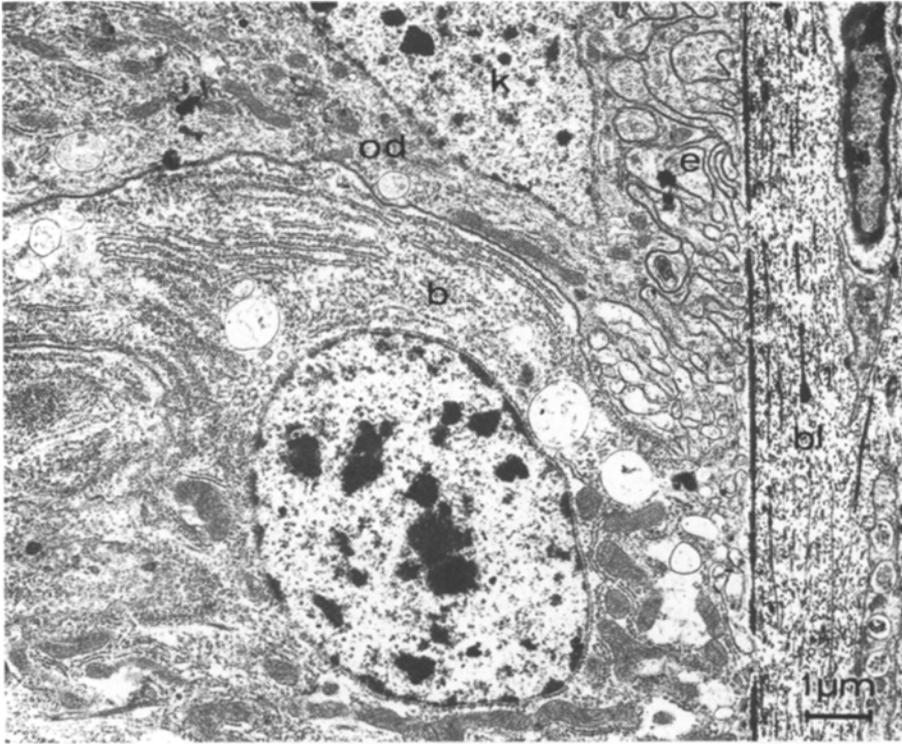


Abb. 7. Grenze zwischen Odontoblasten (*od*) und Basalepithel (*b*). *b* Basallamina, *e* basale Einfaltungen, *k* Kern eines Odontoblasten

turen und helle streifen- bzw. kreisförmige Anschnitte lassen sich an frisch gebildeten Zähnen noch bis zum Zahnrückfen feststellen.

Der erste Odontoblast liefert die Radulamembran und wurde daher von Kerth und Krause (1969) als Membranbildungszelle bezeichnet. Die Mikrovilli sind ebenfalls sehr lang und in komplizierter Weise wie ein Flechtwerk angeordnet (Abb. 8); teilweise wechselt ihre Orientierung schichtweise regelmäßig um 90° , meist ist ihr Verlauf jedoch unübersichtlich. Zwischen den hell erscheinenden Mikrovilli befindet sich auch in diesem Falle wieder elektronendichtes Material. Die Mikrovilli lassen sich mindestens noch über den ersten beiden Zellen des Basalepithels, ihre Konturen noch erheblich weiter verfolgen.

Bei schwächerer Vergrößerung erscheinen neu gebildete Radulazähne und -membrananteile im Elektronenmikroskop strähnig (Abb. 8b). Dieses Aussehen ändert sich jedoch allmählich. Vermutlich kommt es in dem abgeschiedenen elektronendichten Material zur Polymerisation von Zahnmaterial. Auf diese Weise dürften schließlich die Mikrofibrillenbündel zustande kommen, die einen komplizierten Verlauf aufweisen können. Ein unregelmäßiges Netzwerk von gebündelten, chitinhaltigen Mikrofibrillen wurde bereits von Peters (1972) bei KOH-behandelten Radulamembranen von *Buccinum undatum* L. und *Helix pomatia* L. gefunden.

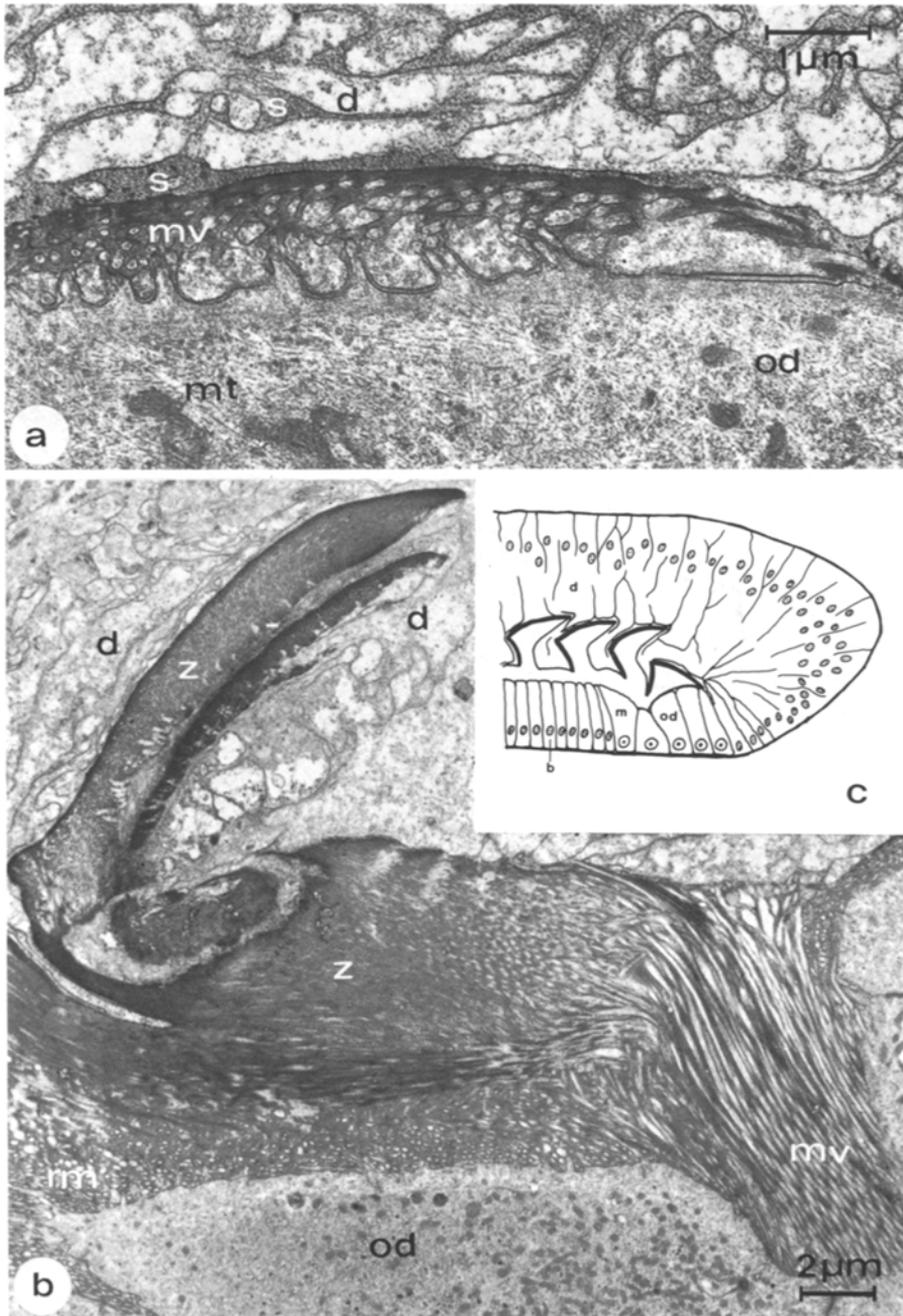


Abb. 8. a Beginn der Zahnbildung oberhalb eines hinteren Odontoblasten (*od*); *d* Deckepithel, *mt* Mikrotubuli, *mv* Microvilli, b Die außerordentlich langen Microvilli (*mv*) der weiter vorn liegenden Odontoblasten lassen sich bis weit in die Anlagen von Zähnen (*z*) und Radulamembran (*rm*) hinein verfolgen. c Orientierungsskizze; *b* Basal-, *d* Deckepithel, *m* Membranbildungszelle, *od* Odontoblast

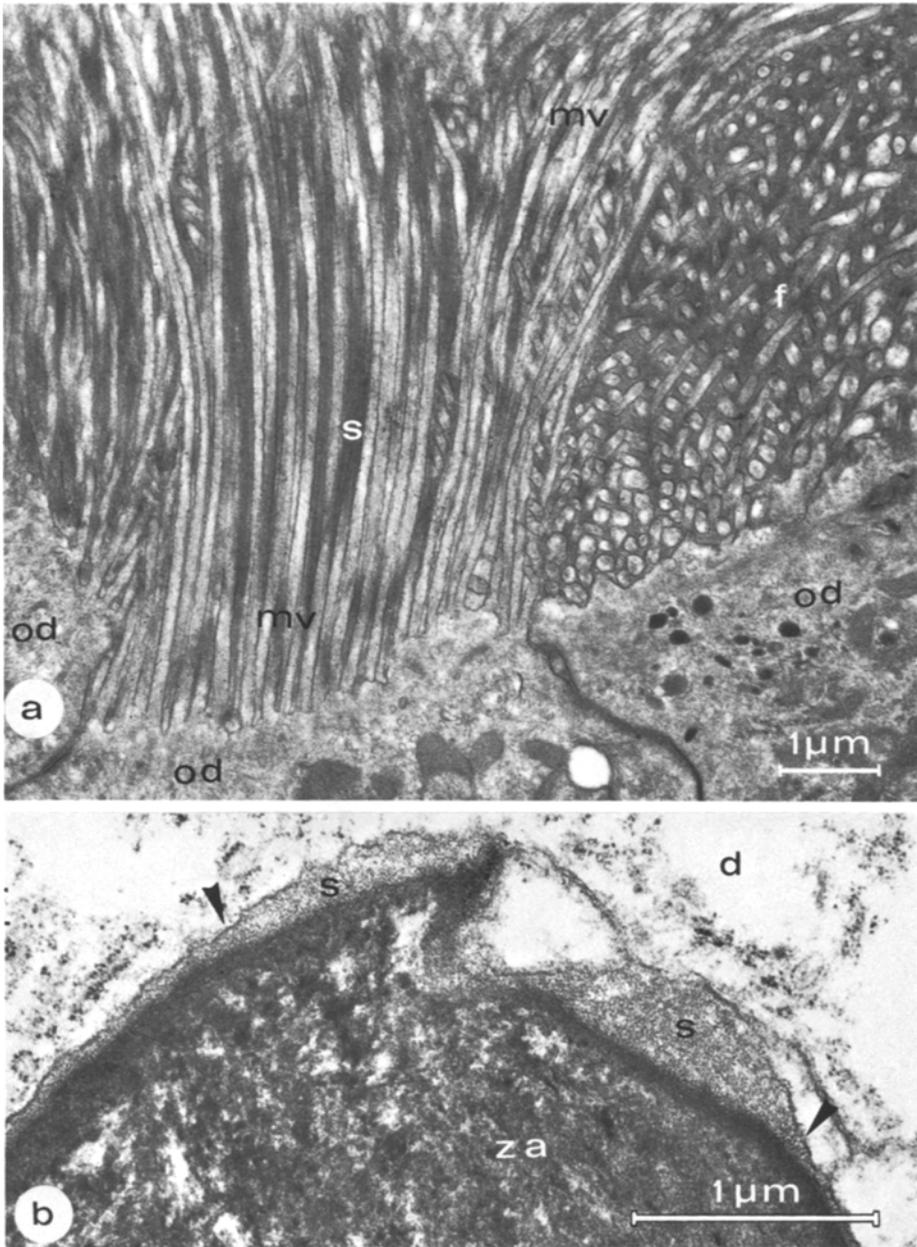


Abb. 9. a Die ungewöhnlich langen Mikrovilli (*mv*) der mittleren Odontoblasten können parallel oder in Form eines Flechtwerkes (*f*) angeordnet sein. *s* elektronendichtes Sekret. b An der Spitze der Zahnanlage (*za*) ist zwischen dieser und den Ausläufern der Deckepithelzellen (*d*) Sekret (*s*) vorhanden, das aus dem Deckepithel stammen und in die Zahnanlage eingelagert werden dürfte. \blacktriangle Zellmembranen der Ausläufer des Deckepithels

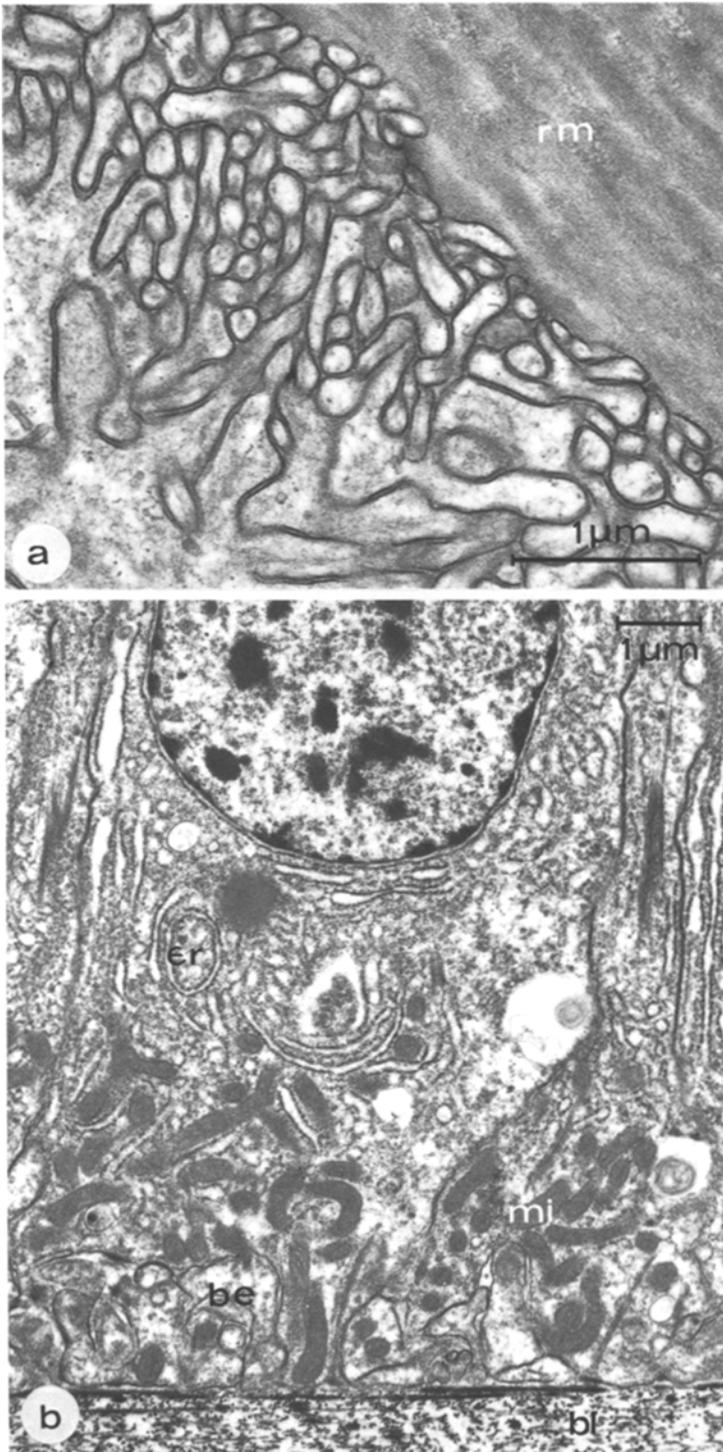


Abb. 10 a u. b. Apikaler (a) und basaler (b) Teil von Basalepithelzellen. *be* basale Einfaltungen, *bl* Basallamina, *er* endoplasmatisches Retikulum, *mi* Mitochondrien

Die fibrillären Strukturen werden im Verlauf der weiteren Zahnbildung immer undeutlicher. Es kommt offensichtlich zu einer weiteren Einlagerung von Substanzen, die aus dem sekretorisch sehr aktiven Basalepithel stammen dürften, vielleicht aber auch aus dem Deckepithel kommen, das weiterhin der Radula eng anliegt.

Das Basalepithel

In Richtung zur Mundhöhle schließt sich ventral an die Odontoblasten das einschichtige Basalepithel an (Abb. 1), das einer dicken Basallamina aufliegt. Der ovale Kern liegt im basalen Drittel der Zelle. Basal sind kurze, unregelmäßige Einfaltungen und eine starke Anhäufung von Mitochondrien zu erkennen. In den Zellen sind große Mengen von rauhem ER und verschiedenen großen Vesikeln mit flockig erscheinendem Inhalt, sowie seitlich und apikal auffallende Mengen von Mikrotubuli vorhanden (Abb. 10). Apikal weisen die Zellgrenzen der Basalepithelzellen septierte Desmosomen und anschließend unregelmäßige Verzahnungen miteinander auf. Diese enge Verflechtung erfolgt auf der Apikalfläche gleichermaßen mit der Radulamembran durch Zellausläufer, die in ganz verschiedener Richtung orientiert sind (Abb. 10a).

Das Deckepithel

Am Grunde der Radulatasche folgt auf die Odontoblasten ein nach vorn umbiegender Teil des Deckepithels, der von Kerth und Krause (1969) Endepithel genannt wurde. Die Zellen dieses Epithels sind sehr schmal. Im Elektronenmikroskop erkennt man, daß das endoplasmatische Retikulum im Deckepithel in geringerem Maße vorhanden ist als im Basalepithel und in den Odontoblasten. Das apikale Cytoplasma der Deckepithelzellen ist stark aufgelockert und arm an Organellen. Mitochondrien mit Cristae liegen meist basal in den Zellen und fehlen apikal völlig. Die Häufigkeit der Vesikel nimmt von basal nach apikal ab. Granula sind dagegen über die ganze Zelle verteilt.

Nach Anwendung der üblichen lichtmikroskopischen Fixierungsmittel entsteht zwischen Zahnanlagen und Deckepithel häufig ein Hohlraum, die sog. Sekrethöhle. Diese tritt in elektronenmikroskopischen Präparaten nicht auf und dürfte ein Artefakt sein. Im Elektronenmikroskop erkennt man, daß die Zellen des Deckepithels unmittelbar bis an die Radulazähne reichen und zwischen ihnen bis zur Radulamembran. Zwischen den Zellen des Deckepithels und der Zahnoberfläche ist im allgemeinen ein sehr schmaler Zwischenraum; nur stellenweise ist dieser erweitert. Diese Zwischenräume sind, ebenso wie die Interzellularräume zwischen den Deckepithelzellen vielfach mit elektronendichtem, granulärem Material angefüllt (Abb. 9b). Vermutlich wird dieses Material vom Deckepithel abgegeben.

Das Deckepithel behält bis zum Ausgang der Radulatasche das gleiche Aussehen. Am Ausgang der Radulatasche werden die Zellen des Deckepithels schmaler und scheiden eine sog. Sperrkutikula ab. Diese läuft über dem Radulazahn, der die Tasche gerade verläßt, aus und versperrt somit den Eingang zur Radulatasche.

D. Diskussion

Der Aufbau des Radulakomplexes von *Biomphalaria glabrata* entspricht dem anderer Pulmonaten. Die Ergebnisse stehen auch im Einklang mit der knappen Beschreibung der Radulatasche, die Pan (1968) in seiner Arbeit über die Histologie und Mikroanatomie von *Australorbis* (= *Biomphalaria glabrata*) gegeben hat. Präradula- und Postradulatasche, die beide bei *Biomphalaria* vorhanden sind, scheinen bei den Pulmonaten recht unterschiedlich ausgebildet zu sein.

Allgemein wird angenommen, daß die Odontoblasten durch Sekretion das Zahnmateriale abgeben (Schnabel, 1903; Spek, 1921; Hoffmann, 1932; Carriker u. Bilstad, 1946; Gabe u. Prenant, 1952a, b, 1953, 1957, 1958; Märkel, 1957; Runham, 1963; Isarankura u. Runham, 1968; Kerth u. Krause, 1969; Kerth, 1973; Mischor, 1977). Lediglich Pruvot-Fol (1926) stimmte der alleinstehenden Auffassung von Trinchese (1878, zit.n. Hoffmann, 1932) zu, nach der eine direkte Umwandlung des Odontoblastenplasmas in die Zahnschubstanz durch „Chitinisation“ erfolgt.

Angaben über die Art der Formgebung machten aufgrund lichtmikroskopischer Untersuchungen Kerth u. Krause (1969). Erst der fertige Radulazahn soll sich von den Odontoblasten abheben (Schnabel, 1903; Hoffmann, 1932; Märkel, 1957; Kerth, 1971–1973). Kerth und Krause vermuteten, daß die Odontoblastengruppen für das Aufrichten des neugebildeten Zahns sorgen und Kerth nahm an, daß wahrscheinlich das abgeschiedene Membran- und Basalplattensekret den jüngsten Radulazahn hochdrückt. Nach den vorliegenden elektronenmikroskopischen Befunden bewirkt die zunehmende Verlängerung der Mikrovilli die endgültige Stellung, Form und Struktur des Zahns (s.a. Runham, 1975, der allerdings nicht erwähnt, welche Art er eigentlich untersuchte).

Damit sind aber gleich zwei neue Fragen offen: Wie wird die Länge der Mikrovilli geregelt und wie wird die Zahnhohlkehle ausgeformt? Ein Vordringen des Deckepithels entlang der Zahnkante könnte hierfür in Frage kommen, wofür die gedrängte Anordnung der apikalen Partien der Deckepithelzellen in diesem Bereich spricht. Unklar ist auch noch, was nach Abschluß der Zahnbildung aus dem Mikrovillibesatz der einzelnen Odontoblasten wird; zumindest beim letzten Odontoblasten sind ja mit dem Beginn der Bildung eines neuen Zahns die Mikrovilli sehr kurz.

Zwischen den Mikrovilli befindet sich elektronendichtes Material, das an der Basis der Mikrovilli oder von diesen selbst ausgeschieden sein dürfte. Erst nach der Ausschleusung scheint dieses Material verändert zu werden und elektronendicht zu erscheinen; in den Odontoblasten und ihren Mikrovilli ist davon nichts zu sehen. In diesem Material entstehen schließlich Mikrofibrillen, die das in der Radula nachgewiesene Chitin (Peters, 1972) enthalten dürften, so wie das in der Kutikula von Arthropoden auch der Fall ist (s. Rudall u. Kenchington, 1973).

Runham (1975) war der Ansicht, daß die elektronenmikroskopischen Befunde eine Kombination der beiden eingangs erwähnten Hypothesen über die Radulabildung ermöglichen: . . . „the involvement of the microvilli could be interpreted as superficial ‘chitinization’ of the odontoblasts“. Nach den vorliegenden Beobachtungen trifft das aber offensichtlich nicht zu, denn die vermutlich das Chitin enthaltenden Mikrofibrillen befinden sich nicht in den Mikrovilli, sondern außerhalb; es dürfen daher nicht die Mikrovilli, sondern lediglich das Material zwischen diesen „chitiniert“ werden.

In den engen Räumen zwischen den Mikrovilli liegen Mikrofibrillen mehr oder weniger parallel zu den Mikrovilli, d.h. die Mikrovilli bestimmen letztlich auch hier die Anordnung der Mikrofibrillen. Ein solcher Einfluß wurde von Mercer u. Day (1952) bei den regelmäßigen Mikrofibrillentexturen in peritrophischen Membranen von Insekten postuliert und bei einigen Krebsen (Georgi, 1969) und Insekten (Peters, 1976) bereits nachgewiesen. Der komplizierten Mikrofibrillentextur in der fertigen Radula (Peters, 1972) entspricht die komplizierte Anordnung der Mikrovilli im frisch gebildeten bzw. in Entstehung befindlichen Radulazahn. Das gleiche gilt offenbar auch für die Radulamembran, deren geschichteter Aufbau der einem Flechtwerk ähnelnden Anordnung der Mikrovilli des ersten Odontoblasten zu entsprechen scheint. Die komplizierte Verschränkung der Mikrovilli des ersten und zweiten Odontoblasten entspricht anscheinend der nachfolgend zu beobachtenden Verankerung von Mikro-fibrillenbündeln des Zahnbereichs in der Radulamembran, indem die zwischen den Mikrovilli entstehenden Mikrofibrillen zwangsläufig die gleiche Verschränkung erfahren.

Die frisch gebildeten Radulazähne und die zugehörige Radulamembran haben ein strähniges Aussehen durch die Reste der Mikrovilli. Allmählich werden beide aber homogen. Sekrete der Basalepithelzellen dürften zur Einlagerung in die gestaltlich bereits fertiggestellten Radulazähne und -membranpartien verwendet werden. Darauf deutet auch der Wechsel der färberischen Eigenschaften der Radulazähne. Die Sekretionstätigkeit des Basalepithels führt aber offensichtlich nicht zu einer Verstärkung der zuerst gebildeten Anteile der Radulamembran. Diese Meinung vertrat auch Mischor (1977), der die Radulabildung bei der im Süßwasser lebenden, zu den Prosobranchiern gehörenden Apfelschnecke, *Pomacea bridgesi diffusa* Blume untersuchte. Runham (1975) war dagegen der Ansicht, daß die Radulamembran vom Basalepithel gebildet wird.

Ähnlich unterschiedliche Auffassungen bestehen hinsichtlich der Funktion des Deckepithels. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen an *Biomphalaria glabrata* ergaben, daß das Deckepithel in der Bildungszone sekretorisch tätig ist. Zwischen dem Sekret und dem Zahnmaterial bildet sich eine elektronendichte Grenzschicht aus, deren Verlauf dem Profil des Zahnrückens entspricht. Auch über älteren Zähnen gibt das Deckepithel Sekret ab, ohne daß eine Veränderung der Zahnform festzustellen ist. Diese Beobachtungen sprechen dafür, daß das vom Deckepithel abgegebene Sekret den Radulazähnen nicht aufgelagert wird. Vielmehr stützen diese Ergebnisse die Auffassung der Autoren, die eine Beteiligung des Deckepithels an der stofflichen Ausstattung der Radulazähne durch Einlagerung des abgegebenen Sekrets annehmen (Schnabel, 1903; Sollas, 1907; Beck, 1912; Spek, 1921; Hoffmann, 1932; Runham, 1963; Kerth u. Krause, 1969; Gabe u. Prenant, 1952a, b, 1957, 1958, 1962).

Nach den Untersuchungen von Isarankura und Runham (1968) erfolgt der Verschleiß der Radula mit der gleichen Geschwindigkeit wie ihre Neubildung. Der Radulaabbau bei *Biomphalaria* soll in einer gesonderten Arbeit behandelt werden.

Literatur

- Baecker, R.: Die Mikromorphologie von *Helix pomatia* und einigen anderen Stylommatophoren. Erg. Anat. Entwicklungsgesch. **29**, 449–585 (1932)
- Beck, K.: Anatomie deutscher *Buliminus*-Arten. Jen. Z. Naturw. **48**, 187–262 (1912)
- Bloch, J.: Die embryonale Entwicklung der Radula von *Paludina vivipara*. Jen. Z. Naturw. **30**, 350–392 (1896)
- Carriker, M.R.: Excavation of boreholes by the gastropod "*Urosalpinx*". An analysis by light and scanning electron microscopy. Amer. Zool. **9**, 917–933 (1969)
- Carriker, M.R., Bilstad, N.: Histology of the alimentary system of *Lymnaea stagnalis appressa* Say. Trans. Amer. Micr. Soc. **65**, 250–275 (1946)
- Franke, W.W., Krien, S., Brown, jr. R.M.: Simultaneous glutaraldehyde-osmium tetroxide fixation with postosmication. Histochemie **19**, 162 (1969)
- Gabe, M., Prenant, M.: Recherches sur la gaine radulaire des Mollusques. 5. L'appareil radulaire de quelques Opisthobranches Cephalaspides. Bull. Lab. Marit. Dinard **37**, 13–26 (1952a)
- Gabe, M., Prenant, M.: Sur le rôle des odontoblastes dans l'élaboration des dents radulaires. C.R. Acad. Sci. Paris **235**, 1050–1052 (1952b)
- Gabe, M., Prenant, M.: Données morphologiques sur la région antérieure du tube digestif d'*Actaeon tornatilis* L. Bull. Soc. Zool. Fr. **78**, 36–44 (1953)
- Gabe, M., Prenant, M.: Recherches sur la gaine radulaire des Mollusques. 7. L'appareil radulaire de quelques Ascoglosses. Bull. Soc. Zool. Fr. **82**, 223–233 (1957)
- Gabe, M., Prenant, M.: Particularités histochimiques de l'appareil radulaire chez quelques Mollusques. Ann. Histochem. **3**, 95–112 (1958)
- Gabe, M., Prenant, M.: Résultats de l'histochimie des polysaccharides: Invertébrés. In: Handbuch der Histochemie (W. Graumann, K. Neumann, Hrsg.), Bd. II, 1, Polysaccharide. Stuttgart: Fischer 1962
- Georgi, R.: Bildung peritrophischer Membranen von Decapoden. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. **99**, 570–607 (1969)
- Hoffmann, H.: Die Radulabildung bei *Lymnaea stagnalis*. Jen. Z. Naturw. **67**, 535–550 (1932)
- Jungbluth, J.H., Porstendörfer, J.: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie der Radula mitteleuropäischer *Bythinella*-Arten. Z. Morph. Tiere **80**, 247–259 (1975)
- Kay, D.H.: Techniques for electron microscopy. Oxford: Blackwell 1965
- Kerth, K.: Radula-Ersatz und Zähnchenmuster der Weinbergschnecke im Winterhalbjahr. Zool. Jb. Anat. **88**, 47–62 (1971)
- Kerth, K.: Radula-Ersatz und Zellproliferation in der röntgenbestrahlten Radulascheide der Nacktschnecke *Limax flavus* L. Ergebnisse zur Arbeitsteilung der Scheidengewebe. Roux Arch. **172**, 317–348 (1973)
- Kerth, K.: Licht- und elektronenoptische Befunde zum Radulatransport bei der Lungenschnecke *Limax flavus* L. (Gastropoda, Stylommatophora). Zoomorphologie **83**, 271–281 (1976)
- Kerth, K., Krause, G.: Untersuchungen mittels Röntgenbestrahlung über den Radulaersatz der Nacktschnecke *Limax flavus* L. Roux Arch. **164**, 48–82 (1969)

- Kohn, A.J., Nybakken, J.W., Van Mol, J.-J.: Radula tooth structure of the gastropod *Conus imperialis* elucidated by scanning electron microscopy. *Science* **176**, 49–51 (1972)
- Lutfy, R.G., Demian, E.S.: The histology of the alimentary system of *Marisa cornuarietis* (Mesogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia* **5**, 375–422 (1967)
- Märkel, K.: Bau und Funktion der Pulmonatenradula. *Z. Wiss. Zool.* **160**, 213–289 (1957)
- Mercer, E.H., Day, M.F.: The fine structure of the peritrophic membrane of certain insects. *Biol. Bull.* **103**, 384–394 (1952)
- Mischor, B.: Bildung und Abbau der Radula von *Pomacea bridgesi diffusa* Blume (Gastropoda, Prosobranchia). *Verh. D. Zool. Ges. Erlangen* (1977)
- Pan, C.-T.: The general histology and topographic microanatomy of *Australorbis glabratus*. *Bull. Mus. comp. Zool. Harv.* **119**, 237–299 (1958)
- Peters, W.: Vorkommen, Zusammensetzung und Feinstruktur peritrophischer Membranen im Tierreich. *Z. Morph. Tiere* **62**, 9–57 (1968)
- Peters, W.: Occurrence of chitin in Mollusca. *Comp. Biochem. Physiol.* **41**, 541–550 (1972)
- Peters, W.: Investigations on the peritrophic membranes of Diptera. In: *The insect integument* (H.R. Hepburn, ed.), pp. 515–543. Amsterdam: Elsevier 1976
- Prenant, M.: Sur la permanence des odontoblastes de la radula. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **50**, 164–167 (1925)
- Pruvot-Fol, A.: La bulbe buccal et la symétrie des Mollusques. I. La radula. *Arch. Zool. Exp. Gén.* **65**, 209–343 (1926)
- Rössler, H.: Die Bildung der Radula bei den cephalophoren Mollusken. *Z. Wiss. Zool.* **41**, 447–482 (1885)
- Romeis, B.: Taschenbuch der mikroskopischen Technik. München: Oldenbourg 1968
- Rottmann, G.: Über die Embryonalentwicklung der Radula bei den Mollusken. I. Die Entwicklung der Radula bei den Cephalopoden. *Z. Wiss. Zool.* **70**, 236–262 (1901)
- Rücker, A.: Über die Bildung der Radula bei *Helix pomatia*. 22. Ber. oberhess. Ges. Natur- u. Heilkunde Gießen, S. 209–229 (1883)
- Rudall, K.M., Kenchington, W.: The chitin system. *Biol. Rev.* **48**, 597–636 (1973)
- Runham, N.W.: A study of the replacement mechanism of the pulmonate radula. *Quart. J. Micr. Sci.* **104**, 271–277 (1963)
- Runham, N.W.: The use of the scanning electron microscope in the study of the gastropod radula: The radulae of *Agriolimax reticulatus* and *Nucella lapillus*. *Malacologia* **9**, 179–185 (1969)
- Runham, N.W.: Alimentary canal. In: *Pulmonates*, (V. Fretter, J. Peake, eds.), Vol. 1, pp. 53–104. London–New York–San Francisco: Academic Press 1975
- Runham, N.W., Isarankura, K.: Studies on radula replacement. *Malacologia* **5**, 73 (1966)
- Runham, N.W., Thornton, P.R.: Mechanical wear of the gastropod radula: a scanning electron microscopic study. *J. Zool. Lond.* **153**, 445–452 (1967)
- Schnabel, H.: Über die Embryonalentwicklung der Radula bei den Mollusken. II. Die Entwicklung der Radula bei den Gastropoden. *Z. Wiss. Zool.* **74**, 616–655 (1903)

- Sharp, B.: Beiträge zur Anatomie von *Ancylus fluviatilis*. Inaug. Dissert., Würzburg (1883)
- Sick, E.: Bau und Bildung von Kiefer und Radula bei Gastropoden, insbesondere auf Grund von histochemischen Untersuchungen. Inaug. Dissert., Tübingen (1958)
- Sollas, J.B.J.: The molluscan radula: its chemical composition, and some points in its development. *Quart. J. Microsc. Sci.* **51**, 115–136 (1907)
- Spek, J.: Beiträge zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung und Entwicklung der Radula der Gastropoden. *Z. Wiss. Zool.* **118**, 313–363 (1921)
- Swammerdam: *Biblia Naturae*, Leyden (1737)
- Thomas, R.F.: A scanning electron microscope study of the marginal teeth of *Nerita peloronta* L. *Nautilus* **84**, 118–119 (1971)
- Thompson, T.E., Hinton, H.E.: Stereoscan electron microscope observations on opisthobranch radulae and shell structure. *Bijdr. Dierk.* **38**, 91–96 (1968)
- Trinchese, S.: Anatomia e fisiologia della *Spurilla neapolitana*. *Mem. Accad. Bologna* **9**, 1–48 (1878)
- Troschel, F.H.: Das Gebiß der Schnecken zur Begründung einer natürlichen Classification, Bd. I. Berlin: Eigenverlag 1856–1863
- Wagner, H.: Radula und Radulatyphen der Gastropoden unter besonderer Berücksichtigung einiger einheimischer Arten. *Hercynia* **3**, 184–205 (1966)

Eingegangen am 26. Juli 1977